

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-531090

(P2016-531090A)

(43) 公表日 平成28年10月6日(2016.10.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 16/24 (2006.01)	C07K 16/24 ZNA	4B064
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 A	4B065
C12P 21/08 (2006.01)	C12P 21/08	4C085
C12N 1/15 (2006.01)	C12N 1/15	4H045
C12N 1/19 (2006.01)	C12N 1/19	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 123 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-522619 (P2016-522619)
 (86) (22) 出願日 平成26年7月3日 (2014.7.3)
 (85) 翻訳文提出日 平成28年2月26日 (2016.2.26)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2014/064167
 (87) 国際公開番号 W02015/001013
 (87) 国際公開日 平成27年1月8日 (2015.1.8)
 (31) 優先権主張番号 13174995.4
 (32) 優先日 平成25年7月3日 (2013.7.3)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 514165130
 イムノキュア アーゲー
 IMMUNOQUIRE AG
 ドイツ連邦共和国、82152 マーティ
 ンスリード、フラウンホフェルストラッセ
 13
 Fraunhoferstr. 13, 8
 2152 Martinsried, GE
 RMANY
 (74) 代理人 100114362
 弁理士 萩野 幹治
 (72) 発明者 ハク, シェダ エフ ワイ
 イギリス、ロンドン N4 1 JN、ルッ
 ツランド ガーデンズ、11

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒト抗IFN-α抗体

(57) 【要約】

ヒト起源の新規なIFN-α結合分子、具体的には、ヒト由来の抗IFN-α抗体、ならびに、そのIFN-α結合性の断片、誘導体および変異体が提供される。加えて、診断および治療において使用されるための医薬組成物、キットおよび方法が記載される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒト抗インターフェロン - アルファ (I F N -) 抗体またはその I F N - 結合断片。

【請求項 2】

(i) ヒト I F N - サブタイプである I F N A 2、I F N A 4、I F N A 5、I F N A 6、I F N A 10 および I F N A 14 に結合する；

(i i) 少なくとも 1 つの、ヒト I F N - サブタイプである I F N A 1 / 13 (I F N A 1 b)、I F N A 8、I F N A 16 および / または I F N A 21 に結合する；かつ

(i i i) 前記ヒト I F N - サブタイプの少なくとも 1 つの生物学的活性を中和することができる、

請求項 1 に記載の抗体または I F N - 結合断片。

10

【請求項 3】

I F N - に結合することができ、かつ / または、I F N - の活性を中和することができる、請求項 1 または 2 に記載の抗 I F N - 抗体または I F N - 結合分子。

【請求項 4】

その可変領域において、

(a) 下記に示される V_H 可変領域アミノ酸配列および / または V_L 可変領域アミノ酸配列の少なくとも 1 つの相補性決定領域 (C D R) ；

(i) 図 1 (V_H) (配列番号 2、配列番号 10、配列番号 18、配列番号 22 または配列番号 84) ；および

(i i) 図 1 (V_L) (配列番号 4、配列番号 12、配列番号 20、配列番号 24 または配列番号 86) ；

(b) 図 1 に示されるような V_H 領域および / または V_L 領域のアミノ酸配列；

(c) (a) のアミノ酸配列のいずれか 1 つの部分的変化から生じるアミノ酸配列からなる少なくとも 1 つの C D R ；ならびに / あるいは

(d) (b) のアミノ酸配列の部分的変化から生じるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および / または軽鎖可変領域

を含む、請求項 1 または 2 に記載の抗体または I F N - 結合断片あるいはその合成誘導体または生物学誘導体。

30

【請求項 5】

アミノ酸配列 S A A W D E T L L D K F Y T E L Y Q (配列番号 99) および / またはアミノ酸配列 R I T L Y L K E K K Y S P C A W E V (配列番号 100) からなる I F N A 2 のエピトープと結合することができる、請求項 4 に記載の抗体あるいは I F N - 結合断片、合成誘導体または生物学誘導体。

【請求項 6】

その可変領域において、

(a) 下記に示される V_H 可変領域アミノ酸配列および / または V_L 可変領域アミノ酸配列の少なくとも 1 つの相補性決定領域 (C D R) ；

(i) 図 1 (V_H) (配列番号配列番号 30、配列番号 38、配列番号 76 または配列番号 92) ；および

(i i) 図 1 (V_H) (配列番号配列番号 32、配列番号 40、配列番号 78 または配列番号 94) ；

(b) 図 1 に示されるような V_H 領域および / または V_L 領域のアミノ酸配列；

(c) (a) のアミノ酸配列のいずれか 1 つの部分的変化から生じるアミノ酸配列からなる少なくとも 1 つの C D R ；ならびに / あるいは

(d) (b) のアミノ酸配列の部分的変化から生じるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および / または軽鎖可変領域

を含む、請求項 3 に記載の抗体または I F N - 結合断片あるいはその合成誘導体または生物学誘導体。

50

【請求項 7】

アミノ酸配列 Y T E L Y Q Q L N D L E A C V I Q G (配列番号 101) からなる I F N A 2 のエピトープ、および/または、アミノ酸配列 T G L H Q Q L Q H L E T C L L Q V V (配列番号 102) からなる I F N A W のエピトープを認識する、請求項 6 に記載の抗体あるいは I F N - 結合断片、合成誘導体または生物学誘導体。

【請求項 8】

I g G 1 である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗体または I F N - 結合断片。

【請求項 9】

表 1 に示される C_H アミノ酸配列および C_L アミノ酸配列 (配列番号 6、配列番号 8、配列番号 14、配列番号 16、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 34、配列番号 36、配列番号 42、配列番号 44、配列番号 72、配列番号 74、配列番号 80、配列番号 82、配列番号 88、配列番号 90、配列番号 96 および配列番号 98) から選択されるアミノ酸配列または少なくとも 60% の同一性を有するアミノ酸配列を含む C_H 定常領域および/または C_L 定常領域を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗体または I F N - 結合断片。

10

【請求項 10】

少なくとも 1 つのヒト I F N - サブタイプおよび/またはヒト I F N - に対する特異的な結合について、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載される抗体と競合する抗体または I F N 結合分子。

20

【請求項 11】

少なくとも 5 つのヒト I F N - サブタイプおよび/またはヒト I F N - について 10 n g 以下の I C 5 0 値を有する、先行する請求項のいずれか一項に記載の抗体または I F N 結合分子。

【請求項 12】

単鎖 F v 断片 (s c F v)、F (a b ') 断片、F (a b) 断片、F (a b ')₂ 断片および単ドメイン抗体断片 (s d A B) からなる群から選択される、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の抗体または I F N - 結合断片。

【請求項 13】

請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載される抗体または I F N - 結合断片をコードするポリヌクレオチドであって、好ましくは、前記可変領域と、前記定常ドメインの少なくとも一部とをコードする c D N A である、ポリヌクレオチド。

30

【請求項 14】

請求項 13 に記載されるポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項 15】

請求項 13 に記載されるポリヌクレオチドまたは請求項 14 に記載されるベクターを含む宿主細胞。

【請求項 16】

検出可能に標識されるか、または、薬物に結合させられ、好ましくは、検出可能な標識が、酵素、放射性同位体、蛍光団、ペプチドおよび重金属からなる群から選択される、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の抗体。

40

【請求項 17】

請求項 1 ~ 12 または 16 のいずれか一項に記載される抗体またはその I F N - 結合断片、請求項 13 に記載されるポリヌクレオチド、請求項 14 に記載されるベクター、請求項 15 に記載される細胞、ならびに/あるいは、請求項 1 ~ 12 または 16 のいずれか一項に記載される抗体またはその I F N - 結合断片の特徴を組合せて示す I F N - 抗体および/または I F N - 抗体あるいはその I F N - 結合断片または I F N - 結合断片のカクテルを含む組成物またはキットであって、前記組成物が、

(i) 医薬組成物であり、かつ、薬学的に許容され得る担体をさらに含み、また、必要な場合にはさらに、免疫媒介または自己免疫性の疾患または状態を処置することにおいて

50

有用であるさらなる薬剤を含む；あるいは

(i i) 診断用の組成物またはキットであり、かつ、免疫または核酸に基づく診断方法において従来から使用される試薬をさらに含む、組成物またはキット。

【請求項 18】

(a) 免疫媒介もしくは自己免疫性の疾患もしくは状態を処置するか、または、免疫媒介もしくは自己免疫性の疾患もしくは状態の進行を妨げる方法；

(b) 免疫媒介もしくは自己免疫性の疾患もしくは状態に伴う症状を改善する方法；ならびに / あるいは

(c) 免疫媒介もしくは自己免疫性の疾患もしくは状態の存在について、または、免疫媒介もしくは自己免疫性の疾患もしくは状態を発症することについての被験体の危険性を明らかにするために被験体を診断するか、またはスクリーニングする方法
10
において使用されるためのものであり、

免疫媒介もしくは自己免疫性の疾患もしくは状態が、患者における I F N - および / または I F N - の発現に伴い、好ましくは、前記疾患が自己免疫疾患である、請求項 1 ~ 12 または 16 のいずれか一項に記載の抗体または I F N - 結合断片あるいは請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

I F N - および / または I F N - の発現に伴う被験体における免疫媒介または自己免疫性の疾患または状態を診断するための方法であって、前記被験体の生物学的サンプルを請求項 1 ~ 12 または 16 のいずれかに記載される抗 I F N - 抗体と接触させること、ならびに、I F N - および / または I F N - の存在を検出することを含む、方法。
20

【請求項 20】

単離された生物学的サンプルにおいて I F N - および / または I F N - を検出するか、または測定する方法であって、前記サンプルを請求項 1 ~ 12 または 16 のいずれか一項に記載される抗 I F N - 抗体と混合すること、前記抗体により、混合物に存在するいずれかの I F N - サブタイプおよび / または I F N - との複合体を形成させること、ならびに、前記混合物に存在する前記複合体を検出することを含む、方法。

【請求項 21】

ヒト由来の抗 I F N A モノクローナル抗体もしくは抗 I F N A / I F N W モノクローナル抗体をそれぞれ、または、その I F N 結合断片もしくは生物工学誘導体を製造するための、あるいは、前記抗 I F N A モノクローナル抗体もしくは抗 I F N A / I F N W モノクローナル抗体またはその I F N 結合断片もしくは生物工学誘導体を含む組成物を製造するためのプロセスであって、当該製造が、前記抗体またはその I F N 結合断片もしくは生物工学誘導体を、請求項 1 ~ 12 または 16 のいずれか一項に記載される抗体、I F N 結合断片もしくは生物工学誘導体をコードする形質転換用 D N A の組換え宿主生物における発現によって調製する工程を含む、プロセス。
30

【請求項 22】

前記組成物が医薬組成物であり、かつ、前記抗体、その I F N 結合断片もしくは生物工学誘導体を調製する前記工程の後には、前記抗体、その I F N 結合断片もしくは生物工学誘導体を医薬組成物の製造において薬学的に許容され得る担体と混合することが続く、請求項 21 に記載のプロセス。
40

【請求項 23】

本明細書、添付された実施例および図において開示されるような抗 I F N - 抗体または I F N - 結合断片かつ / または I N F - 結合断片、その合成誘導体または生物工学誘導体、ならびに、抗 I F N - 抗体または I F N 結合断片かつ / または I N F - 結合断片、その合成誘導体または生物工学誘導体を含む組成物またはキット、及び任意のそれらの使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

30

40

50

【0001】

本発明は概して、哺乳動物起源（好ましくはヒト起源）のIFN- と結合する新規な分子、特に、IFN- の種々のサブタイプを認識するヒトモノクローナル抗体、ならびに、その断片、誘導体および変異体に関連する。具体的には、組換えによるヒト患者由来の抗IFN- 抗体およびその作製方法が提供される。加えて、様々な障害の処置および診断において有用であるそのような結合分子、抗体およびその模倣体を含む組成物が記載される。さらに、本発明は、自己免疫性障害および自己炎症性障害ならびに悪性腫瘍（例えば、全身性エリテマトーデス（SLE）および1型糖尿病（T1DM）など）の免疫療法において使用されるための薬剤としての自己抗体、同様にまた、自己免疫性障害および自己炎症性障害ならびに悪性腫瘍（例えば、全身性エリテマトーデス（SLE）および1型糖尿病（T1DM）など）の治療的介入における標的としての自己抗体に関連する。より具体的には、本発明は、免疫調節に関与する遺伝子における変異に典型的には起因する損なわれた中枢性寛容および/または末梢性寛容あるいは自己寛容の喪失に冒された被験体に由来するB細胞から単離されているモノクローナル自己抗体に関連する。

10

【背景技術】

【0002】

免疫系の不適切な応答は、関与する生物に対するストレス性の症状を生じさせる場合がある。動物またはヒトの健康状態に対する著しい影響を通常の場合には有しない異物または身体状態に対する過度な免疫応答により、軽微な反応（例えば、皮膚のかぶれなど）から、命を脅かす状況（例えば、アナフィラキシーショックまたは様々なタイプの血管炎など）にまで及ぶ様々な症状を伴うアレルギーが引き起こされる場合がある。内因性抗原に対する免疫応答により、様々な自己免疫性障害（例えば、全身性エリテマトーデス（SLE）、1型糖尿病またはインスリン依存性糖尿病（T1DMまたはIDDM）および種々の形態の関節炎など）が生じる場合がある。

20

【0003】

免疫反応は協調的に起こるものであり、いくつかの細胞が関与し、関与する細胞間のシグナル伝達分子（例えば、サイトカイン）による情報伝達を必要とする。この情報伝達は、例えば、シグナルの妨害または各受容体の遮断によって影響され得るかまたは阻害され得る。

【0004】

サイトカインは、全身的レベルで作用するという点で古典的なホルモンのように挙動するナノモル濃度からピコモル濃度での体液性調節因子として作用し、また、正常な状態または病理学的な状態のどちらのもとでも個々の細胞および組織の機能的活性を調節する分泌された可溶性のタンパク質、ペプチドおよび糖タンパク質である。サイトカインは、特化した腺において組織される特化した細胞によって産生されないという点で、すなわち、様々なサイトカインが、先天免疫および適応免疫に関与する事実上すべての細胞によって、例えば、上皮細胞、マクロファージ、樹状細胞（DC）、ナチュラルキラー（NK）細胞およびとりわけT細胞（その中で際立っているのがTヘルパー（Th）リンパ球である）などによって発現されるように、これらの媒介因子のためのただ1つの器官供給源または細胞供給源が存在しないという点でホルモンとは異なる。

30

40

【0005】

そのそれぞれの機能に依存して、サイトカインは、3つの機能的カテゴリー、すなわち、自然免疫応答を調節すること、適応免疫応答を調節すること、および、造血を刺激することの3つの機能的カテゴリーに分類される場合がある。前記3つのカテゴリーの中でのそれらの多面発現性活性のために、例えば、細胞の活性化、増殖、分化、動員または他の生理学的応答（例えば、炎症について特徴的なタンパク質の標的細胞による分泌）に関するそれらの多面発現的活性のために、異常に調節されたサイトカイン産生によって媒介される細胞シグナル伝達の妨害が、不完全な免疫応答に伴う多くの障害（例えば、炎症およびガンなど）の原因として見出されている。

【0006】

50

インターフェロン (IFN) は、3つの知られているタンパク質ファミリー (I型インターフェロン、II型インターフェロンおよびIII型インターフェロン) からなり、サイトカインの最も重要なクラスの1つを構成する。すべてのヒトI型インターフェロンは、2つの膜貫通タンパク質 (IFNAR-1およびIFNAR-2) からなる細胞表面受容体 (IFN-アルファ受容体、IFNAR) に結合し、これにより、JAK-STAT活性化、ISGF3の形成、および、それに続く遺伝子発現の開始を引き起こす (非特許文献1)。I型IFNの組成物、受容体およびシグナル伝達経路が、例えば、非特許文献2; 非特許文献3において総説されている。I型インターフェロンは、構造的に関連するファミリー (IFN- (アルファ)、IFN- (ベータ)、IFN- (カプタ)、IFN- (デルタ)、IFN- (エプシロン)、IFN- (タウ)、IFN- (オメガ) およびIFN- (ゼータ)) を形成しており、それらのうちのIFN- およびIFN- はヒトには存在しない。ヒトのI型インターフェロン (IFN) の遺伝子はヒト染色体9p21においてクラスターを形成し、マウスの遺伝子はマウス第4染色体における保存されたシンテニーの領域に位置する。今までのところ、14個のIFN- 遺伝子および3個の偽遺伝子がマウスにおいて特定されている。ヒトにおいては、13個のIFN- (またはIFNA) 遺伝子 (IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA8、IFNA10、IFNA13、IFNA14、IFNA16、IFNA17およびIFNA21) および1個の偽遺伝子が特定されており、2つのヒトIFN- 遺伝子 (IFNA1/IFN- 1およびIFNA13/IFN- 13) が同一のタンパク質をコードする (非特許文献4)。

10

20

【0007】

IFN- はただ1つのII型インターフェロンである。これは主に、マクロファージ刺激による抗菌機構および抗腫瘍機構の誘導に関与する。IFN- 受容体 (IFNGR) は、2つのシグナル伝達性IFNGR2鎖と会合する2つのリガンド結合性IFNGR1鎖から構成されるヘテロダイマー型受容体である (非特許文献5; 非特許文献6)。III型インターフェロンが3つのサブタイプからなり、IFN- と呼ばれ (IFN- 1またはIL-29、IFN- 2またはIL-28A、および、IFN- 3またはIL-28B)、抗ウイルス活性、抗腫瘍活性および免疫調節活性を有する。IFN- 受容体もまた、特異なりガンド結合鎖のIFN- R1 (これはまたIL-28R と称される) と、アクセサリ鎖のIL-10R2 (これは、IL-10関連サイトカインについての受容体と共有される) とからなるヘテロダイマー型複合体である (非特許文献7)。

30

【0008】

I型インターフェロンは、抗ウイルス機能、抗腫瘍機能および免疫調節機能を有する多面発現性サイトカインである。状況に依存して、I型インターフェロンは、抗炎症性および組織保護的または前炎症性となる可能性があり、また、自己免疫を促進させることができる。IFN- 1aまたはIFN- 1bは、多発性硬化症の処置のために、また、IFN- 2b療法は多くのガン (黒色腫、造血性悪性腫瘍) のために使用される。上昇したIFN- 活性が全身性エリテマトーデス (SLE) の患者の血清においてしばしば検出されており、このことは、IFN- が中心的役割をSLEの発症において果たすことを示している (非特許文献8; 非特許文献9; 非特許文献10; 非特許文献11)。

40

【0009】

他方で、インターフェロン依存性遺伝子の特異的な発現パターン (これは「インターフェロンシグナチャー」と呼ばれる) が、様々な自己免疫性障害の患者 (例えば、SLE、T1DM、シェーグレン症候群、皮膚筋炎、多発性硬化症 (MS)、乾癬およびリウマチ性関節炎 (RA) の患者など) の白血球において示される。加えて、炎症性関節炎、MSおよびT1DMの発症が、IFN- 療法の期間中に繰り返し観察されており、このことは、IFN- がそれらの疾患を少なくとも促進させることを示している (非特許文献12)。さらなるデータにより、IFN- の関与が、筋炎、全身性強皮症、慢性乾癬において示唆され (非特許文献13; 非特許文献14; 非特許文献15)、また、自己免疫性甲状腺炎において示唆される (非特許文献16)。

50

【0010】

したがって、このような背景的状况に依存して、R A、M Sおよび種々の白血病の場合でのようなI型インターフェロンによる処置、または、例えば、S L Eの場合でのような、I型インターフェロンを中和する抗体による処置が適応されることがある場合には、このまさに同じ処置は、自己免疫、炎症およびインターフェロン処置関連毒性を促進させることによって、または、それどころか、M SおよびT 1 D Mなどの疾患の発症を引き起こすことによって患者には有害となることがある。これらの種々の影響における1つの要因が、種々のI F Nサブタイプが同じ細胞表面受容体複合体を活性化するにもかかわらず、これらのI F Nサブタイプが、細胞タイプ依存的でもある一定しない応答を媒介するという事実から生じることがある（非特許文献17；非特許文献18；非特許文献19）。したがって、処置は好ましくは、選択的様式で、つまり、所与の病理学的状態に伴う特定のI F N - サブタイプのみが患者に投与されるか、または、所与の病理学的状態に伴う特定のI F N - サブタイプが中和される選択的様式で行われなければならない。I F N - 処置に関して、そのような選択性が、治療目的のための高度に精製されたI F N - 調製物の使用によって得られる場合がある（非特許文献18）。しかしながら、I F N - 抗体の使用に関しては、選択性を特定のI F N - サブタイプに関して得ることはより困難である。これは、アミノ酸レベルでの大きい度合の相同性が存在しており、80%~95%の相同性が上記I F N - サブタイプの間には存在し、50%の相同性がI F N - に関して存在するからである。したがって、すべてのヒトI F N Aサブタイプ、選択されたヒトI F N Aサブタイプまたは特定のヒトI F N Aサブタイプ（これらは、治療的適応および/または診断的適応に依存して選択的に使用され得るかもしれない）に対する様々な特異性の、ヒトにおいて許容され得るI F N - 抗体のプールを提供することが望ましいであろう。

10

20

【0011】

この目的を達成するための第1の試みが既に行われている。例えば、特許文献1には、ヒトI F N - の3個の異なるサブタイプおよび13個の異なるサブタイプの間で中和するいくつかのマウス抗ヒトI F N - 抗体の単離が記載され、特許文献2には、ヒトI F N - の7個のサブタイプを認識するマウス抗ヒトI F N - 抗体およびそのヒト化体が記載される。しかしながら、これまでに提供された、必ずしもすべてではないとしても、ほとんどの抗I F N抗体がマウス起源のものであり、したがって、これらの抗I F N抗体はヒトにおける有害な反応を受けやすい。

30

【0012】

ヒトにおけるマウス抗体のような外来抗体に対する免疫学的応答（H A M A 応答；非特許文献20；非特許文献21）のために、ほとんどヒト化された抗体が現在の治療アプローチでは使用される（非特許文献22；非特許文献23）。そのような抗体を獲得するための1つのアプローチが、相補性決定領域（C D R）を完全にヒトのフレームワークに移し替えること、すなわち、抗体ヒト化として知られているプロセスであった（非特許文献24）。このアプローチは多くの場合、マウスC D Rがヒトの可変ドメインフレームワークに容易に移らず、その結果、元になったそのマウス抗体と比較して、ヒト化抗体のより低い親和性が生じるという事実によって複雑化される。したがって、さらなる、そして、精巧な変異誘発実験が多くの場合、そのように操作された抗体の親和性を増大させるために要求される。ヒト化抗体を達成するための別のアプローチが、その生来の抗体遺伝子がヒト抗体遺伝子により置き換えられているマウスを免疫化すること、および、これらの動物によって産生される抗体を単離することである。しかしながら、この方法は依然として、抗原による免疫化を必要とし、そのため、この方法は、すべての抗原に関して、それらのいくつかの毒性のために可能であるとは限らない。さらには、この方法は、特定の系統のトランスジェニックマウスの作製に限定される。

40

【0013】

別の方法が、例えば、特許文献3においてI L - 13特異的抗体の作製のために記載されるようなヒト抗体のライブラリ（例えば、ファージディスプレイなど）を使用すること

50

である。この場合、バクテリオファージが、ヒト抗体遺伝子をファージ集団に挿入することによってヒト s c F v / F a b 断片をバクテリオファージの表面に呈示させるために操作される。残念ながら、この方法のいくつかの欠点と同様に存在し、これらには、多価呈示のためのタンパク質配列のサイズ制限、タンパク質（すなわち、抗体 s c F v / F a b 断片）を細菌から分泌させることが要求されること、ライブラリのサイズ制限、産生および試験される可能な抗体の限定された数、自然の免疫化によってもたらされる体細胞高頻度突然変を有する抗体の低下した割合、ならびに、ファージによってコードされるすべてのタンパク質が融合タンパク質であること（このことは、いくつかのタンパク質が結合するための活性または接近性を制限する場合がある）が含まれる。同様に、特許文献4には、自己抗体をファージに呈示される抗体セグメントレパートリーから生成することが記載される。ファージライブラリが、この点では免疫化されていないヒトから作製される（例えば、実施例1；16頁43行～51行；実施例2、17頁、段落[0158]、57行～58行を参照のこと）。しかしながら、この特許出願に記載される方法もまた、哺乳動物（すなわち、ヒト）の身体において産生され、かつ、成熟化される抗体と比較して、ファージライブラリから作製される抗体の上述の一般的な欠点に悩まされている。

10

20

30

40

50

【0014】

同じことが、ほとんどの I F N - サブタイプに結合し、これらを特異的に中和し、それにより、I型 I F N 受容体を介するシグナル伝達を妨げる最も顕著な抗 I F N モノクローナル抗体のシファリムマブ (S i f a l i m u m a b) (以前は M E D I - 5 4 5) に当てはまる。シファリムマブは、「ヒト」抗 I F N モノクローナル抗体であると言われ、しかし、実際には、ヒト化マウス、すなわち、ヒト生殖系列レパートリーの最大画分が導入されたトランスジェニックマウスに基づく前身会社 M e d a r e x の U l t i M a b プラットフォームに由来している。

【0015】

それにもかかわらず、ヒト化マウスに由来する抗体のアミノ酸配列はヒト起源のものであるが、これらの抗体は人為的であり、真にヒト型ではない。これは、それらは、ヒトにおける免疫化、組換え、選抜および親和性成熟を受けていないからであり、そのため、特にヒト由来抗体と比較して、それらは免疫原性であり、かつ、それほど効果的でないという危険性が依然として存在する。

【0016】

上記のことを考慮すると、単独療法またはコンビナトリアルアプローチのどちらについてもヒトにおいて許容され得る、特定のヒト I F N - サブタイプについての大きい特異性があり、選択された範囲の I N F - サブタイプについて特異的であり、または、すべての I N F - サブタイプについて特異的である、結合分子のようなさらなる新しい化合物が依然として求められている。

【0017】

この問題に対する解決策が、さらには、下記における請求項において特徴づけられ、また、説明において開示され、また、実施例および図において例示されるような本発明の実施形態によって提供される。

【先行技術文献】**【特許文献】****【0018】**

【特許文献1】 米国特許出願公開 U S 2 0 0 9 / 0 2 1 4 5 6 5 A 1

【特許文献2】 米国特許第 7 , 0 8 7 , 7 2 6 号 (B 2)

【特許文献3】 国際出願公開 W O 2 0 0 5 / 0 0 7 6 9 9

【特許文献4】 欧州特許出願 E P 0 6 1 6 6 4 0 A 1

【非特許文献】**【0019】**

【非特許文献1】 P l a t a n i a s および F i s h , E x p . H e m a t o l . (1 9 9 9) , 1 5 8 3 ~ 1 5 9 2

- 【非特許文献2】Stark他、Annu. Rev. Biochem. (1998)、27~64
- 【非特許文献3】Pestka S.、Biopolymers (2000)、254~87
- 【非特許文献4】van Pesch他、J. Virol. (2004)、8219~8228
- 【非特許文献5】Schroder他、J. Leukoc. Biol.、75 (2004)、163~189
- 【非特許文献6】Bach他、Annu. Rev. Immunol.、15 (1997)、563~591 10
- 【非特許文献7】Li他、J. Leukoc. Biol.、86 (2009)、23~32
- 【非特許文献8】RonnblomおよびAlm、J. Exp. Med. (2001)、F59~F63
- 【非特許文献9】Crow MK、Arthritis Rheum. (2003)、2396~2401
- 【非特許文献10】Crow MK.、Curr Top Microbiol. Immunol. (2007)、359~386
- 【非特許文献11】Crow MK.、Rheum Dis Clin North Am. (2010)、173~186 20
- 【非特許文献12】Crow MK.、Arthritis Res Ther. (2010)、増刊1:S5
- 【非特許文献13】Higgs他、Eur Musc Rev (2012)、22~28
- 【非特許文献14】Bissonnette他、J Am Acad Dermatol (2009)、427~436
- 【非特許文献15】Greenberg SA、Arth Res Ther (2010): S4
- 【非特許文献16】PrummelおよびLaurberg、Thyroid (2003)、547~551
- 【非特許文献17】van Pesch他、J Virol、78 (2004)、8219~8228 30
- 【非特許文献18】Antonelli G.、New Microbiol.、31 (2008)、305~318
- 【非特許文献19】Gibbert他、PLoS Pathog.、8 (2012)、e1002868
- 【非特許文献20】Schroff他、Cancer Res.、45 (1985)、879~885
- 【非特許文献21】Shawler他、J. Immunol.、135 (1985)、1530~1535
- 【非特許文献22】ChanおよびCarter、Nature Reviews Immunology、10 (2010)、301~316 40
- 【非特許文献23】Nelson他、Nature Reviews Drug Discovery、9 (2010)、767~774
- 【非特許文献24】Jones他、Nature、321 (1986)、522~525
- 【発明の概要】
- 【0020】

本発明は、IFN- 特異的なヒトモノクローナル抗体およびそのIFN- 結合断片に関連する。具体的には、IFN- サブタイプに対する選択的な結合プロファイルを有し、かつ、実施例および図において示されるような結合活性および中和活性を示すヒトモノクローナル抗IFN- 抗体が提供される。それらの中和特性のために、本発明の抗体 50

は、治療的有用性、予後的有用性および診断的有用性を有しており、このような有用性は、本発明の抗体を、望まれない免疫応答の開始および/または維持におけるIFN-活性に伴う/望まれない免疫応答の開始および/または維持におけるIFN-活性を伴う多種多様な自己免疫性または自己炎症性の障害および状態に関連しての様々な適用のために特に有益にしており、例えば、全身性エリテマトーデス(SLE)、様々な形態の関節炎(これには、関節リウマチ(RA)が含まれるが、これに限定されない)、1型糖尿病またはインスリン依存性糖尿病(T1DMまたはIDDM)、シェーグレン症候群、皮膚筋炎、多発性硬化症(MS)、乾癬、慢性乾癬、筋炎、全身性強皮症、自己免疫性甲状腺炎およびガン(白血病(ALL)を含む)などに関連しての様々な適用のために特に有益にしている(Einav他、Oncogene、24(2005)、6367~6375)；同様に、様々なIFN-サブタイプおよびそれらの起こり得る併発障害、ならびに、関連した治療的応用、診断適応用および/または予後適用における本発明の抗体の可能な適応に対する関わり合いを記載する上記のセクション「背景技術」を参照のこと。

10

【0021】

本発明の抗体は好ましくは、自己寛容の乱された発生または脱調節された発生(好ましくは、一遺伝子性の自己免疫性障害によって引き起こされるもの)に起因することがある、あるいは伴うことがある損なわれた中枢性寛容および/あるいは末梢性寛容または自己寛容の喪失に冒される哺乳動物(具体的にはヒト)から単離される。本発明による自己抗体のための特に好適な供給源を提供する哺乳動物の例が、AIRE(自己免疫調節因子)遺伝子における変異に伴う障害を有する哺乳動物(例えば、ヒト)、例えば、自己免疫性多腺性内分泌不全症候群1型(APS1)(Peterson他、Nat. Rev. Immunol.、8(2008)、948~957)、自己免疫性多腺性内分泌不全症候群2型(APS2)(Baker他、J. Clin. Endocrinol. Metab.、95(2010)、E263~E270)およびX連鎖免疫調節異常・多発性内分泌障害腸症候群(IPEX)(Powell他、J. Pediatr.、100(1982)、731~737；Ochs他、Immunol. Rev.、203(2005)、156~164)などを有するヒトである。好ましくは、抗体が単離された患者は、紅斑性狼瘡(SLE)については無症状であり、かつ、血清反応性をdsDNAおよびヒトIFN-サブタイプの少なくとも1つ少なくとも1つに対して示すことによって特徴づけられるAPS1患者である。

20

30

【0022】

具体的には、本発明によれば、初めて、ヒト由来およびヒト患者由来の様々な抗IFN-抗体には、異なるIFN-結合プロファイルおよびIFN-中和活性が備わっており、これにより、これらのヒト由来およびヒト患者由来の抗IFN-抗体は単独または組合せて、実質的にすべてのIFN-サブタイプを網羅する。

【0023】

したがって、1つの局面において、本発明は概して、いくつかのIFN-サブタイプに対する高親和性の中和モノクローナル抗体に関連する。さらなる局面において、本発明は、下記で詳しく記載される、いくつかのIFN-サブタイプに対するヒトモノクローナル抗体(mAbまたはMAB)、すなわち、ヒトIFN-(IFNA)サブタイプであるIFN-1/13(IFNA1/13；IFNA1b)、IFN-2(IFNA2)、IFN-4(IFNA4)、IFN-5(IFNA5)、IFN-6(IFNA6)、IFN-8(IFNA8)、IFN-10(IFNA10)、IFN-14(IFNA14)またはIFN-21(IFNA21)のうちの少なくとも1つに対するヒトモノクローナル抗体であって、それらのサイトカインが関与する障害のための安全かつ効果的な治療剤と見なされるヒトモノクローナル抗体に関連する。1つの実施形態において、本発明のIFN-分子は、何ら有意な程度に、IFN-(ベータ型インターフェロン、IFNB)、IFN-(ガンマ型インターフェロン、IFNG)またはIFN-(インターフェロン・オメガ、IFNW)とは結合せず、ならびに/あるいは、IFN-(ベータ型インターフェロン、IFNB)、IFN-(ガンマ型イ

40

50

ンターフェロン、IFNG)またはIFN- (インターフェロン・オメガ、IFNW)を中和しない。

【0024】

別の実施形態において、本発明によれば、さらにIFN- に結合し、かつ、IFN- の活性を中和する様々な抗IFN- 抗体がそれぞれ提供され、これらは、その抗原特性においてIFN- には関連がないとこれまで記載されたものである。この抗体は通常、免疫アッセイまたは抗ウイルス中和バイオアッセイにおいて抗血清またはモノクローナル抗体と交差反応しないからである。したがって、1つの局面において、本発明は、少なくとも1つのヒトIFN- サブタイプおよびヒトIFN- に結合すること、ならびに、少なくとも1つのヒトIFN- サブタイプの活性およびヒトIFN- の活性を中和することが可能である新規なIFN結合分子、好ましくはヒト由来モノクローナル抗体、ならびに、その断片および生物学誘導体に関連する。好ましくは、IFN結合分子の結合活性および中和活性はそれぞれ、IFN- サブタイプ(1つまたは複数)およびIFN- についての本質的に同じであり、または少なくとも同じ程度の大きさである。

10

【0025】

当然のことながら、本発明は、本発明の抗体の少なくとも1つの可変領域、定常領域および/または相補性決定領域をコードする核酸(具体的にはcDNA)、そのような核酸を含むベクター、抗体を産生する細胞株および組換え細胞にまで及ぶ。本発明はさらに、本発明に従って単離される抗体によって認識される結合分子またはペプチドを含む医薬組成物、診断アッセイおよびキット、ならびに、それらに基づく治療方法に関連する。

20

【0026】

加えて、本発明は、ヒト由来の抗IFNAモノクローナル抗体および抗IFNA/IFNWモノクローナル抗体をそれぞれ、あるいは、そのIFN結合断片または生物学誘導体を製造するための、あるいは、該抗IFNAモノクローナル抗体および抗IFNA/IFNWモノクローナル抗体をそれぞれ含み、またはそのIFN結合断片もしくは生物学誘導体を含む組成物を製造するためのプロセスであって、その製造が、該抗体、そのIFN結合断片または生物学誘導体を、前記抗体、そのIFN結合断片または生物学誘導体をコードする形質転換用DNAの組換え宿主生物における発現によって調製する工程を含む、プロセスに関連する。1つの実施形態において、組成物は医薬組成物であり、該抗体、そのIFN結合断片または生物学誘導体を調製する工程の後には、該抗体、そのIFN結合断片または生物学誘導体を医薬組成物の製造において薬学的に許容され得る担体と混合することが続く。

30

【0027】

本発明は、本発明に従って行われ、また、実施例に記載される実験において初めて得られたヒト由来抗体に言及することによって例示され、また、記載されるが、本発明の抗体または抗体断片には、本件抗体の機能的性質の1つまたは複数を保持する、具体的にはIFNAおよびIFNWに対するその中和活性を保持するどのような操作された抗体または抗体様IFN結合分子(これらは化学的技術または組換え技術によって合成される)をも意味する抗体の合成誘導体および生物学誘導体が含まれることを理解しなければならない。したがって、本発明は、簡潔さのために、抗体に言及することによって記載されることがあるが、別途述べられる場合を除き、その合成誘導体および生物学誘導体、ならびに、等価なIFN結合分子が抗体の用語の意味により意味され、かつ、含まれることを理解されたい。

40

【0028】

本発明のさらなる実施形態が下記の説明および実施例から明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【0029】

【図1】本発明の抗IFN- 特異的ヒト抗体の可変領域、すなわち、重鎖およびカッパ/ラムダ軽鎖(VH、VL)のアミノ酸配列。IgG1型かつカッパ型の抗IFN- 特異的抗体A:5D1、B:13B11、C:19D11、D:25C3、E:26B9、

50

F : 3 1 B 4、G : 8 H 1、H : 1 2 H 5、および、I : 5 0 E 1 1。フレームワーク領域 (F R) および相補性決定領域 (C D R) が示され、C D Rには下線が引かれる。斜体字のアミノ酸は、配列決定がなされていないが、データベースから得られている配列を示している。クローニング戦略に起因して、重鎖および軽鎖のN末端におけるアミノ酸配列は潜在的にはプライマー誘発変化をFR1において含有する場合があります、しかしながら、この変化は抗体の生物学的活性には実質的な影響を与えない。

【図2】交差競合 - エピトープマッピング。異なった結合部位に対する、本発明の例示的な抗IFNA MABの示差的結合を、A : IFNA 2、B : IFNA 4およびC : IFNA 14についての交差競合実験において調べた。IFN - 非結合コントロール (h I g G 1) として、非関連の抗原に結合するヒト抗体が使用されている。

【図3】ELISAによるEC50決定。5 D 1、1 3 B 1 1、2 5 C 3および2 6 B 9の各hMABの、A : IFNA 2、B : IFNA 4、および、C : IFNA 14に対するEC50結合。IFNA 2 / - 4 / - 14に対する、D : 1 9 D 1 1およびE : 3 1 B 4の各hMABのEC50結合。

【図4】APS1患者における知られている疾患関連自己抗体および保護的自己抗体の存在を相関させることにより、IFN - 自己抗体がAPS1患者における紅斑性狼瘡の発症を妨げることが示される (d s D N A 欄 ~ I F N 1 4 欄)。標的：相関研究において調べられる特定のAPS1患者のコード化番号。抗dsDNA抗体はSLEについて非常に特異的であり、この疾患の診断において使用される。APS1患者は誰も、ProtoArray分析 (L i f e T e c h n o l o g i e s) によって評価されるような抗dsDNA抗体がよく存在するにもかかわらず、狼瘡を有しない。APS1患者は、顕著な血清反応性を、狼瘡に関わる多くの分子機構に關与する臨床的に関連した薬物標的であるいくつかのIFN - サブタイプに対して示す。丸は存在を示し、空欄は特定の抗体の非存在を示す。患者2、患者4、患者13および患者21 (黒矢印) はT1DM患者である。患者10、患者14、患者16、患者17および患者18 (白矢印) は、T1DMであることの特徴を有しており、しかし、T1DM患者ではない。これらの結果は、T1DMに罹患するAPS1患者、および、T1DM患者でないAPS1患者の血清における示差的な中和活性を示唆する。図31および図32から推測され得るように、この場合に認められるこの違いは、個々の抗IFN抗体の中和活性における違いではなく、むしろ、抗IFN抗体の力価が両方の患者クラスにおいて異なることに起因しているようであり、はるかに大きい抗体力価が、T1DMに罹患していないAPS1患者には存在する。

【図5】ヒト由来の抗IFN - モノクローナル抗体により、rhIFNA媒介のSTAT1活性化がHEK293T細胞において中和される。HEK293T細胞を非処置 (-) のままにしたか、あるいは、抗体の非存在下、または、示されるようなヒト由来IFNAモノクローナル抗体もしくはヒトコントロールIgG (C t r l) の存在下、様々な組換えヒトrhIFNAまたはIFN - G a u s s i a lシフェラーゼ融合タンパク質 (g 1 I F N) により刺激した (+)。細胞溶解物をSDS - P A G Eに供し、リン酸化STAT1レベル (p S T A T 1) をウエスタンブロットで可視化した。総STAT1レベルまたはチューブリンレベルが負荷コントロールとして役立つ。抗体濃度 : 5 μ g / m l。rhIFNA濃度 : 1 0 n g / m l (r h I F N A 1)、2 n g / m l (すべての他のrhIFN) ; IFN - G a u s s i a lシフェラーゼ融合タンパク質を一過性に発現する293T細胞のg1IFNA含有上清をそれらのそれぞれのEC80希釈で使用した。A1 : コントロール : 1 0 0 n g / m l のIFNA 2 / - 4 / - 14の刺激の後での293T細胞におけるウエスタンブロット (W B) による総STAT1およびリン酸化STAT1 (p S T A T 1) の検出。IFNA 2 / - 4 / - 14による293T細胞の刺激。(i) : リン酸化STAT1、(i i) : 総STAT1、(i i i) : チューブリン負荷コントロール。時間 : それぞれのIFNによる細胞の処置継続期間を示す。刺激後、リン酸化STAT1を3つすべてのIFNAサブタイプについて認めることができる。それぞれの分子量 (k D a) 標準物バンドの位置が比較のためにプロットの左側に示される。A2 : コントロール : 異なる用量のrhIFNA 1、rhIFNA 2およびrhIFNA 1

10

20

30

40

50

6による刺激の後での293T細胞におけるウエスタンブロット(WB)による総STAT1およびリン酸化STAT1(pSTAT1)の検出。B: IFNA1、IFNA2、IFNA4、g1 IFNA5、および、IFNA6による刺激。5D1を除くすべての例示的抗体がIFNA1を効率的に中和し、すべての例示的抗体が、IFNA2、IFNA4およびg1 IFNA5を中和する。25C3、5D1および13B11の例示的抗体は、IFNA6のより弱い中和を示す。C: IFNA7、g1 IFNA8、IFNA10、IFNA14およびIFNA16による刺激。すべての例示的抗体がIFNA7を中和する。25C3および13B11を除くすべての例示的抗体が、g1 IFNA8を効率的に中和する。IFNA10が、25C3を除くすべての例示的抗体によって効率的に中和され、一方、IFNA16が、19D11、5D1および13B11の例示的抗体によってのみ、効率的に中和される。D: IFNA17、IFNA21、IFNW、IFNB、および、g1 IFNGによる刺激。すべての例示的抗体がIFNA17を中和し、13B11を除くすべての例示的抗体がIFNA21を効率的に中和する。IFNWは明らかに、26B9および31B4の例示的抗体によって効率的に中和されるだけである。これらの例示的抗体はどれも、IFNBまたはg1 IFNGを中和しない。

10

【図6】ホタルルシフェラーゼレポーター構築物および内部正規化コントロールとして使用されるウミシタケルシフェラーゼ構築物の概略図。TRE - 転写応答エレメント; CMV - サイトメガロウイルス。

【図7】ヒト由来の抗IFN - モノクローナル抗体により、rhIFNA誘導のISRE - ルシフェラーゼレポーター遺伝子活性化がHEK293T細胞において中和される。AおよびB: 19D11、25C3、26B9および31B4の例示的な抗IFN - 抗体の試験。ISRE二重ルシフェラーゼレポーター構築物を一過性に発現するHEK293T細胞を示されるように、非処置(-)のままにしたか、あるいは、抗体の非存在下、または、ヒト由来IFNAモノクローナル抗体もしくはヒトコントロールIgGの存在下、様々なrhIFNにより刺激した(+)。rhIFN濃度: 2ng/ml; 抗体濃度: 5μg/ml、CおよびD: 5D1および13B11の例示的な抗IFN - 抗体の試験。ISRE二重ルシフェラーゼレポーター構築物を一過性に発現するHEK293T細胞を(A/B)の場合のように処理し、ISREレポーター活性を24時間後にアッセイした。rhIFNA濃度: 1ng/ml; 抗体濃度: 5μg/ml。A/C: 相対的ルシフェラーゼユニットの測定、B/D: 発現倍数変化の計算。E: 本発明の例示的なヒト由来モノクローナル抗体(8H1および12H5)によるrhIFNA1、A2、A4、A5、A6、A7、A8、A10、A14、A16、A17、A21、rhIFNWおよびrhIFNBの中和。例示的抗体8H1は、IFNA1、A4、A5、A6、A7、A10、A16、A17およびA21とともに、IFNWを完全に中和し、一方で、IFNA2、A8およびA14のわずかにより弱い中和を示す。例示的抗体12H5はすべてのIFNAサブタイプを中和し、IFNWを中和しない。例示的抗体の8H1または12H5はどちらも、IFNBを中和しない。HEK293T MSRをAの場合のように処理し、ISREレポーター活性を24時間後に分析した。rhINF濃度: 10ng/ml (IFNA1)、1.3ng/ml (IFNA16)、4ng/ml (IFNA21)、1ng/ml (IFNAB)および2ng/ml (すべての他のIFN)。抗体濃度: 5μg/ml。

20

30

40

【図8】ISRE - ルシフェラーゼレポーター中和アッセイによる、例示的なヒト由来IFNA mAb(26B9)のIC50分析。例示的抗体26B9によるIC50中和グラフ: A: IFNA2、B: IFNA4、C: IFNA5、D: IFNA8、E: IFNA14。例示的抗体26B9についての中和アッセイの確認的試験のIC50分析結果が示される: F: IFNA1、G: IFNA2、H: IFNA4、I: IFNA5、J: IFNA6、K: IFNA7、L: IFNA8、M: IFNA10、N: IFNA14、O: IFNA16、P: IFNA17、Q: IFNA21、および、R: IFNW。IC50データが表4にまとめられる。Y軸におけるRLU = 相対的光ユニット(先行する図の場合と同様)。

50

【図9】ISRE-ルシフェラーゼレポーター中和アッセイによる、例示的なヒト由来抗IFN- γ mAb (25C3)のIC50分析。アッセイが、図8に記載されるように行われる。例示的抗体26B9によるIC50中和グラフ：A：IFNA2、B：IFNA4、C：IFNA5、D：IFNA8、および、E：IFNA14。

【図10】ISRE-ルシフェラーゼレポーター中和アッセイによる、例示的なヒト由来抗IFN- γ mAb (19D11)のIC50分析。アッセイが、図8に記載されるように行われる。例示的抗体19D11による中和のIC50グラフ：A：IFNA2、B：IFNA4、C：IFNA5、D：IFNA8、E：IFNA14。例示的抗体19D11による確認的実験のIC50中和グラフ：F：IFNA1、G：IFNA2、H：IFNA4、I：IFNA5、J：IFNA6、K：IFNA7、L：IFNA8、M：IFNA10、N：IFNA14、O：IFNA16、P：IFNA17、および、Q：IFNA21。IC50データが表4にまとめられる。

【図11】A：ELISAによるIFNA1およびIFNA2 (ImmunoTools)に対する本発明の例示的MAB (19D11、25C3、26B9、5D1および13B11)の結合の決定および比較。例示的な抗IFNA-抗体5D1はIFNA1と交差反応しない。B：LIPSによるIFNA8およびIFNA14 (IFN-Gammaルシフェラーゼ融合タンパク質)に対する本発明の例示的MAB (5D1、13B11、19D11、25C3、26B9および31B4)の結合の決定および比較。例示的MABの13B11はIFNA8 (g1IFNA8)との交差反応性を有しない。C：IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA21 (すべてがPBLから得られる)およびIFNA14 (ATGen)に対する本発明の例示的MAB (5D1、13B11、19D11、25C3、26B9および31B4)の結合の決定および比較。例示的な抗IFNA-抗体13B11はIFNA8およびIFNA21と交差反応しない。抗体19D11は、IFNA21と、それ以外のIFNAサブタイプよりも低い親和性で交差反応する。MABを(C)では1 μ g/mlで試験した。

【図12】LIPSアッセイ-異なるIFNAサブタイプ (IFN-Gammaルシフェラーゼ融合タンパク質)に対する本発明の抗体の結合の決定。下記のサブタイプに対する本発明の例示的抗体の結合：A：IFNA5、B：IFNA6、および、C：IFNA8。例示的な抗IFN-抗体13B11はIFNA8との実質的な交差反応性を何ら示さない。IFN-非結合コントロール (hIgG1)として、非関連の抗原に結合するヒト抗体を使用した。

【図13】LIPSアッセイ-下記のIFNAサブタイプに対する本発明の例示的抗体 (5D1、13B11、19D11、25C3、26B9および31B4)の結合特徴の決定：IFNA1、IFNA2、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16およびIFNA21 (IFN-Gammaルシフェラーゼ融合タンパク質)。IFN-非結合コントロール (hIgG1)として、非関連の抗原に結合するヒト抗体を使用した。すべての抗体を0.5 μ g/mlで試験した。図12および図13で使用されるすべてのIFN-サブタイプがIFN-Gammaルシフェラーゼ融合タンパク質 (g1IFNA)である。

【図14】耳炎症アッセイ-マウスにおけるヒトIFNサブタイプの前炎症性影響の試験。A：例示的な6日間の実験予定表。B：それぞれのコホートについて、0日目の測定に対する変化倍数として計算され、その後、関連したPBSコントロールに対して正規化されるCytoEar耳厚さ測定値。B1：すべての正規化された測定値の影響の概略。B2：IFNa2a注入およびIFNa2b注入の影響。B3：IFNa4注入およびIFNa14注入の影響。試験された4つすべてのヒトIFNAサブタイプは耳の腫大をID後において著しく誘導することができた。すべての耳がPBS処置の耳よりも際だって厚くなっていた。IFNa14は最も強力な前炎症性作用因子であった。平均+/-SEM、I1~I3またはID=皮内へのサイトカイン注入、M=測定値-耳厚さおよび動物体重、S=動物の屠殺；短い矢印-サイトカイン注入；長い矢印-抗IFN-抗体注入の例示的な日。

10

20

30

40

50

【図15】耳炎症アッセイ - マウスにおけるヒトIFNサブタイプの前炎症性影響の試験。C y t o E a r 耳厚さ測定値がそれぞれのコホートについて絶対値 (mm) として示される。A : すべての測定値の影響の概略。B : I F N a 2 a 注入および I F N a 2 b 注入の影響。C : I F N a 4 注入および I F N a 1 4 注入の影響。すべての表示が図14の場合の通りである。

【図16】耳炎症アッセイ - マウスにおけるヒトIFNサブタイプの前炎症性影響の試験。C y t o E a r 耳厚さ測定値がそれぞれのコホートについて0日目からの変化倍数として示される。0日目における厚さが1として設定されている。A : すべての測定値の影響の概略。B : I F N a 2 a 注入および I F N a 2 b 注入の影響。C : I F N a 4 注入および I F N a 1 4 注入の影響。すべての表示が図14の場合の通りである。

【図17】耳炎症の誘導についてのヒトIFN - サブタイプの能力に関しての耳炎症アッセイのまとめ。P値が2元配置ANOVA検定によって得られる: n s (非有意) = $P > 0.05$ 、* = $P = 0.05$ 、** = $P = 0.01$ 、*** = $P < 0.001$ 、**** = $P < 0.0001$ 。すべての耳がPBS処置の耳よりも際だって厚くなっていた; このことは、2回目のIDの後、3日目から実験終了まで、すべての群において有意であった。

【図18】LIPSアッセイ - 下記のサブタイプに対する本発明の例示的な抗IFN - 抗体 (5D1、13B11、19D11、25C3、26B9および31B4) の結合特徴の決定および比較: IFN (IFNG)、IFN - 1 (IFNB1)、IFN (IFNE)、IFN - (IFNW)、3つのIFN (IL28A、IL28BおよびIL29) およびIFNA10 (すべてがIFN - G a u s s i a ルシフェラーゼ融合タンパク質である)。A : 異なるIFNタイプに対する抗体の結合。B : 逆の図、抗体によるIFNの結合。例示的抗体の26B9および31B4は、IFNA10に対するそれらの親和性のほかにIFN - (IFNW) の結合を示す。IFN - 1 (IFNB1)、IFN (IFNE)、3つのIFN およびIFN (IFNG) の、例示的抗体の実質的な結合を認めることができなかった。

【図19】マウスIFNAに対するMABの交差反応性 (ELISA)。h I g G 1 = I F N A 非関連の特異性の抗体 (陰性コントロール)。A : E L I S A アッセイにおける、ヒトおよびマウスのIFNA2、IFNA4およびIFNA14に対する例示的抗体 (5D1、13B11、19D11、25C3、26B9および31B4) の交差反応性の試験。マウスIFNA2に対する交差反応性を示す抗体25C3を除き、他の抗体は、試験されたマウスIFNAサブタイプに対する結合特異性を何ら示さないか、または、残留結合特異性を示すだけである。B : マウスIFNAに対するMABの交差反応性 (LIPSアッセイ)。抗体5D1および抗体19D11はマウスg1mIFNA1に対する交差反応性を示し、この場合、他の抗体は、陰性コントロールについて認められるレベルよりも低い反応性を示すだけである。上記抗体のどれもがマウスIFN - サブタイプのg1mIFNA9に対する交差反応性を示さない。

【図20】ISRE - ルシフェラーゼレポーター中和アッセイによる、例示的なヒト由来抗IFN - mAb (8H1) のIC50分析。例示的抗体8H1のIC50中和グラフ。A : IFNA1、B : IFNA2、C : IFNA4、D : IFNA5、E : IFNA6、F : IFNA7、G : IFNA8、H : IFNA10、I : IFNA14、J : IFNA16、K : IFNA17、L : IFNA21、および、M : IFNW。IC50データが表4にまとめられる。

【図21】ISRE - ルシフェラーゼレポーター中和アッセイによる、例示的なヒト由来抗IFN - mAb (12H5) のIC50分析。例示的抗体12H5のIC50中和グラフ。A : IFNA1、B : IFNA2、C : IFNA4、D : IFNA5、E : IFNA6、F : IFNA7、G : IFNA8、H : IFNA10、I : IFNA14、J : IFNA16、K : IFNA17、および、L : IFNA21。IC50データが表4にまとめられる。

【図22】ISRE - ルシフェラーゼレポーター中和アッセイによる、例示的なヒト由来

10

20

30

40

50

抗IFN- γ mAb (50E11)のIC50分析。例示的抗体50E11のIC50中和グラフ。A: IFNA1、B: IFNA2、C: IFNA4、D: IFNA5、E: IFNA6、F: IFNA7、G: IFNA8、H: IFNA10、I: IFNA14、J: IFNA16、K: IFNA17、L: IFNA21、および、M: IFNW。IC50データが表4にまとめられる。

【図23】ヒト由来の抗IFN- γ モノクローナル抗体により、IFN受容体を内因的に発現するHEK293T MSR細胞に対するIFN-G γ アルシフェラーゼ融合タンパク質の結合が発光細胞結合アッセイにおいて中和される。細胞を、インターフェロン-G γ アルシフェラーゼ融合タンパク質を発現するHEK293T細胞の上清と、阻害剤の非存在下(-)で、または、示されるような競合的阻害剤の存在下でインキュベーションした。A: ルシフェラーゼに基づく化学発光細胞結合アッセイの概略図。目的とするリガンド(3)がG γ アルシフェラーゼ(4)に融合される。この融合タンパク質を、目的とするリガンドに対する受容体(2)を発現する細胞(1)に結合させる。結合していない融合タンパク質を除いた後、ルシフェラーゼの基質を加え(5)、光の放射を記録する(6)。光の出力は、結合している融合タンパク質の量に比例している。目的とするリガンドの結合について受容体と競合する抗リガンド抗体(7)は、結合したリガンドにおける低下、および、低下した光の出力をもたらす。B: コントロール: ヒトIFNA-G γ アルシフェラーゼ融合タンパク質は、HEK293T MSR細胞に特異的に結合する。HEK293T MSR細胞に対するIFNA5-G γ アルシフェラーゼ融合タンパク質(g1 IFNA5)の結合が、非標識のrhIFNA2(3 μ g/ml)によって、また、例示的なヒト由来のモノクローナルなIFNA抗体19D11(1.7 μ g/ml)によって阻害される。ヒトコントロール抗体(huIgG、15 μ g/ml)は影響を何ら示さない。C: HEK293T MSR細胞に対する、g1 IFNA2、A4、A5、A6、A7、A8、A10、A14、A16、A17およびA21の各融合タンパク質の結合が、例示的なヒト由来のモノクローナルなIFN抗体19D11によって阻害される。g1 IFNBおよびIFNWの結合は19D11によって影響を受けない。すべてのg1 IFNの結合が、コントロールのヒト抗体(huIgG)によって影響を受けない。抗体濃度: 5 μ g/ml。D: 例示的抗体の19D11および26B9によるg1 IFNA16およびg1 IFNWの結合中和。細胞を、抗体の非存在下(-)、あるいは、例示的抗体(19D11、26B9)またはコントロールのヒト抗体(huIgG)の存在下、示されるように、g1 IFNA16およびg1 IFNWにより処理した。抗体濃度: 10 μ g/ml。例示的抗体19D11は、g1 IFNA16を中和することにおいて26B9よりも強力である。例示的抗体26B9は、g1 IFNWの、293T MSR細胞におけるその受容体に対する結合を効率的に阻止し、一方、例示的抗体19D11はこのリガンドに対する明らかな影響を何ら示さない。

【図24】ヒトIFNW-G γ アルシフェラーゼ融合タンパク質は、膜貫通型の抗IFNW mAbを発現するHEK293T MSR細胞に特異的に結合する。HEK293T MSR細胞を、抗IFNW mAbの26B9の膜結合型(26B9-TM)をコードするcDNA、または、空ベクター(モック)の示された量によりリバーストランスフェクションした。トランスフェクション後48時間で、IFNW-G γ アルシフェラーゼを加え(g1 IFNW)、結合を化学発光細胞結合アッセイで分析した。A: コントロール: 26B9-TMを、トランスフェクションされたHEK293T MSR細胞の細胞表面に発現させる。表面の抗体発現を細胞に基づくELISAでトランスフェクション後48時間でアッセイした。B: g1 IFNWは、発光細胞結合アッセイにおいて、26B9-TMを発現する細胞に特異的に結合する。

【図25】抗IFNW抗体の交差競合アッセイ。26B9-TMに対するg1 IFNWの結合が、可溶性26B9による、また、クローンに関連した31B4抗体による用量依存的な競合を受ける。対照的に、結合は、コントロールIgGによって、また、例示的な抗IFNW抗体8H1によって影響されない。

10

20

30

40

50

【図26】SPR分析。A：本発明の例示的抗体の19D11（A1～A4）および26B9（B1～B4）に対するヒトIFNA2bの結合（A1/B1）、IFNA4の結合（A2/B2）、IFN14の結合（A3/B3）およびIFNの結合（A4/B4）に関するセンソグラムの詳細な分析。1：1の結合速度論が認められた。抗原を、1nM、2.5nM、5nM、10nM、15nM、25nM、50nMおよび100nMの濃度で注入した。計算された親和性（KD値[M]）が図中に示される。C：プロットは、すべての試験された抗体の会合（オン速度ka）および解離（オフ速度kd）について近似曲線から導かれる速度論パラメータを示す。点線の対角線により、親和性（KD）が示される。D：ピオチン-ストラプトアビジン結合のSPR文献値との比較での本発明の例示的抗体のKD値。ヒトIFNA4およびIFNA14に対する親和性が、IFN2bについてはそれぞれ、サブピコモル濃度範囲およびサブナノモル濃度範囲にある。26B9はまた、サブピコモル濃度の親和性でヒトIFNと結合する。

【図27】エピトープマッピング。A：マイクロアレイに結合させた全長抗原に対する本発明の抗体の結合。Y軸は、Cy5コンジュゲート化二次抗体により検出されたときの蛍光強度（RFU）を示す。B：本発明の抗体19D11に対するヒトIFNA2の18merペプチドの一次ペプチドアレイ。下段パネルには、アスパラギン65からリシン98までの配列を網羅するペプチド、および、リシン117からセリン150までの配列を網羅するペプチドが示される。抗体19D11はペプチド19およびペプチド32に特異的に結合する。C：本発明の抗体26B9に対するヒトIFNA2の18merペプチドの一次ペプチドアレイ。下段パネルには、アスパラギン酸77からリシン110までの配列を網羅するペプチドが示される。抗体26B9はペプチド22に特異的に結合する。D：本発明の抗体26B9に対するヒトIFNAWの18merペプチドの一次ペプチドアレイ。下段パネルには、メチオニン102からアラニン135までの配列を網羅するペプチドが示される。抗体26B9はペプチド23に特異的に結合する。

【図28】IFNA14の耳炎症アッセイCytotoEar。本発明の異なるIFNA阻止抗体の影響をhIFNA14誘導による炎症の後において試験する。炎症を誘導するために、20μlのIFNa14を耳あたり25μg/mlの濃度で注入した。厚さの測定はまた、注入を与える前に、そして、1つの耳について2回の測定により行った。A：例示的な10日間の実験予定表。B：実験動物群（A～I）の実験的処置の概要。Ref.A - IFNA特異的な参照抗体。それぞれのコホートについて、0日目の測定値に対する変化倍数として計算され、その後、関連したPBSコントロールに対して正規化されるCytotoEar耳厚さ測定値。C：すべての正規化された測定値の影響の概略。D：IFNa14注入の後における26B9処置の影響。E：IFNa14注入の後における19D11処置の影響。F：IFNa14注入の後における参照用の抗IFN-抗体Ref.Aによる処置の影響。本発明の抗体26B9および抗体19D11による処置（それぞれ7日目、9日目、10日目における、また、19D11については4日目、7日目～10日目における耳厚さの有意な減少）は、（IFN-に関連しない結合特異性の）IgGによるコントロール処置およびRef.Aによる処置と比較して、IFNa14注入から生じる耳厚さの顕著な減少を引き起こす。平均+/-SEM、ID=皮内へのサイトカイン注入、M=測定値-耳厚さ、S=動物の屠殺；ID-サイトカイン注入；試験された抗体の26B9および19D11、Ref.A、ならびに、コントロールIgGを0日目に注入した（IP）。

【図29】IFNA5の耳炎症アッセイCytotoEar。本発明の異なるIFNA阻止抗体の影響をhIFNA5誘導による炎症の後において試験する。炎症を誘導するために、20μlのIFNa5を耳あたり25μg/mlの濃度で注入した。厚さの測定はまた、注入を与える前に、そして、1つの耳について2回の測定により行った。A：例示的な10日間の実験予定表。B：実験動物群（A～I）の実験的処置の概要。Ref.A - 参照用のIFNA特異的抗体。それぞれのコホートについて、0日目の測定値に対する変化倍数として計算され、その後、関連したPBSコントロールに対して正規化されるCytotoEar耳厚さ測定値。C：すべての正規化された測定値の影響の概略。D：IFNa5注

10

20

30

40

50

入の後における26B9処置の影響。E：IFNa5注入の後における19D11処置の影響。F：IFNa5注入の後における参照用の抗IFN-抗体Ref.Aによる処置の影響。本発明の抗体26B9および抗体19D11による処置は、IFNa5注入から生じる耳厚さの減少を引き起こす(26B9については、4日目、6日目、7日目、8日目および9日目における有意な減少；19D11については7日目～9日目における有意な減少)。さらなる詳細については図26の説明を参照のこと。試験された抗体の26B9および19D11、Ref.A、ならびに、コントロールIgGを0日目に注入した(IP)。

【図30】IFNwの耳炎症アッセイCyt o Ear。本発明の異なるIFNA阻止抗体の影響をhIFNw(IFN)誘導による炎症の後において試験する。炎症を誘導するために、20μlのIFNwを、耳あたり6.25μg/mlの濃度で注入した(125ng/耳)。厚さの測定はまた、注入を与える前に、そして、1つの耳について2回の測定により行った。A：例示的な10日間の実験予定表。B：実験動物群(A～I)の実験的処置の概要。Ref.A-参照用のIFNA特異的抗体。それぞれのコホートについて、0日目の測定値に対する変化倍数として計算され、その後、関連したPBSコントロールに対して正規化されるCyt o Ear耳厚さ測定値。C：すべての正規化された測定値の影響の概略。D：IFNw注入の後における26B9処置の影響。E：IFNw注入の後における19D11処置の影響。F：IFNw注入の後における参照用の抗IFN-抗体(Ref.A.)による処置の影響。本発明の抗体26B9による処置は、IFNw注射から生じる耳厚さの有意な減少を実験9日目に引き起こす。19D11またはRef.Aによる処置は、明らかに耳厚さの減少がないことまたは非常にわずかな減少を引き起こす(すべての日においてコントロールIgG注入と比較して非有意(ns))。さらなる詳細については図26の説明を参照のこと。試験された抗体の26B9および19D11、Ref.A、ならびに、コントロールIgGを0日目に注入した(IP)。

【図31】1型糖尿病を伴う場合(T1D)または伴わない場合(N)のAPS1/APECED患者の血清におけるIFN中和活性の比較。A：IFNA1、B：IFNA2a、C：IFNA4、D：IFNA5、E：IFNA6、F：IFNA7、G：IFNA8、H：IFNA10、I：IFNA14、J：IFNA16、K：IFNA17、L：IFNA21およびM：IFNW。

【図32】1型糖尿病を伴う場合(T1D)または伴わない場合(N)のAPS1/APECED患者の血清におけるIFN中和活性の比較。図31の通りであり、しかしながら、Y軸での対数スケールが、T1Dを伴うAPS1/APECED患者の血清において測定される中和活性のより良好な可視化のために用いられる。A：IFNA1、B：IFNA2a、C：IFNA4、D：IFNA5、E：IFNA6、F：IFNA7、G：IFNA8、H：IFNA10、I：IFNA14、J：IFNA16、K：IFNA17、L：IFNA21およびM：IFNW。T1Dに罹患していないAPS1患者(N)は、すべての抗体について、それらの血清において、T1D-APS1患者よりも大きい力価を示す。この力価の差により、両方の患者群における示差的な治療的要求が示される場合がある。

【発明の詳細な説明】

【0030】

本発明は概して、哺乳動物起源(好ましくはヒト起源)のIFN-と結合する新規な分子、特に、IFN-の種々のサブタイプを認識し、かつ、より重要なことにはそれらの活性を中和することができる患者由来のヒトモノクローナル抗体、ならびに、その断片、誘導体および変異体に関連する；IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA8、IFNA10、IFNA13、IFNA14、IFNA16、IFNA17およびIFNA21を含めてIFNAサブタイプの説明については背景のセクション(上掲)もまた参照のこと。なお、IFNA1遺伝子およびIFNA13遺伝子は同じIFNA1/13サブタイプをコードする。

【0031】

10

20

30

40

50

実施例において記載されるように、本発明の例示的な抗体は、損なわれた中枢性寛容および/または末梢性寛容あるいは自己寛容の喪失を有する患者（例えば、A P E C E D / A P S 1患者など）の血清を、I N F - タンパク質に対する自己抗体についてスクリーニングすること、同様にまた、抗体を自己免疫性障害または自己炎症性疾患に罹患する被験体のB細胞から単離する新規な方法（これは本出願人の国際出願公開W O 2 0 1 3 / 0 9 8 4 2 0 A 1の主題であり、かつ、それに開示される方法である）を使用することに基づく、本出願人の国際出願公開W O 2 0 1 3 / 0 9 8 4 1 9 A 1の主題であり、かつ、それに開示される方法によって単離されている。

【0032】

本発明に従って行われた実験は、選択的なI F N - サブタイプ特異性のI F N - 結合分子を提供すること、すなわち、免疫反応性が、例えば、S L Eの発症に対して保護的であるとして、言い換えれば、S L E症状の発現を少なくとも軽減させるとしてA P E C E D / A P S 1患者において示されている抗体およびそのI F N - 結合断片を提供することに関した。

【0033】

したがって、第1の一般的な局面において、本発明は、すべてのI F N - サブタイプまたはほんの部分範囲のI F N - サブタイプまたは特定のI F N - サブタイプに対する結合特異性および好ましくは中和活性を示すヒト由来の抗インターフェロン-アルファ（I N F - ）抗体あるいはそのI F N - 結合断片、合成誘導体または生物学誘導体を提供する。本発明の好ましい実施形態において、抗I F N - 抗体またはI F N - 結合断片は、

- (i) ヒトI F N - サブタイプのI F N A 2、I F N A 4、I F N A 5、I F N A 6、I F N A 1 0およびI F N A 1 4に結合する；
- (i i) 少なくとも1つの、ヒトI F N - サブタイプであるI F N A 1 / 1 3（I F N A 1 b）、I F N A 8、I F N A 1 6および/またはI F N A 2 1に結合する；かつ/あるいは
- (i i i) 該ヒトI F N - サブタイプの少なくとも1つの生物学的活性を中和することができる。

したがって、本発明は、この技術分野において知られている抗体とは異なるI F N サブタイプ特異性を有し、かつ、それらよりも幅広い適用プロファイルを提供する一連の抗体を提供する。

【0034】

すべてのI F N サブタイプがヘテロ二量体型のI F N / 受容体（I F N A R）を利用しており、細胞質チロシンキナーゼのT y k 2およびJ a k 1により行われるS T A T 1およびS T A T 2（シグナル伝達・転写活性化因子）のリン酸化および付随した活性化を介してシグナルを、受け取る細胞において生じさせる。これらのS T A Tタンパク質は核へ移行し、G A S部位またはI S R E部位のどちらかあるいは両方をそのプロモータに有する遺伝子の発現を活性化する（B o r d e n他、N a t . R e v . D r u g D i s c o v .、6（2007）、975~990；H u他、I m m u n o l . R e v . 2 2 6（2008）、41~56；v a n B o x e l - D e z a i r e他、I m m u n i t y 2 5（2006）、361~372）。この活性化機構が本発明において使用されており、同様にまた、I F N活性測定のエッセイ方法を設計するために、例えば、本発明の抗体の中和能をモニターするために本明細書中に記載されるような、また、本明細書中で使用されるような、例えば、実施例3および図5~図7において記載されるような、また、使用されるような細胞型S T A T（シグナル伝達・転写活性化因子）活性化アッセイおよびI S R E（インターフェロン刺激応答エレメント）レポーター遺伝子アッセイ（C i g n a l R e p o r t e r A s s a y、Q i a g e n）などを設計するために使用されている。それらにおいて詳しく記載されるように、本発明の抗体は、さらには下記で詳しく記載されるように、いくつかのI F N Aサブタイプに対する強力な中和活性を有することが見出されている。

10

20

30

40

50

【0035】

したがって、本発明の1つの実施形態において、本発明の抗体またはIFN-結合断片によって中和される生物学的活性が、細胞型STAT（シグナル伝達・転写活性化因子）活性化アッセイ、ISRE（インターフェロン刺激応答エレメント）レポーター遺伝子アッセイおよび/または細胞結合アッセイにおけるIFN-のシグナル伝達である（実施例9を参照のこと）。

【0036】

そのうえ、本発明の抗体の結合親和性が、本明細書中に、例えば、実施例1、実施例2、実施例6および実施例9に記載されるような、また、図3、図7～図13および図18～図27に示されるようなELISAアッセイ、LIPSアッセイおよび細胞結合アッセイによって調べられている。これらの実験の結果に従って、本発明は、異なった様々なIFNAサブタイプに対する示差的な結合親和性を示すいくつかの例示的な抗IFN-抗体を提供する。なお、これらのIFNAサブタイプにより、本明細書中に提供されるIFN-結合分子の結合特徴および中和特徴が例示される。

10

【0037】

例えば、本発明の例示的な抗IFN-抗体19D11は、少なくともヒトIFN-サブタイプのIFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16およびIFNA21に結合し（例えば、図13および図18～図27を参照のこと）、実施例および図5～図7において記載されるような中和特性を有する。したがって、1つの実施形態において、本発明の抗体またはIFN-結合断片は、セクション(i)（上掲）において規定されるIFN-サブタイプに加えて、少なくともヒトIFN-サブタイプのIFNA1/13、IFNA8、IFNA16およびIFNA21に結合する。したがって、1つの好ましい実施形態において、抗IFN-抗体あるいはそのIFN-結合断片、合成誘導体または生物学誘導体は、添付された実施例および図において、具体的には種々のIFN-サブタイプに対するその中和活性に関して例示されるような、抗体19D11の免疫学的特徴および/または生物学的特性を有する。

20

【0038】

本発明の例示的な抗IFN-抗体の26B9および31B4は、少なくともヒトIFN-サブタイプのIFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14およびIFNA21に結合し（例えば、図13および図18～図27を参照のこと）、実施例および図5～図7において記載されるような中和特性を有する。したがって、1つの実施形態において、本発明の抗体またはIFN-結合断片は、セクション(i)（上掲）において規定されるIFN-サブタイプに加えて、少なくともヒトIFN-サブタイプのIFNA1/13、IFNA8およびIFNA21に結合する。したがって、別の好ましい実施形態において、抗IFN-抗体あるいはそのIFN-結合断片、合成誘導体または生物学誘導体は、添付された実施例および図において、具体的には種々のIFN-サブタイプに対するその中和活性に関して例示されるような、抗体26B9または抗体31B4の免疫学的特徴および/または生物学的特性を有する。

30

40

【0039】

本発明の例示的な抗IFN-抗体25C3は、少なくともヒトIFN-サブタイプのIFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16およびIFNA21に結合し（例えば、図13および図18～図19を参照のこと）、実施例および図5～図7において記載されるような中和特性を有しており、IFNA6、IFNA8、IFNA10およびIFNA16に対する低下した中和能を示す。したがって、1つの実施形態において、本発明の抗体またはIFN-結合断片は、セクション(i)（上掲）において規定されるIFN-サブタイプに加えて、少なくともヒトIFN-サブタイプのIFNA1/13、IFNA8、IFNA16およびIFNA21に結合し、しかし、IFNA16のほんの弱い中和

50

を示すだけである。さらなる実施形態において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片は加えて、IFNA 6、IFNA 8およびIFNA 10のほんの弱い中和を示すだけである。したがって、別の好ましい実施形態において、抗IFN - 抗体あるいはそのIFN - 結合断片、合成誘導体または生物学誘導体は、添付された実施例および図において、具体的には種々のIFN - サブタイプに対するその中和活性に関して例示されるような、抗体25C3の免疫学的特徴および/または生物学的特性を有する。

【0040】

本発明の例示的な抗IFN - 抗体5D1は、少なくともヒトIFN - サブタイプのIFNA 2、IFNA 4、IFNA 5、IFNA 6、IFNA 8、IFNA 10、IFNA 14、IFNA 16およびIFNA 21に結合し、しかし、IFNA 1/13には結合せず、かつ、実施例および図5～図7において記載されるような中和特性を有する。したがって、1つの実施形態において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片は、セクション(i)(上掲)において規定されるIFN - サブタイプに加えて、少なくともヒトIFN - サブタイプのIFNA 8、IFNA 16およびIFNA 21に結合し、しかし、IFNA 1/13には結合しない。したがって、別の好ましい実施形態において、抗IFN - 抗体あるいはそのIFN - 結合断片、合成誘導体または生物学誘導体は、添付された実施例および図において、具体的には種々のIFN - サブタイプに対するその中和活性に関して例示されるような、抗体5D1の免疫学的特徴および/または生物学的特性を有する。

10

【0041】

本発明の例示的な抗IFN - 抗体13B11は、少なくともヒトIFN - サブタイプのIFNA 1/13、IFNA 2、IFNA 4、IFNA 5、IFNA 6、IFNA 10、IFNA 14およびIFNA 16に結合し、しかし、IFNA 8には結合せず、かつ、実施例および図5～図7において記載されるような中和特性を有する。したがって、1つの実施形態において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片は、セクション(i)(上掲)において規定されるIFN - サブタイプに加えて、少なくともヒトIFN - サブタイプのIFNA 1/13およびIFNA 16に結合し、しかし、IFNA 8には結合しない。したがって、さらなる好ましい実施形態において、抗IFN - 抗体あるいはそのIFN - 結合断片、合成誘導体または生物学誘導体は、添付された実施例および図において、具体的には種々のIFN - サブタイプに対するその中和活性に関して例示されるような、抗体13B11の免疫学的特徴および/または生物学的特性を有する。

20

30

【0042】

本発明の例示的な抗IFN - 抗体8H1は、少なくともヒトIFN - サブタイプのIFNA 1、IFNA 4、IFNA 5、IFNA 6、IFNA 7、IFNA 10、IFNA 16、IFNA 17およびIFNA 21に結合し、一方で、IFNA 2、IFNA 8およびIFNA 14のより弱い中和を示し、かつ、実施例および図7において記載されるような中和特性を有する。したがって、1つの実施形態において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片は、セクション(i)(上掲)において規定されるIFN - サブタイプに加えて、少なくともヒトIFN - サブタイプのIFNA 1/13、IFNA 17およびIFNA 21に結合する。したがって、なおさらなる好ましい実施形態において、抗IFN - 抗体あるいはそのIFN - 結合断片、合成誘導体または生物学誘導体は、添付された実施例および図において、具体的には種々のIFN - サブタイプに対するその中和活性に関して例示されるような、抗体8H1の免疫学的特徴および/または生物学的特性を有する。

40

【0043】

本発明の例示的な抗IFN - 抗体12H5は、すべてのヒトIFN - サブタイプ、すなわち、IFNA 1、IFNA 2、IFNA 4、IFNA 5、IFNA 6、IFNA 7、IFNA 8、IFNA 10、IFNA 14、IFNA 16、IFNA 17およびIFNA 21に結合し、それらを中和し、かつ、実施例および図7において記載されるような中和特性を有する。したがって、1つの実施形態において、本発明の抗体またはIFN -

50

結合断片はすべてのヒトIFN- サブタイプに結合する。したがって、なおさらなる好ましい実施形態において、抗IFN- 抗体あるいはそのIFN- 結合断片、合成誘導体または生物学誘導体は、添付された実施例および図において、具体的には種々のIFN- サブタイプに対するその中和活性に関して例示されるような、抗体12H5の免疫学的特徴および/または生物学的特性を有する。

【0044】

1つの実施形態において、本発明の抗IFN- 抗体またはIFN- 結合断片はIFNA21を認識し、かつ/または、IFNA21を中和し、ただし、この場合、好ましくは、IFNA21の認識および/または中和には、この抗体または断片によって認識され、かつ/または中和されるいずれかの他のIFNAの場合と少なくとも実質的に同じ結合優先/中和活性が伴う。

10

【0045】

そのうえ、本発明の範囲内で行われる実験において得られる予備的結果により、本発明によって提供される例示的抗体が、少なくとも1つのIFNAサブタイプに加えて、別のI型インターフェロンに、すなわち、図18において抗体26B9および抗体31B4について例示的に示されるようなIFN- オメガ（これはまた、IFNWまたはIFN- として本明細書中では示される）に結合することが既に示された後において、さらなる実験により、IFNWに対する本件抗体のうちのいくつかの驚くべき中和特性が、すなわち、図5における抗体26B9および抗体31B4について、また、図24における抗体19D11との比較での抗体26B9について、図25～図26における抗体26B9につ

いて、図25における抗体31B4について、図7および図20における抗体8H1について、また、図22における抗体50E11について確認された。したがって、1つの実施形態において、本発明はまた、少なくとも1つのIFNAサブタイプのほかに、さらには少なくとも1つの他のI型インターフェロンと結合する抗IFN- 抗体およびそのINF- 結合断片に関連し、この場合、好ましくは、該他のI型インターフェロンはヒトIFN- (IFNW)である。対応するIFN結合分子はまた、IFNA/IFNW結合分子または抗IFNA/IFNW抗体として示される場合がある。好ましくは、本発明の抗IFN- 抗体またはIFN- 結合断片は、少なくとも1つのIFN- サブタイプに加えて、ヒトIFN- (IFNW)の生物学的活性を中和することができる。そのような抗体は、より大きい力価のIFNWを有する患者の防止、処置または診断における使用のために、ならびに/あるいは、増大した力価のIFNAサブタイプおよび増大した力価のIFNWの両方を示す患者のために特に有益である。したがって、なおさらなる好ましい実施形態において、抗IFN- 抗体あるいはそのIFN- 結合断片、合成誘導体または生物学誘導体は、添付された実施例および図において、具体的にはIFN- に対するその中和活性に関して例示されるような、抗体26B9、抗体31B4、抗体8H1または抗体50E11の免疫学的特徴および/または生物学的特性を有する。

20

30

【0046】

本発明のIFNA/IFNW結合分子は、被験体におけるIFNWの増大した発現または増大したレベルの活性に伴う疾患、特に、IFNAの発現または活性レベルが同様に増大している場合の疾患の防止、治療および/または診断において特に有用である。例えば、IFNWが、上昇したレベルのIFNAサブタイプに加えて、全身性エリテマトーデス(SLE)および腎臓疾患を有する患者の血清において見出される；例えば、M C D a l l ' E r a 他、Ann . Rheum . Dis . 64 (2005)、1692～1697、および、H a n 他、Genes and Immunity 4 (2003)、177～186を参照のこと。したがって、多数のI型IFNを広範囲に阻止する本発明のIFNA/IFNW結合分子は、潜在的な治療剤として、IFNAのみについて特異的な抗体よりも好都合である場合がある。加えて、関節リウマチを有する患者の血清が、IFN- のほかに、正常なコントロールと比較して、IFN- ではなく、IFN- の上昇したレベルを有することが報告されている；L a v o i e 他、J . Immunol . 186 (2011)、186、会議アブストラクト101 . 37を参照のこと。したがって、

40

50

本発明のIFNA/IFNW結合分子はまた、IFNW以外にはIFNAを伴わない、または有意に伴わない自己免疫性障害の処置において有用であることが判明する場合がある。

【0047】

したがって、さらなる局面において、本発明は、ヒト由来の抗IFN-抗体の26B9、31B4、8H1または50E11の合成誘導体または生物学誘導体であるIFNW結合分子の中で、IFNWに対するそれらの中和活性を実質的に保持し、しかし、1つまたは複数のIFN-サブタイプに対するそれらの結合特異性あるいはIFN-と結合する能力を全く失っているIFNW結合分子に関連する。加えて、本発明は、ヒト由来の抗IFN-抗体の26B9、31B4、8H1または50E11のいずれかと、実施例に記載されるアッセイのいずれかにおいてIFNWと結合することおよび/またはIFNWを中和することについて競合し、しかし、IFN-と結合することおよび/またはIFN-を中和することに関しては必ずしも競合しないどのようなIFNW結合分子(好ましくは抗体または抗体断片)にも関連する。

10

【0048】

そのうえ、図18に示されるように、本発明の例示的な抗IFN-抗体は、I型インターフェロンのIFN-、IFN-に対する、II型インターフェロンとしてのIFN-に対する、および/または、III型インターフェロンとしてのIFN-(図18におけるIL-29、IL-28AおよびIL-28B)に対するはるかに弱い親和性を示すか、または、親和性を全く示さない。したがって、1つの実施形態において、本発明は、II型インターフェロンおよび/またはIII型インターフェロンよりもI型インターフェロンと好ましくは結合する抗IFN-抗体およびそのIFN-結合断片に関連し、より好ましくは、本発明の抗IFN-抗体およびIFN-結合断片はI型インターフェロンおよびIII型インターフェロンを実質的に認識しない。

20

【0049】

本発明では、その可変領域において、すなわち、結合ドメインにおいて、(V_H) (配列番号2、配列番号10、配列番号18、配列番号22、配列番号30、配列番号38、配列番号76、配列番号84および配列番号92)および(V_L) (配列番号4、配列番号12、配列番号20、配列番号24、配列番号32、配列番号40、配列番号78、配列番号86および配列番号94)の図1に示されるアミノ酸配列を含む可変領域のV_Hおよび/またはV_Lの少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)を含むことによって一般には特徴づけられることがあるIFN-結合分子、すなわち、抗体およびそのIFN-結合断片が例示される。図1において下線が引かれ、また、表1において特定される例示的なCDR配列を参照のこと。しかしながら、下記で議論されるように、当業者は、加えて、または、代替として、様々なCDRが使用されることがあり、ただし、これらのCDRは、それらのアミノ酸配列において、図1に示されるアミノ酸配列から、特にCDR2およびCDR3の場合には1つ、2つ、3つ、または、それどころか、それ以上のアミノ酸によって異なるという事実を十分に承知している。

30

【0050】

実施例および図において示されるような具体的なIFN-サブタイプおよびIFNWに対する特定の結合優先および中和能に関して、上記で提供される一般的な特徴づけは、IFN-結合分子(すなわち、本発明の抗体およびその結合断片)の下記の群に細分される場合がある。

40

【0051】

1つの実施形態において、本発明の抗体またはIFN-結合断片はヒト由来の抗体であり、かつ、IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16およびIFNA21からなる群から選択される少なくとも1つのIFN-サブタイプに結合し、ただし、その可変領域において、

(a) 図1(V_H) (配列番号18) および図1(V_L) (配列番号20) に示される

50

V_H 可変領域アミノ酸配列および/またはV_L 可変領域アミノ酸配列の少なくとも1つの相補性決定領域(CDR) :

(b) 図1に示されるようなV_H 領域および/またはV_L 領域のアミノ酸配列 ;

(c) (a)のアミノ酸配列のいずれか1つの部分的変化から生じるアミノ酸配列からなる少なくとも1つのCDR ; ならびに/あるいは

(d) (b)のアミノ酸配列の部分的変化から生じるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および/または軽鎖可変領域を含む。

加えて、または、代替において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片は、例示的抗体19D11の結合特徴を示すことによって特徴づけられる。

10

【0052】

実施例5において例示されるように、また、図27A/Bに示されるように、例示的抗体19D11によって特異的に認識されるIFNA2におけるエピトープが特定されている。したがって、1つの実施形態において、本発明の抗体あるいはIFN - 結合断片、合成誘導体または生物学誘導体は、アミノ酸配列SAAWDETL LDKFYTELYQ (配列番号99) および/またはアミノ酸配列RITLYLKEKKYS PCAWEV (配列番号100) からなるIFNA2におけるエピトープと結合することができる。

【0053】

別の実施形態において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片はヒト由来の抗体であり、かつ、IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14およびIFNA21からなる群から選択される少なくとも1つのIFN - サブタイプに結合し、ただし、その可変領域において、

20

(a) 図1(V_H) (配列番号30または配列番号38) および図1(V_L) (配列番号32または配列番号40) に示されるV_H 可変領域アミノ酸配列および/またはV_L 可変領域アミノ酸配列の少なくとも1つの相補性決定領域(CDR) :

(b) 図1に示されるようなV_H 領域および/またはV_L 領域のアミノ酸配列 ;

(c) (a)のアミノ酸配列のいずれか1つの部分的変化から生じるアミノ酸配列からなる少なくとも1つのCDR ; ならびに/あるいは

(d) (b)のアミノ酸配列の部分的変化から生じるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および/または軽鎖可変領域を含む。

30

加えて、または、代替において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片は、例示的抗体26B9または例示的抗体31B4の結合特徴を示すことによって特徴づけられる。したがって、この実施形態において、抗IFN - 抗体またはIFN - 結合断片は好ましくはまた、IFNWを認識し、かつ、IFNWを中和する ; 上記もまた参照のこと。

【0054】

実施例5において例示されるように、また、図27C/Dに示されるように、例示的抗体26B9によって特異的に認識されるIFNA2およびIFNWにおけるエピトープが特定されている。従って、1つの実施形態において、本発明の抗体あるいはIFN - 結合断片、合成誘導体または生物学誘導体は、アミノ酸配列YTELYQLNDLEACVIQG (配列番号101) からなるIFNA2のエピトープ、および/または、アミノ酸配列TGLHQQLQHLETCLLQVV (配列番号102) からなるIFNAWのエピトープと結合することができる。

40

【0055】

別の実施形態において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片はヒト由来の抗体であり、かつ、IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16およびIFNA21のサブタイプからなる群から選択される少なくとも1つのIFN - サブタイプに結合し、ただし、その可変領域において、

(a) 図1(V_H) (配列番号22) および図1(V_L) (配列番号24) に示される

50

V_H 可変領域アミノ酸配列および/またはV_L 可変領域アミノ酸配列の少なくとも1つの相補性決定領域(CDR) :

(b) 図1に示されるようなV_H 領域および/またはV_L 領域のアミノ酸配列 ;

(c) (a)のアミノ酸配列のいずれか1つの部分的変化から生じるアミノ酸配列からなる少なくとも1つのCDR ; ならびに/あるいは

(d) (b)のアミノ酸配列の部分的変化から生じるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および/または軽鎖可変領域を含む。

加えて、または、代替において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片は、例示的抗体25C3の結合特徴を示すことによって特徴づけられる。

10

【0056】

別の実施形態において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片はヒト由来の抗体であり、かつ、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA10、IFNA14、IFNA16およびIFNA21のサブタイプからなる群から選択される少なくとも1つのIFN - サブタイプに結合し、しかし、IFNA1/13には結合せず、ただし、その可変領域において、

(a) 図1(V_H) (配列番号2) および図1(V_L) (配列番号4) に示されるV_H 可変領域アミノ酸配列および/またはV_L 可変領域アミノ酸配列の少なくとも1つの相補性決定領域(CDR) :

(b) 図1に示されるようなV_H 領域および/またはV_L 領域のアミノ酸配列 ;

(c) (a)のアミノ酸配列のいずれか1つの部分的変化から生じるアミノ酸配列からなる少なくとも1つのCDR ; ならびに/あるいは

(d) (b)のアミノ酸配列の部分的変化から生じるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および/または軽鎖可変領域を含む。

20

加えて、または、代替において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片は、例示的抗体5D1の結合特徴を示すことによって特徴づけられる。

【0057】

別の実施形態において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片はヒト由来の抗体であり、かつ、IFNA1/13、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA10、IFNA14およびIFNA16のサブタイプからなる群から選択される少なくとも1つのIFN - サブタイプに結合し、ただし、その可変領域において、

30

(a) 図1(V_H) (配列番号10) および図1(V_L) (配列番号12) に示されるV_H 可変領域アミノ酸配列および/またはV_L 可変領域アミノ酸配列の少なくとも1つの相補性決定領域(CDR) :

(b) 図1に示されるようなV_H 領域および/またはV_L 領域のアミノ酸配列 ;

(c) (a)のアミノ酸配列のいずれか1つの部分的変化から生じるアミノ酸配列からなる少なくとも1つのCDR ; ならびに/あるいは

(d) (b)のアミノ酸配列の部分的変化から生じるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および/または軽鎖可変領域を含む。

40

加えて、または、代替において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片は、例示的抗体13B11の結合特徴を示すことによって特徴づけられる。

【0058】

別の実施形態において、本発明の抗体またはIFN - 結合断片はヒト由来の抗体であり、かつ、IFNA1、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA10、IFNA16、IFNA17およびIFNA21からなる群から選択される少なくとも1つのIFN - サブタイプに結合し、ただし、その可変領域において、

(a) 図1(V_H) (配列番号76) および図1(V_L) (配列番号78) に示されるV_H 可変領域アミノ酸配列および/またはV_L 可変領域アミノ酸配列の少なくとも1つの

50

相補性決定領域 (C D R) :

(b) 図 1 に示されるような V_H 領域および / または V_L 領域のアミノ酸配列 ;

(c) (a) のアミノ酸配列のいずれか 1 つの部分的変化から生じるアミノ酸配列からなる少なくとも 1 つの C D R ; ならびに / あるいは

(d) (b) のアミノ酸配列の部分的変化から生じるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および / または軽鎖可変領域を含む。

加えて、または、代替において、本発明の抗体または I F N - 結合断片は、例示的抗体 8 H 1 の結合特徴を示すことによって特徴づけられる。したがって、この実施形態において、抗 I F N - 抗体または I F N - 結合断片は好ましくはまた、I F N W を認識し、かつ、I F N W を中和する ; 上記もまた参照のこと。

10

【 0 0 5 9 】

別の実施形態において、本発明の抗体または I F N - 結合断片はヒト由来の抗体であり、かつ、I F N A 1 / 1 3、I F N A 2、I F N A 4、I F N A 5、I F N A 6、I F N A 8、I F N A 1 0、I F N A 1 4 および I F N A 2 1 からなる群から選択される少なくとも 1 つの I F N - サブタイプに結合し、ただし、その可変領域において、

(a) 図 1 (V_H) (配列番号 8 4) および図 1 (V_L) (配列番号 8 6) に示される V_H 可変領域アミノ酸配列および / または V_L 可変領域アミノ酸配列の少なくとも 1 つの相補性決定領域 (C D R) :

(b) 図 1 に示されるような V_H 領域および / または V_L 領域のアミノ酸配列 ;

20

(c) (a) のアミノ酸配列のいずれか 1 つの部分的変化から生じるアミノ酸配列からなる少なくとも 1 つの C D R ; ならびに / あるいは

(d) (b) のアミノ酸配列の部分的変化から生じるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および / または軽鎖可変領域を含む。

加えて、または、代替において、本発明の抗体または I F N - 結合断片は、例示的抗体 1 2 H 5 の結合特徴を示すことによって特徴づけられる。

【 0 0 6 0 】

別の実施形態において、本発明の抗体または I F N - 結合断片はヒト由来の抗体であり、かつ、I F N A 1 / 1 3、I F N A 2、I F N A 4、I F N A 5、I F N A 6、I F N A 8、I F N A 1 0、I F N A 1 4 および I F N A 2 1 からなる群から選択される少なくとも 1 つの I F N - サブタイプに結合し、ただし、その可変領域において、

30

(a) 図 1 (V_H) (配列番号 9 2) および図 1 (V_L) (配列番号 9 4) に示される V_H 可変領域アミノ酸配列および / または V_L 可変領域アミノ酸配列の少なくとも 1 つの相補性決定領域 (C D R) :

(b) 図 1 に示されるような V_H 領域および / または V_L 領域のアミノ酸配列 ;

(c) (a) のアミノ酸配列のいずれか 1 つの部分的変化から生じるアミノ酸配列からなる少なくとも 1 つの C D R ; ならびに / あるいは

(d) (b) のアミノ酸配列の部分的変化から生じるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および / または軽鎖可変領域を含む。

40

加えて、または、代替において、本発明の抗体または I F N - 結合断片は、例示的抗体 5 0 E 1 1 の結合特徴を示すことによって特徴づけられる。したがって、この実施形態において、抗 I F N - 抗体または I F N - 結合断片は好ましくはまた、少なくともある程度、I F N W を認識し、かつ、I F N W を中和する ; 上記もまた参照のこと。

【 0 0 6 1 】

まとめると、1 つの局面において、本発明は、本明細書中に例示されるヒト由来のモノクローナル抗体および I F N - 結合断片、ならびに、本件抗体の合成誘導体および生物学誘導体に関連し、ただし、これらはその可変領域において、

(a) 下記に示される V_H 可変領域アミノ酸配列および / または V_L 可変領域アミノ酸

50

配列の少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)：

(i) 図1(V_H) (配列番号2、配列番号10、配列番号18、配列番号22、配列番号30、配列番号38、配列番号76、配列番号84および配列番号92)；および

(ii) 図1(V_L) (配列番号4、配列番号12、配列番号20、配列番号24、配列番号32、配列番号40、配列番号78、配列番号86および配列番号94)；

(b) 図1に示されるようなV_H領域および/またはV_L領域のアミノ酸配列；

(c) (a)のアミノ酸配列のいずれか1つの部分的変化から生じるアミノ酸配列からなる少なくとも1つのCDR；ならびに/あるいは

(d) (b)のアミノ酸配列の部分的変化から生じるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および/または軽鎖可変領域

を含み、

好ましくは、該抗体、そのIFN-結合断片または合成誘導体および生物学誘導体は、実施例に記載される本件抗体のいずれかの免疫学的特徴および/または生物学的活性の少なくとも1つ(例えば、種々のIFNAサブタイプおよび/またはIFNWに対する中和活性)を保持する。

【0062】

加えて、1つの局面において、本発明は、少なくとも1つのIFN-サブタイプおよび/またはIFNWに対する結合ならびに/あるいは少なくとも1つのIFN-サブタイプおよび/またはIFNWの中和について、本明細書中上記で定義されるような前記抗体またはその断片と競合するIFN-中和抗体またはそのIFN-結合断片に関連する。そのうえ、1つの実施形態において、本発明の抗体またはそのIFN-結合断片は少なくとも、

(i) 図1(V_H) (配列番号2、配列番号10、配列番号18、配列番号22、配列番号30、配列番号38、配列番号76、配列番号84および配列番号92)；および

(ii) 図1(V_L) (配列番号4、配列番号12、配列番号20、配列番号24、配列番号32、配列番号40、配列番号78、配列番号86および配列番号94)

において示されるV_H可変領域および/またはV_L可変領域のCDR3、

あるいは、6個、5個または4個のアミノ酸、好ましくは3個以下のアミノ酸、最も好ましくはわずかに2個または1個のアミノ酸の置換、欠失および/または付加によってそのアミノ酸配列において異なる対応するCDR3を含有する。

【0063】

治療的適用のために特に好適である抗体を提供するために、すなわち、外来抗体(例えば、ヒトにおけるマウス抗体など)について認められるような本発明の抗体に対する免疫学的応答(HAMM応答)を回避するために、本発明は好ましくは、完全なヒト抗体またはヒト由来の抗体に関連する。なぜならば、例示的なIFN-抗体が、本発明を例示する実施例において記載されるが、これらは、ヒト患者に由来するものであるからである。

【0064】

これに関連して、ヒト化抗体および他の場合にはヒト様抗体に反して、下記の議論もまた参照のこと。本発明のヒト由来抗体は、ヒト身体によって認められているCDRを含むことによって特徴づけられ、したがって、免疫原性である危険性を実質的に有していない。したがって、本発明の抗体は、抗体の可変軽鎖および可変重鎖の一方または両方の少なくとも1つのCDR、好ましくは2つのCDR、最も好ましくは3つすべてのCDRが、本明細書中に例示されるヒト抗体に由来するならば、依然として、ヒト由来であると示される場合がある。

【0065】

本発明のヒト由来抗体はまた、そのような抗体が、実際にヒト被験体によって最初に発現されたものであり、例えば、ヒト免疫グロブリンを発現するファージライブラリによって生じるインビトロ選択された構築物、または、ヒト免疫グロブリンレパートリーの一部を発現するトランスジェニック動物において生じる異種抗体でないことを強調するために、「ヒト自己抗体」と呼ばれる場合がある(なお、それらはこれまで、ヒト様抗体を提供

10

20

30

40

50

するために試みるための最も一般的な方法を表していた)。他方で、本発明のヒト由来抗体は、プロテインAカラムまたは親和性カラムによって精製される場合があるヒト血清抗体そのものから区別するために、合成(的)、組換え(型)および/または生物工学(的)であると示される場合がある。

【0066】

しかしながら、本発明では、本発明の抗体のさらなる研究が動物モデルにおいて、例えば、ヒトIFN- γ を発現するトランスジェニックマウスにおいて使用され、また、想定される。ヒトにおけるHAMM応答と類似した実験動物における免疫原性影響を避けるために、1つの局面において、本発明の抗体は、ヒト化抗体、異種抗体またはヒト-マウスのキメラ抗体、好ましくは齧歯類-ヒトのキメラ抗体または齧歯類化抗体、最も好ましくはマウス-ヒトのキメラ抗体またはマウス化抗体である場合がある。

10

【0067】

本明細書中下記においてより詳しく記載されるように、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、免疫グロブリン分子のどのようなタイプ、クラスまたはサブクラスのものでも可能であり、あるいは、免疫グロブリン分子のどのようなタイプ、クラスまたはサブクラスにも由来することができる。しかしながら、好ましい実施形態において、IgGイソタイプのものである本発明の抗体が提供され、最も好ましくは、IgG1サブクラスのものである本発明の抗体が提供される。

【0068】

そのようなヒト化抗体、キメラ抗体および具体的には完全なヒト抗体、その断片および/または生来的なFab断片を提供するために、本発明の抗体は好ましくはさらに、表1に示されるC_Hアミノ酸配列およびC_Lアミノ酸配列(配列番号6、配列番号8、配列番号14、配列番号16、配列番号26、配列番号28、配列番号34、配列番号36、配列番号42、配列番号44、配列番号72、配列番号74、配列番号80、配列番号82、配列番号88、配列番号90、配列番号96および配列番号98)から選択されるアミノ酸配列、あるいは、言及された参照配列に対する少なくとも60%の同一性、好ましくは70%の同一性、より好ましくは80%の同一性、なお一層より好ましくは90%の同一性、特に好ましくは少なくとも91%の同一性、92%の同一性、93%の同一性、94%の同一性、95%の同一性、96%の同一性、97%の同一性、98%の同一性または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むC_H定常領域および/またはC_L定常領域を含む。

20

30

【0069】

加えて、または、代替において、本発明の抗体のフレームワーク領域は、図1(V_H)(配列番号2、配列番号10、配列番号18、配列番号22、配列番号30、配列番号38、配列番号76、配列番号84および配列番号92)および図1(V_L)(配列番号4、配列番号12、配列番号20、配列番号24、配列番号32、配列番号40、配列番号78、配列番号86および配列番号94)から選択されるアミノ酸配列、あるいは、言及された参照配列に対する少なくとも60%の同一性、好ましくは70%の同一性、より好ましくは80%の同一性、一層より好ましくは90%の同一性、特に好ましくは少なくとも91%の同一性、92%の同一性、93%の同一性、94%の同一性、95%の同一性、96%の同一性、97%の同一性、98%の同一性または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

40

【0070】

上記で述べられるように、本発明の抗体は、APECED/APSS1患者から単離されたものである。これに関連して、本出願人の同時係属中の国際出願公開WO2013/098419に開示される様々な実験では驚くべきことに、APECED/APSS1患者は、オートイムノソーム(auto-immunome)、すなわち、種々のIFNサブタイプについて特異的である広範囲にわたる結合分子を同様に含む自己抗体プロファイルを示すことが明らかにされた。APSS1は、自己免疫調節因子(AIRE)遺伝子における変異によって引き起こされる希な自己免疫疾患である。AIREタンパク質が、発達途

50

中の胸腺細胞を許容するためにMHCによって提示される多くの末梢自己抗原（例えば、インスリン）の胸腺髄質上皮における発現を支配している。APS1において、AIREの変異は、異常な負の選抜を引き起こし、このことは、自己反応性T細胞が末梢に逃れることを可能にする。したがって、患者は、極めて不定である一連の様々な臨床的特徴をAPS1において示し、しかし、通常の場合には、内分泌腺組織のいくつかの自己免疫性障害を伴っている。定義となるようなAPS1の三徴候には、慢性皮膚粘膜カンジダ症、副甲状腺機能低下症および副腎機能不全が含まれる（Perheentupa, Endocrinol. Metab. Clin. North Am. 31 (2002), 295~320）。APECED患者において見られる他の臨床状態には、甲状腺自己免疫疾患、真性糖尿病、性腺機能不全、白斑、脱毛症、慢性肝炎、慢性胃炎および悪性貧血、ならびに、種々の形態の他の胃腸症状が挙げられる。APECED/ASP1患者およびそれらのオートイムノソームのスクリーニングに関するさらなる詳細については、国際出願公開WO2013/098419およびそれに記載される実施例の記載、特に、112頁~117頁における「材料および方法」のセクション、117頁~118頁における実施例1、ならびに、128頁における実施例7および続く表1~表14、そして、168頁~171頁における実施例17を参照のこと（それらの開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる）。

10

【0071】

上記で詳しく記載されるように、また、実施例1において示されるように、1つの好ましい実施形態において、本発明の抗体は、自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症・外胚葉ジストロフィー（APECED/APS1）に冒されたヒト被験体のサンプルから、または、類似する自己免疫疾患に冒された患者から、国際出願公開WO2013/098419およびそれにおける実施例（特に、112頁~117頁における「材料および方法」のセクション、117頁~118頁における実施例1、156頁~161頁における実施例10、具体的には、その156頁におけるセクション「患者およびコントロール」、ならびに、168頁~171頁における実施例17；それらの開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる）に記載されるように得られる。

20

【0072】

これに関連して、本発明の本件抗IFN-抗体が、ヒト抗体を単離する新規かつ独占権のある方法によってクローン化されていることは特筆される。なお、この方法は本出願人の同時係属中の国際出願公開WO2013/098420に開示されており、その開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる。

30

【0073】

簡単に記載すると、目的とする抗体を単離するためのサンプルは、末梢血単核細胞（PBMC）と、可能な抗体反応性を検出するための血清とを含むか、または、末梢血単核細胞（PBMC）と、可能な抗体反応性を検出するための血清とからなる。被験体に由来するサンプルは、例えば、所望される抗体（1つまたは複数）の1つまたは複数に対する血清反応性を試験するためにそのまま使用される場合があり、あるいは、さらに処理される場合があり、例えば、Bリンパ球について富化される場合がある。具体的には、サンプルは、目的とする抗体を産生するB細胞、最も好ましくはメモリーB細胞を含むこと、または、そのようなB細胞に由来することが好ましい。メモリーB細胞が、所望される抗原に対して反応性である細胞をB細胞培養物から選び出すまで典型的には最大でも1週間~2週間、メモリーB細胞の明確な寿命のみを可能にする条件のもとで培養され、続いて、単一分取細胞のRT-PCRが、免疫グロブリン遺伝子レポーターを得るために行われる；詳細な説明については、国際公開WO2013/098419の118頁~120頁における実施例1および実施例2、ならびに、特に、国際公開WO2013/098420の27頁~31頁における実施例1~実施例4を参照のこと（それらの開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる）。当然のことながら、本発明は、本明細書中上記および下記で定義されるような明確かつ独特の特徴を有する抗体を産生する不死化されたヒトBメモリーリンパ球およびヒトB細胞にまでそれぞれ及ぶ。

40

50

【0074】

したがって、選択された患者プールを使用することのほかに、抗IFN-抗体が、ヒトモノクローナル抗体を自己免疫疾患の患者（例えば、APECED/APS1患者など）のB細胞から単離するために特別に開発され、かつ、適合化される特定の方法を用いることによって提供されている。

【0075】

1つの実施形態において、本発明の抗体またはIFN-結合分子は、図1に示されるようなV_H領域および/またはV_L領域のアミノ酸配列、あるいは、表1に示されるような対応する核酸によってコードされるようなV_H領域および/またはV_L領域のアミノ酸配列を含む。加えて、別の実施形態において、本発明は、少なくとも1つのヒトIFN-サブタイプおよび/またはIFN-に対する特異的結合について、本明細書中上記で定義されるような本発明の抗体と競合する抗IFN-抗体またはIFN-結合分子に関連する。

10

【0076】

具体的には、実施例および図において例示される抗体について概説されるような免疫学的結合特徴および/または生物学的特性を示す抗IFN-抗体が提供される。存在する場合、抗原との抗体の用語「免疫学的結合特徴」または他の結合特徴はその文法的形態のすべてで、抗体の特異性、親和性、交差反応性および他の結合特徴を示す。

【0077】

実施例において明らかにされるように、本発明の抗体は、大多数のIFNAサブタイプに対する、ならびに、26B9抗体、31B4抗体および8H1抗体の場合にはIFNWに対する、サブナノモル濃度の範囲におけるそれらの大きい中和活性によって特に特徴づけられる。好ましくは、ヒト由来のモノクローナル抗体およびIFN-結合断片、ならびに、その合成誘導体および生物学誘導体は、少なくとも1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個またはほとんどすべてのIFNAサブタイプについて、また、必要な場合にはIFNWについて本明細書中に例示される本件抗体のISRE（インターフェロン刺激応答エレメント）レポーター遺伝子アッセイで求められるようなIC50値を示し、あるいは、それらのIC50値は、IFNAサブタイプのいずれかについて、また、必要な場合にはIFNWについて実施例および図において例示される本件抗体に関して求められるIC50値との差が最大でも50%であり、好ましくは40%未満であり、より好ましくは30%未満であり、なお一層より好ましくは20%未満であり、特に好ましくは10%未満である。好ましい実施形態において、本発明の抗体または類似のIFN結合分子は、IC50値が、少なくとも5個、好ましくは6個、より好ましくは7個、なお一層より好ましくは8個、または、好都合には9個もしくは10個のヒトIFN-サブタイプおよび/またはヒトIFN-について10ngである。

20

30

【0078】

さらなる実施形態において、本発明の抗体は抗体断片である。例えば、本発明の抗体または抗体断片は、単鎖Fv断片(scFv)、F(ab')断片、F(ab)断片、F(ab')₂断片および単一ドメイン抗体断片(sdAB)からなる群から選ばれる場合がある。

40

【0079】

本発明の抗体のさらなる利点が、体液性免疫応答がその生理学的環境および細胞環境において生来的抗原に対して誘発されているという事実のために、典型的には、当該抗原の立体配座エピトープを、例えば、他の細胞成分を伴う状況でのその提示、細胞表面膜におけるその提示、および/または、受容体に対するその結合に起因して認識する自己抗体が産生され、かつ、この自己抗体を単離することができることである。対照的に、モノクローナル抗体（例えば、マウスのモノクローナル体など）、そのヒト化型、または、ファージディスプレイから得られる抗体を作製する従来の方法では典型的に、標的タンパク質の抗原性断片が、非ヒト哺乳動物を免疫化することおよび検出のためにそれぞれ用いられ、

50

このときには通常、生来型タンパク質の存在をその生理学的状況および細胞状況において認識するのではなく、むしろ、免疫原の二次元構造に限定される線状エピトープまたは立体配座エピトープを認識する抗体が得られる。それによれば、本発明の自己抗体がそのエピトープ特異性の面で独特であると予想することは慎重なことである。したがって、本発明はまた、本発明の方法に従って単離される自己抗体と実質的に同じ結合特異性を示す抗体および同様な結合分子に関連する。そのような抗体は、例えば、競合的ELISAによって、または、より適切には、細胞に基づいた中和アッセイによって、本発明の自己抗体およびそのモノクローナル誘導体を参照抗体としてそれぞれ使用して容易に試験することができ、また、実施例に記載されるか、または、そうでない場合には当業者に知られている免疫学的試験によって容易に試験することができる。

10

【0080】

実施例において、また、図において、例えば、図19において例示されるように、本発明の抗体は、好ましくはヒトドナーから単離され、したがって、ヒトIFN α サブタイプと結合する。したがって、1つの実施形態において、本発明の抗IFN α 抗体およびIFN α 結合断片はヒト抗原のみを認識し、または、他の生物種（例えば、マウスなど）に由来する対応する抗原よりも少なくとも優先的にヒト抗原を認識する。別の実施形態において、本発明の抗IFN α 抗体およびIFN α 結合断片は他の生物種の少なくとも1つのIFN α サブタイプと結合し、ただし、この場合、好ましくは、他の生物種はマウスである。本発明の抗体の結合特徴（例えば、特異性および親和性など）が、本明細書中において、例えば、実施例2、実施例5および実施例6、ならびに、図2、図3、図8～図13および図18～図27において記載されるような、また示されるようないくつかの実験アッセイで試験されている。

20

【0081】

本発明の抗体についてさらに明らかにされているように、本発明の様々な抗体はそれらの標的タンパク質の生物学的活性を中和することができる；例えば、実施例3および図5～図7において記載されるSTAT1リン酸化アッセイおよびインターフェロン特異的応答エレメントレポーター遺伝子アッセイの結果を参照のこと。これに関連して、用語「中和（する）」は、本発明の抗体が、生化学的アッセイまたは細胞型アッセイにおけるその標的タンパク質の生物学的活性を、それぞれのアッセイを本発明の本件抗体の存在下で行うことによって評価され得るように妨害することができることを意味し、この場合、標的タンパク質の生物学的活性が、本発明の抗体の存在を伴わない場合、および、標的タンパク質の生物学的活性を本質的に影響されないままにしておくことが知られている化合物（例えば、コントロール抗体）の存在下におけるタンパク質の生物学的活性と比較して、アッセイに供される本発明の抗体のレベルを増大させることに付随して低下する。そのような生化学的アッセイおよびインビトロ型アッセイはまた、例えば、本発明の抗IFN α 抗体について示されているような標的タンパク質の生物学的活性を中和できることが知られている参照抗体を使用して、また、候補抗体を試験サンプルに供して行うことができ、この場合、参照抗体および候補抗体の組み合わせられた活性から生じる付加的な中和効果が認められる場合があり、または、どちらかの抗体を標識することによって明らかにされることがある候補抗体および参照抗体の競合が認められる。したがって、本発明の好ましい実施形態において、本発明の方法によって得られる抗体はその抗原の生物学的活性を中和することができ、例えば、少なくとも1つのヒトIFN α サブタイプの生物学的活性を中和することができる。

30

40

【0082】

本発明の抗体または抗原結合断片（例えば、ペプチド、ポリペプチドまたは融合タンパク質）が、上記で示されるように、例えば、宿主細胞における発現またはインビトロ無細胞翻訳系における発現によって提供される場合がある。ペプチド、ポリペプチドまたは融合タンパク質を宿主細胞において発現させるために、前記ペプチド、ポリペプチドまたは融合タンパク質をコードする核酸分子が、適切な発現ベクターに、すなわち、挿入されたコード配列の転写および翻訳のための必要なエレメントを含有するベクターに挿入される

50

場合がある。当業者によく知られている様々な方法が、目的とするポリペプチドをコードする配列ならびに適切な転写制御エレメントおよび翻訳制御エレメントを含有する発現ベクターを構築するために使用される場合がある。これらの方法には、インビトロ組換えDNA技術、合成技術およびインビボ遺伝子組換えが含まれる。そのような技術が、Sambrook他、Molecular Cloning, A Laboratory Manual (1989)、および、Ausubel他、Current Protocols in Molecular Biology (1989)に記載される；さらには下記の「ポリヌクレオチド」および「発現」のセクション、ならびに、この点についてのさらなる詳細については実施例のセクションで引用される参考文献を参照のこと。

【0083】

生成物の発現のための好適な宿主細胞は、どのような原核生物細胞または真核生物細胞であってもよい；例えば、細菌細胞（例えば、大腸菌または枯草菌など）、昆虫細胞（バキュロウイルス）、酵母細胞、植物細胞または動物細胞。しかしながら、効率的なプロセッシングのためには、哺乳動物細胞が好ましい。この目的のために有用である典型的な哺乳動物細胞株には、CHO細胞、HEK293細胞、COS細胞およびNSO細胞が含まれる。

【0084】

本発明の単離された抗体は、当然のことながら、そのようなものとして、患者に適用され得るのではなく、通常の場合には、例えば、患者におけるその安定性、受容性および生物学的利用能を保証するために薬学的に配合されなければならない。したがって、1つの実施形態において、単離されたモノクローナル抗体またはその断片を薬学的に許容され得る担体と混合する工程をさらに含む本発明の方法が提供される。薬学的に許容され得る担体がさらに下記において詳しく記載される。

【0085】

本発明の様々な結合分子の安定的かつ永続的な供給源を得るための方策として、特に薬学的用途のためには、これらの結合分子をコードする異種遺伝子が、直接的クローニング、PCR増幅または人為的合成によって単離され、好適な宿主細胞または生物において導入され、発現させられる場合がある。したがって、組換えヒト抗IFN-抗体またはそのIFN-結合断片を産生させるために有用である組換え細胞を調製するための方法であって、下記の工程を含む方法を提供することもまた、本発明の目的である：

(a) B細胞を上記に記載されるような方法によって調製する工程；

(b) 下記のことをコードする核酸を配列決定し、および/または、下記のことをコードする核酸をB細胞から得る工程：

(i) 表1に示されるC_Hアミノ酸配列およびC_Lアミノ酸配列（配列番号6、配列番号8、配列番号14、配列番号16、配列番号26、配列番号28、配列番号34、配列番号36、配列番号42、配列番号44、配列番号72、配列番号74、配列番号80、配列番号82、配列番号88、配列番号92、配列番号96および配列番号98）の少なくとも1つ、または、少なくとも60%の同一性を有するアミノ酸配列；

(ii) 下記に示されるV_H可変領域アミノ酸配列および/またはV_L可変領域アミノ酸配列の少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)：

・ 図1(V_H)（配列番号2、配列番号10、配列番号18、配列番号22、配列番号30、配列番号38、配列番号76、配列番号84および配列番号92）；および

・ 図1(V_L)（配列番号4、配列番号12、配列番号20、配列番号24、配列番号32、配列番号40、配列番号78、配列番号86および配列番号94）；

(iii) 図1に示されるようなV_H領域および/またはV_L領域のアミノ酸配列；

(iv) (a)のアミノ酸配列のいずれか1つの部分的変化から生じるアミノ酸配列からなる少なくとも1つのCDR；

(v) (ii)のアミノ酸配列の部分的変化から生じるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および/または軽鎖可変領域；ならびに/あるいは

(c) 核酸を、発現宿主における目的とする抗体の発現を可能にするために発現宿主に

10

20

30

40

50

挿入する工程。

【0086】

本明細書中に記載されるような宿主細胞は、先の方法において同様に、また、本明細書の「宿主」のセクションで詳しく記載されるように使用される場合がある。この点に関して、1つの実施形態において、発現宿主が酵母細胞、植物細胞または動物細胞である上記方法が提供される。

【0087】

さらに、1つの実施形態において、IFN- α および/またはIFN- β の発現および活性に伴う障害を処置することにおいて使用されるための医薬組成物を調製するための方法が提供され、この方法は、

- (a) 上記で定義されるような宿主細胞を培養すること；
- (b) 本発明の抗体、そのIFN- α 結合断片、それらの生物学誘導体または免疫グロブリン鎖を培養物から医薬品グレードにまで精製すること；および
- (c) 本発明の抗体、そのIFN- α 結合断片またはそれらの生物学誘導体を薬学的に許容され得る担体と混合することを含む。

【0088】

目的とするそれぞれの抗体を産生させるための上記方法に関して、1つの実施形態において、本発明は、制限部位を導入するために、コドン使用頻度を変更するために、ならびに/あるいは、転写調節配列および/または翻訳調節配列を加え、または最適化するために、核酸が上記の工程(b)と工程(c)との間で操作される方法を提供する。

【0089】

添付された実施例2および実施例3において明らかにされるように、また、表4にまとめられるように、特に大きい見かけの結合親和性(EC50/ED50)および/または特に大きいインビトロ中和活性を少なくとも1つのヒトIFN- α サブタイプについての低い阻害濃度(IC50)とともに示す結合分子(すなわち、抗体)が特定されており、また、クローン化されている。この点に関して、1つの実施形態において、本発明の抗IFN- α 抗体およびそのIFN- α 結合断片は、そのそれぞれの標的分子について大きい親和性を有しており、例えば、本明細書中上記で定義されるような様々なヒトIFN- α サブタイプについて大きい親和性を有しており、EC50を100 ng/ml未満の濃度で示し、好ましくは20 ng/ml未満の濃度で示し、より好ましくは10 ng/ml未満の濃度で示す。代替において、または、加えて、1つの実施形態において、抗IFN- α 抗体およびそのIFN- α 結合断片は、少なくとも1つのヒトIFN- α サブタイプについて高い中和能を有しており、IC50を、500 ng/ml未満、400 ng/ml未満、300 ng/ml未満または100 ng/ml未満の濃度で示し、好ましくは20 ng/ml未満の濃度で示し、より好ましくは10 ng/ml未満の濃度で示し、最も好ましくは5 ng/ml未満の濃度で示す。本発明の抗体の結合親和性に関してより詳しくは、例えば、さらに下記のセクション「結合特徴」を参照のこと。

【0090】

本発明はまた、本発明の抗体または抗原結合断片の免疫グロブリン鎖の可変領域を少なくともコードするポリヌクレオチドに関連する。好ましくは、前記可変領域は、図1に示されるような可変領域のV_Hおよび/またはV_Lの少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)を含む。

【0091】

導出された配列の場合、前記配列は、少なくとも60%の同一性、より好ましくは(次の順で)少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、最も好ましくは95%、少なくとも96%~99%、または、さらには、100%の同一性を、上記で言及され、また、配列表において特定されるそのような配列からなる群の配列に対して示す。2つの配列の間におけるパーセント同一性は、ギャップの数を考慮に入れた場合のこれらの配列によって共有される同一位置の数、および、

10

20

30

40

50

それぞれのギャップの長さの関数であり、この場合、ギャップは、2つの配列の最適なアラインメントのために導入される必要がある。配列の比較および2つの配列の間におけるパーセント同一性の決定を、当業者にはよく知られている数学的アルゴリズムを使用して達成することができる。本明細書中で言及される同一性は、本明細書中下記でさらに言及されるようなBLASTプログラムを使用して決定されなければならない。

【0092】

上記で述べられるように、好ましい実施形態において、本発明は、実質的に完全なヒト抗体に関連し、好ましくは、定常重鎖I (C_H1)と定常領域の対応する軽鎖とを少なくとも含むIgG、すなわち、 μ -1、 μ -2、 μ -3または μ -4をラムダまたは kappa との組合せで含むIgGに関連する。特に好ましい実施形態において、実施例において例示される本件抗体について単離されるそのような定常領域のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が、下記の表1において、また、ヌクレオチド配列に関しては配列番号5、配列番号7、配列番号13、配列番号15、配列番号25、配列番号27、配列番号33、配列番号35、配列番号41、配列番号43、配列番号71、配列番号73、配列番号79、配列番号81、配列番号87、配列番号89、配列番号95および配列番号97において、ならびに/あるいは、アミノ酸配列に関しては配列番号6、配列番号8、配列番号14、配列番号16、配列番号26、配列番号28、配列番号34、配列番号36、配列番号42、配列番号44、配列番号72、配列番号74、配列番号80、配列番号82、配列番号88、配列番号90、配列番号96および配列番号98において、または、前記で示されるこれらに対して少なくとも60%の同一性を有するアミノ酸配列において示されるように使用される。

10

20

【0093】

上記によれば、本発明はまた、本発明の抗IFN- γ 抗体またはIFN- γ 結合断片の1つの免疫グロブリン鎖の可変領域を少なくともコードするポリヌクレオチド、具体的には組換えポリヌクレオチドに関連する。典型的には、このようなポリヌクレオチドによってコードされる前記可変領域は、前記抗体の可変領域のV_Hおよび/またはV_Lの少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)を含む。抗体の可変領域および定常領域が下記のセクション「IgG構造」においてより詳しく記載される。本発明の好ましい実施形態において、ポリヌクレオチドは、下記の表1に示されるような本発明の抗体のV_H領域またはV_L領域をコードするポリヌクレオチド配列を有する核酸を含むか、あるいは、そのような核酸から本質的になるか、あるいは、そのような核酸からなる。この点に関して、当業者は、軽鎖および/または重鎖の可変ドメインを少なくともコードするポリヌクレオチドは様々な免疫グロブリン鎖またはそれらの1つのみのどちらかの可変ドメインをコードし得ることを容易に理解するであろう。好ましい実施形態において、ポリヌクレオチドは、本明細書中上記で定義されるような抗IFN- γ 抗体またはIFN- γ a結合断片をコードする。

30

【0094】

表1：本発明のIgG1型かつkappa型のIFN- γ 特異的な5D1抗体、13B11抗体、19D11抗体、25C3抗体、26B9抗体、31B4抗体、8H1抗体、12H5抗体および50E11抗体の可変領域および定常領域(V_H、V_L、C_H、C_L)領域のヌクレオチド配列。下線が引かれた太字のヌクレオチドまたはアミノ酸により、可変鎖配列におけるCDRコード領域が示される。下線が引かれた斜体字のヌクレオチドまたはアミノ酸により、配列決定がなされていないが、データベースから得られている配列が示される。定常鎖において、そのような領域がデータベースにおける該当するヒト生殖系列可変領域配列とアラインメントされ、それらと一致させられる；例えば、MRC Centre for Protein Engineering (Cambridge、英国)によって管理されるVbase (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk>)を参照のこと。

40

【表 1 - 1】

抗体	可変重鎖 (VH) および可変軽鎖 (VL)、定常重鎖 (CH) および定常軽鎖 (CL) のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列。	
5D1-V _H	Gaagtgcaactggtgcaggccggcgagaggtgaaagcgcccggggagtctctg aggatctcctgtaaggtgtctggatacacctttaca <u>agttattggatcagttgg</u> gtgcgccagattccccgggaaaggcctggagtgatgggtg <u>aaaattgatcctaga</u> <u>gactcttataccatctacaaccgctcctccaaggc</u> cacgtctccatctcagtt gacaagtcacaccactgtctacctgcagtgagcagcctgcaggcctcggac accgccatttattattgtgtgaga <u>cattatcttacacagtcattgggtgactac</u> <u>tttgaccac</u> tggggccagggaaagcctggctgcctctctctct	10
		配列番号:1
5D1-V _H	EVQLVQAGAEVKAPGESLRISCKVSGYTFT <u>SYWISWVRQIPGKGLEWMVKIDPR</u> <u>DSYTIYNPSFQGH</u> VSISVDKSIITTVYLQWSSLQASDTAIYYCVR <u>HYLTQSLVDY</u> <u>FDHWGQGT</u> LVAVSS	20
		配列番号:2
5D1-V _L カッパ型	gacattcagatgaccagctctccatcctcctgtctgcacatctgtgggagacagt gtcaccatcacttgc <u>cgggcaagtcagagcgtatccaactacttccat</u> tgggat cgacagaagcccgggaaagcccctgaactcctgatctat <u>tctgcacccaatttg</u> <u>caact</u> gggggtcccatcaagattcactggcagtggggtctgggacagaatgcact ctcaccatcaccagctctgcagcctgatgatttcgcaacttactactgt <u>caacag</u> <u>actcacggttaccggttact</u> tttggccaggggaccaagctggacgtcaga	20
		配列番号:3
5D1-V _L カッパ型	DIQMTQSPSSLSASVGDSTITC <u>RASQSVSNYFHWYRQKPGKAPELLIY</u> <u>SASNL</u> <u>QT</u> GVPSRFTGSGSGTECTLTITSLQPDDFATYYC <u>QOTHGYPFT</u> FGQGTKLDVR	20
		配列番号:4
5D1-C _H	gcctccaccaagggcccacatcgggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacc tctggggggcacagcggccctgggctgctgggtcaaggactacttccccgaaccg gtgacgggtgtcgtggaaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccg gctgtcctacagtctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgcc tccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagc aacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaactctgtgacaaaactcacaca tgcccaccgtgccagcactgaaactcctggggggaccgtcagctcttctcttc cccccaaaaccaaggacacccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgc gtgggtggtagcgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtg gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtaaac agcacgtaccgtgtgggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaat ggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgag aaaaccatctccaagccaaagggcagccccgagaaccaaggtgtacaccctg cccccatcccgggatgagctgaccaagaaccagggtcagcctgacctgctgggtc aaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccg gagaacaactacaagaccgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttc ctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaaagctcttc tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctc tccctgtctccgggtaaatga	30
		40
		配列番号:5

【表 1 - 2】

5D1-C _H	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHFTP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK 配列番号:6	10
5D1-C _L カップ型	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttg aaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagag gcaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggag agtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctg acgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgctgcaagtcacc <u>catcagggcctgagctcgcccgtcacaagagcttcaacaggggagagtgttag</u> 配列番号:7	20
5D1-C _L カップ型	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV <u>THQGLSSPVTKSFNRGEC</u> 配列番号:8	30
13B11-V _H	Gacgtacagctgttgcagctctgggggaggettgatacagccgggggggtccctg agactctcctgtgcagcctctggctttacttttaag <u>gactatgccatgagt</u> tgg gtccgccaggtccaggggaagggcctggagtgggtctca <u>gtaataagtcgtagt</u> <u>ggtaatatgtagactatgtcgactccgtgaagggc</u> eggttcaccgtctccaga gacaattccaacaacacactctttctgcaaatggacggcctgagagccgacgac acggccatttattactgtgcgaaa <u>ccaaggaatgattgtcgtggctccctgcg</u> <u>ggctttgactcc</u> tggggccagggaaacccttgtctccgtctcctca 配列番号:9	30
13B11-V _H	DVQLLQSGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFK <u>DYAMSWVRQAPGKGLEWVSVISRS</u> <u>GNIVDYVDSVKG</u> RFTVSRDNSNNTLFLQMDGLRADDTAIYYCAK <u>PKDMI VVVPA</u> <u>GFDSWGQGLVSVSS</u> 配列番号:10	40
13B11-V _L カップ型	gacatccagatgaccagtttccatccaccctgtctgcatctgttggagacagc gtcaccatcacttgc <u>egggccagtcagagcat tagtgctggttggcct</u> gggat cagcagaaaccagggaaagccctaaactcctgatctat <u>aaggggtctagatta</u> <u>gaaaac</u> gggggtcccatcgaggttcagcggcagtgatctgggacagaattcact ctcaccatcggcagcctgcagcctgatgattttgcaacttattactgc <u>caacaa</u> <u>tataagacttggacg</u> ttcggccaagggaccaaggtggaaatcaaa 配列番号:11	40

【表 1 - 3】

13B11-V _L カップ型	DIQMTQFPSTLSASVGDSTITC <u>CRASQSI SAWLAWYQQKPGKAPKLLIYKGSRL</u> <u>ENGVPSRFSGSGSGTEFTLTIGSLQPD</u> DFATYYC <u>QQYKTWT</u> FGQGTKVEIK 配列番号:12
13B11-C _H	gcctccaccaagggcccacatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacc tctgggggacacagcgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccg gtgacggtgtcgtggaactcagggccctgaccagcggcgtgcacaccttcccg gctgtcctacagtctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgcc tccagcagcttgggcaaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagc aacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaatctgtgacaaaactcacaca tgcccaccgtgccagcaccctgaactcctggggggaccgtcagctcttctcttc ccccaaaaccaaggacaccctcatgatctccggaccctgaggtcacatgc gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtaagttcaactggtacgtg gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaac agcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaat ggcaaggagtacaagtgcaggctccaacaaagccctcccagccccatcgag aaaaccatctccaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctg ccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtc aaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccg gagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttc ctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctc tcctgtctccgggtaaatga 配列番号:13
13B11-C _H	ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHT CPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK 配列番号:14
13B11-C _L カップ型	cgaactgtggctgaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttg aaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagag gccaaagtacagtggaaaggtggataacgcctccaatcgggtaactcccaggag agtgtcacagagcaggacagcaaggacagcaccctacagcctcagcagcaccctg acgctgagcaaagcagactacgagaacacaaagtctacgcctgcgaagtacc catcagggcctgagctcgccctcacaagagcttcaacaggggagagtgtag 配列番号:15
13B11-C _L カップ型	RTVAAPSVMFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 配列番号 16
19D11-V _H	<u>gaggtgcagctgttggagt</u> ctggggctgaggtgaagaggcctgggtcgtcgggtg agggctctcctgcagggcttctggagacacctcagc <u>agttaccctatcagt</u> tgg gtgcgacaggccccctggacaaggccttgagtggatggga <u>aggatcctcctgcc</u> <u>cttgggtgcacaaactacgctcagaacttccggggc</u> agaatcacgattaccgcg gacaagtcgccccctcacagcctacttggaaactgagtagcctcagatttgaggac acggccgtgtattactgtgcgagt <u>cccagtgcggaataattccttcgattttg</u> <u>gggacgaccctctttgccttc</u> tggggccaggggaagc <u>ctggtcaccgtctcctca</u> 配列番号:17

10

20

30

40

【表 1 - 4】

19D11-V _H	<u>EVQLLESGAEVKRPGSSVRVSCRASGDTFS</u> <u>SYPI</u> <u>SWVRQAPGQGLEWMGRILPA</u> <u>LGV</u> <u>TNYAQNFRGRITITADKSP</u> LTAYLELSSLRFEDTAVYYCAS <u>PSADI</u> <u>IPSIL</u> <u>GTTLFAF</u> <u>WGQSLVTVSS</u> 配列番号:18
19D11-V _L カップ型	<u>gaaattgtgttgacgcagctctccaggcaccctgtctctgtctccgggggaagg</u> <u>gccaccctctcctgc</u> <u>agggccagtcagaa</u> <u>tgtagcagacactacttaacc</u> <u>tgg</u> <u>taccagcagaaacctggccagctctccccggctcctcatctat</u> <u>ggaggctccagc</u> <u>agggccact</u> <u>ggcgtcccagacaggttcagtgccgggtgggtctgggacagacttc</u> <u>actctcaccatcagcaggctggagcctgaagactttgcagtggtttactgc</u> <u>cag</u> <u>agctatcatagcccactcctgtgtacact</u> <u>ttcggccaggggaccaaggaggag</u> <u>atcaaa</u> 配列番号:19
19D11-V _L カップ型	<u>EIVLTQSPGTL</u> SLSPGEGATLS <u>CRASQ</u> <u>NVSRHYLTWYQQKPGQSPRLLIY</u> <u>GGSS</u> <u>RAT</u> <u>GVPDRFSGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVFYC</u> <u>QSYHSPFVYT</u> <u>FQG</u> <u>TKVE</u> <u>IK</u> 配列番号:20
19D11-C _H	<u>gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacc</u> <u>tctggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccg</u> <u>gtgacggtgtcgtggaactcagggccctgaccagcggcgtgcacaccttcccg</u> <u>gctgtcctacagtcctcaggactctactcctcagcagcgtggtgaccgtgcc</u> <u>tccagcagcttgggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagc</u> <u>aacaccaaggtggacaagagagttgagccaaatcttgtgacaaaactcacaca</u> <u>tgcccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagcttctctctc</u> <u>ccccaaaaccgaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgc</u> <u>gtggtggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtg</u> <u>gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcggggaggagcagtaaac</u> <u>agcagtagcgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaat</u> <u>ggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgag</u> <u>aaaaccatctccaagcgaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctg</u> <u>ccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggctc</u> <u>aaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccg</u> <u>gagaacaactacaagaccagcctcccgtgctggactccgacggctccttcttc</u> <u>ctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaaagctcttc</u> <u>tcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaananctc</u> <u>tcctgtccccgggtaaatga</u> 配列番号:71
19D11-C _H	<u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</u> TSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDTH CPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQXXL SLSPGK 配列番号:72
19D11-C _L カップ型	<u>cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgcacatctgatgagcagttg</u> <u>aaatctggaactgcctctgttggtgctgctgaataacttctatcccagagag</u> <u>gccaaagtacagtggaaggtggataacgcctccaatcgggtaactcccaggag</u> <u>agtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctg</u> <u>acgtgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtacc</u> <u>catcagggcctgagctcgccgctcaaaagagcttcaacaggggagagtggttag</u> 配列番号:73
19D11-C _L カップ型	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 配列番号:74

10

20

30

40

【表 1 - 5】

25C3-V _H	<p>gagatgcagctgatggagtctgggggaggtttggtacaaccgggggggtccctg agactctcctgtgtagcctctggtttcacctttaa<u>agttttgoga tgagt</u>tgg gtccgccaggctccaggaaggggctggagtgggtcgct<u>agtgtcggctctcag</u> <u>ggtggcagcaaatactatgcaccctccgtgaagggc</u>cggttctccatctccaga gacaattccaacaacactctctatgtgcaaatgaacagcctgggagtcgaggac acggccttttattattgtgttaa<u>gagaccgatgcagtggcgacgatggacgct</u> <u>cttgacatg</u>tggggccaagggaacctgggtcatcgtctctacc</p> <p style="text-align: right;">配列番号:21</p>	10
25C3-V _H	<p>EMQLMESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFK<u>SFAMS</u>WVRQAPGKGLEWVA<u>SVGSQ</u> <u>GGSKYYAPSVKGR</u>FSISRDNSENNTLYVQMNSLGVEDTAFYYCVK<u>ETDAVATMDA</u> <u>LDM</u>WGQGTTLVIVST</p> <p style="text-align: right;">配列番号:22</p>	
25C3-V _L カップ型	<p>gacatccgggtgaccagctccatcctccctgtctgcatctgtcggagacagg gtctccatctcttgc<u>cagacaagtcagagtgttaacata tctaaat</u>tgggat caacagagaccagggaaaggccctcagctcctgatctct<u>gctgcttccactttg</u> <u>cagagt</u>gggggtccatcaagggtcagtggtgagtgatctgggacagacttcatc ctcaccatcatcagctctacaacctgaagattctgcatcctactactgt<u>caacag</u> <u>ggttacattaccccgctacact</u>tttggccaggggaccaaggtggagatcaaa</p> <p style="text-align: right;">配列番号:23</p>	20
25C3-V _L カップ型	<p>DIRVTQSPSSLSASVGDVRSISC<u>QTSQSVNIYLN</u>WYQORPGKGPQLLIS<u>AASTL</u> <u>QSGVPSRFS</u>SGSGSGTDFILTIISLQPEDSASYYC<u>QOGYITPYT</u>FGQGTKVEIK</p> <p style="text-align: right;">配列番号:24</p>	
25C3-C _H	<p>gcctccaccaagggcccacatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacc tctggggggcacagcggccctgggctgctgggtcaaggactacttccccgaaccg gtgacgggtgtcgtggaaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccg gctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgcc tccagcagcttgggcaaccagacctacatctgcaacgtgaatcaaaagcccagc aacaccaaggtggacaagagagttgagcccaaactctgtgacaaaactcacaca tgcccaccgtgccagcactgaaactcctgggggggaccgtcagctcttctcttc ccccaaaacccaaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgc gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtg gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtaaac agcagctaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgat ggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgag aaaaccatctccaagccaaagggcagccccgagaaccaaggtgtacacctg ccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtc aaaggcttctatcccagcgacatgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg gagaacaactacaagaccgcctccgtgctggactccgacggctccttcttc ctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaaacgtcttc tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccctacacgcagaagagcctc tccctgtccccgggtaaatga</p> <p style="text-align: right;">配列番号:25</p>	30 40

【表 1 - 6】

25C3-C _{II}	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHFTP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHT CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK 配列番号:26	
25C3-C _L カップ型	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttg aaatctggaactgcctctgttgtgtgctgctgaataacctctatcccagagag gccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggag agtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagaccctg acgctgagcaaagcagactacgagaaacaaaagtctacgctgcaagtccacc <u>catcagggcctgagctcgcccgctcacaagagcttcaacaggggagagtgttag</u> 配列番号:27	10
25C3-C _L カップ型	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNLYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEV <u>THQGLSSPVTKSFNRGEC</u> 配列番号:28	
26B9-V _{II}	cagatactactgcaggagtcgggccaggactggtgaagcccacggagaccctg tcctcacctgtagtgtctctggtgactccatcagt <u>gatagtagtcactactgg</u> <u>gcc</u> tggattcgccagccccaggggaagggaccagagtggttggc <u>agtgtctat</u> <u>tttagttcgatgaccactacaaccgctccctcaaaagt</u> cgcgctcagcatctcc gttgacaagcccaagaaccagttctctcttaaagtgacctctgtgactgtgcgc gacacggccacatattactgtgcgaga <u>caagcccttgcccagtcggagccatg</u> <u>aattggttcgacccc</u> tggggccagggatctctggtcacagtcctctca 配列番号:29	20
26B9-V _H	QILLQESGPGLVKPTETLSLTCVSGDSIS <u>DSSHYWAWIRQPPGKGPEWIGSVY</u> <u>FSSMTHYNPSLKS</u> RVVISVDKPKNQFSLKVTSVTVADTATYYCAR <u>QALARVGAM</u> <u>NWFDP</u> WGQGLVTVSS 配列番号:30	30
26B9-V _L カップ型	gacatcataatgaccagtcctccagactccctgctgtgtctctggcgagggg gtcaccatcaactgc <u>aagtcagccagagcgtctttttcacctccagtaataag</u> <u>agttggttagct</u> tggatcagcagaagccaggaaagtctccaaattgctcatt tact <u>tgggcatcaaccgccaatcc</u> ggggctccctgaccgattcagaggcagcggg tctgggacagatttctctctcaccatcaccagtcctgcaggctgaagatgtggct gtttatttctgt <u>cagcagtgtcagacatccccctccact</u> ttcggcgaggggacc aggttggagatcaaa 配列番号:31	40

【表 1 - 7】

26B9-V _L カップ型	DIIMTQSPDSLPLVSLGEGVTINCKSSQSVFFTSNNKSLAWYQQKPGKSPKLLI Y WASTROS GVPDRFRGSGSGTDFSLTITSLQAEDVAVYFC QQCQTSPT FGGGT RLEIK 配列番号:32	10
26B9-C _H	gcctccaccaagggcccatcggctcttccccctggcaccctcctccaagagcacc tctgggggacacagcggccctgggctgectggtcaaggactacttccccgaaccg gtgacggtgtcgtggaactcagggccctgaccagcggcgtgcacaccttcccg gctgtcctacagtctcaggactctactcctcagcagcgtggtgaccgtgcc tccagcagcttgggcaaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagc aacaccaaggtggacaagagagttgagcccaatcttgtgacaaaactcacaca tgccccaccgtgccagcactgaactcctggggggaccgtcagcttctctctc ccccaaaaccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgc gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtg gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtaaac agcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaat ggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaagccctcccagccccatcgag aaaaccatctccaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctg ccccatccccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtc aaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg gagaacaactacaagaccgcctcccgctgctggactccgacggctccttctc ctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaaagctctc tcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctc tccctgtccccgggtaaatga 配列番号:33	20
26B9-C _H	ASTKGPSVFFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHT CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK 配列番号:34	30
26B9-C _L カップ型	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttccccccatctgatgagcagttg aaatctggaactgcctctgttgtgtgectgctgaataacttctatcccagagag gcaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggag agtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctg acgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcaagtcacc catcagggcctgagctcgccgtcacaagagcttcaacaggggagagtgtag 配列番号:35	40
26B9-C _L カップ型	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 配列番号:36	40
31B4-V _H	cagatacagctgcaggagtcgggccaggactggtgaggcccacggagaccctg tcctcacttgtagtgtctctggtgactccatcagt cagagtagtcattactgg gcc tgattcgccagccccagggaaaggaccagaatggattggc agtgtctat tttagctcgatgaccactacaaccgctccctcacaagt cgcgctcagcatctcc attgacaaggccatgaataagtctctccttaaaagtgaacctctgtgactgtcgcc gacacggccacatattactgtgcgaga caggcccttgcccagctcggagccatg aattgggttcgacccc tggggccagggatctctggtcacagtctcctca 配列番号:37	40

【表 1 - 8】

3 1 B 4 - V _H	<p>QIQIQESGPGLVRPTETLSLTCVSGDSIS<u>QSSHYWA</u>WIRQPPGKGPWIG<u>SVY</u> <u>FSSMTHYNPSLTS</u>RVSISIDKAMNKFSLKVTSVTVADTATYYCAR<u>QALARVGAM</u> <u>NWFDP</u>WGQGLVTVSS 配列番号: 38</p>
3 1 B 4 - V _L カッパ型	<p>gacatcataatgaccagtcctccagagtcctgctgtgtctctggggcagggg gtcaccatcaactgc<u>aagtcagccagagcgtctttttcacctccagtaatagg</u> <u>agttggttagct</u>tggatcagcagaagccaggacagtcctccaaattgctcatt tac<u>tgggcatcaaccgccaatcc</u>ggggctcctgaccgattcacaggcagcggg tctgggacagatttctctctcaccatcgccggtctgcaggttgaagatgtggct gtttatttctgt<u>cagcagtgtcacgcataccccctccact</u>ttcggcggcgggacc aggttgagctcaga 配列番号: 39</p>
3 1 B 4 - V _L カッパ型	<p>DIIMTQSPESLPVSLGEGVTIN<u>CKSSQSVFF</u>TSSNR<u>SCLAWY</u>QQKPGQSPKLLI <u>YWASTROS</u>GVPDRFTGSGSGTDFSLTIAGLQVEDVAVYFC<u>QOCHASPT</u>FGGGT RLELR 配列番号: 40</p>
3 1 B 4 - C _H	<p>gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacc tctgggggacagcggccctgggctgctggtcaaggactacttccccgaaccg gtgacgggtgctggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccg gctgtcctacagtcctcaggactctactcctcagcagcgtgggtgaccgtgcc tccagcagcttgggcaaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagc aacaccaaggtggacaagagagttgagccaaatcttgtgacaaaactcacaca tggccaccgtgccagcactgaactcctggggggaccgtcagtccttctcttc cccccaaaaccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgc gtggtggtggagctgagccaagaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtg gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgaggaggagcagtaaac agcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcacgtcctgcaccaggactggctgaat ggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaagccctcccagccccatcgag aaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctg cccccatcccggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggct aaaggettctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccg gagaacaactacaagaccgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttc ctctatagcaagctcacgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc tcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacagcagaagagcctc tccctgtccccgggtaaatga 配列番号: 41</p>
3 1 B 4 - C _H	<p>ASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNYHTQKSL SLSPGK 配列番号: 42</p>
3 1 B 4 - C _L カッパ型	<p>cgaactgtggtgcaccatctgtcttcatcttcccgcctctgatgagcagttg aaatctggaactgcctctgttgtgtgctgctgaataacttctatcccagagag gccaaagtacagtggaaggtggataacgcctccaatcgggtaactcccaggag agtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctg acgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgctgccaagtc<u>acc</u> <u>catcagggcctgagctcgccgtcacaagagcttcaacaggggagagtggttag</u> SEQ ID NO: 43</p>
3 1 B 4 - C _L カッパ型	<p>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV<u>THQGLSSPVT</u>KSFNRGEC 配列番号: 44</p>

10

20

30

40

【表 1 - 10】

8H1 C _H	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK 配列番号: 80	10
8H1 C _L カップ型	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttg aaatctggaactgcctctgttgtgtgctgctgaataacttctatcccagagag gccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggag agtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctg acgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgctgcaagtcacc catcagggcctgagctcgcccgtcacaagagcttcaacaggggagagtgtag 配列番号: 81	20
8H1 C _L カップ型	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 配列番号: 82	30
12H5 V _H	caagtgcaactgatacagctctgggcctgaggtgaagaggcctggggcctcagtg aaggtctcctgcaaggcgtctgaaaacaccttcgac <u>actcattatattaat</u> tgg gtgcgacaggccccctggacaagggttacttggctggga <u>tggtgaaccctacc</u> <u>actggtaaaacaggctttccacaaaagtttaagggc</u> agagtcattctgaccagc gacacctccctaaatactgcctatatggaagtgagccgctgacatctgaggac acggccgtttatttctgtgccaga <u>gttttgaagttgtctgatgagtacaactat</u> <u>ggtttcgacgctc</u> tggggccaagggaccaggtcatcgtctcctca 配列番号: 83	30
12H5 V _H	QVQLIQSGPEVKRPGASVKVSKASENTFD <u>THYIN</u> WVRQAPGQGLTWLG <u>WLNPT</u> <u>TGKTGFPQKFKGR</u> VILTSDTSLNTAYMEVSRLTSEDTAVYFCAR <u>VLKLSDEYNY</u> <u>GFDV</u> WGQGTTVIVSS 配列番号: 84	30
12H5 V _L カップ型	gacatccaggtgaccagctctccatcctcctgtctgcatctattggggacaga gtcaccatcacgtgc <u>cgggcaagtcagaacattctcacctttataaat</u> tggat cagcaciaaccagggaagccccctaaactcctgatctat <u>gctgcatccgtttta</u> <u>caaaat</u> gaagtcccatcaaggttcagtggcagtgatctgggacagatttact ctcaccatcaccagctctgcaacctgacgattttggaacttactactgt <u>cagcag</u> <u>acttacctaccctcaatgcagt</u> tttggccaggggaccaaggtggagatcaa 配列番号: 85	30

【表 1 - 1 1】

1 2 H 5 V _L カップ型	DIQVTQSPSSLSASIGDRVITITCRASQNILTFINWYQHKPGKAPKLLIYAASVL <u>QNEVPSRFSGSGSGTDFTLTITSLQPDDFGTYYCQOTYLTPQCS</u> FGQGTKVEIK 配列番号: 86	10
1 2 H 5 C _H	gcctccaccaagggcccacatcggctctccccctggcaccctcctccaagagcacc tctgggggacacagcggccctgggctgcctggcactacttccccgaaccg gtgacgggtgctggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacctcccg gctgtcctacagtcctcaggactctactcctcagcagcgtggcgaccgtgcc tccagcagctgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagc aacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaactctgtgacaaaactcacaca tgcccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagctctcctcttc ccccaaaacccaaggacacctcatgatctcccgaccctgaggtcacatgc gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggccaagtcaactggtacgtg gacggcgtggagggtgcataatgccaaagacaaagccgcgaggaggagcagtaaac agcacgtaccgtgtggctcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaat ggcaaggagtacaagtgaaggtctccaaacaaagccctcccagccccatcgag aaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccaaggtgtacacctg ccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggctcagcctgacctgcctggtc aaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg gagaacaactacaagaccagcctcccgtgctggactccgacggctccttcttc ctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccaactacagcagaagagctc tcctgtctccgggtaaata 配列番号: 87	20
1 2 H 5 C _H	ASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKEPKSCDKTHT CPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK 配列番号: 88	30
1 2 H 5 C _L カップ型	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgcacatctgatgagcagttg aatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagag gcaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggag agtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctg acgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgctgcgaagtacc catcagggcctgagctcggccgtcacaagagcttcaacaggggagagtgtag 配列番号: 89	40
1 2 H 5 C _L カップ型	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSENRGEC 配列番号: 90	40
5 0 E 1 1 V _H	caggtgcagctggtgcagctctggggcagagatgaagaagcctgggtcctcggtg aaggtctcctgcaaggattttggaggcaccctcagcgtctatgggtgcaactgg gtgcgacagggcccctggacaagggcttgagtggatggggggggtcctccctgtc <u>attggggccagctaactacgcacagaagttccagggc</u> gagaatcaccattactgcg gacgaatccagcagcacagcctatatggagttgagcagcctgagatttgacgac acggccatttattattgtgtgagagacgacacgaatatggggccaggggaacc ctggtcaccgtctcctcg 配列番号: 91	40

【表 1 - 1 2】

5 0 E 1 1 V _H	QVQLVQSGAEMKKPGSSVKVSKDFGGTFS <u>VYGVN</u> WVRQAPGQGLEWMG <u>G</u> LIPV <u>I</u> GPANYA <u>Q</u> K <u>F</u> QGRITITADESTSTAYMELSSLRFD DT AIYYCVR <u>DD</u> NEYWGQGT LTVVSS 配列番号: 92
5 0 E 1 1 V _L カッパ型	gaaatggtgctgacacagtcctccagccaccctgtctttgtctccaggagaaaga gccaccctctcctgt <u>agggccagtcagactggttagcaccttcttagcct</u> ggttac caacagaaaactggccaggttcccaggctcctcgtctac <u>gatatctcctccagg</u> <u>gccaat</u> ggcactccagccaggttcagtggcggtgggtctgggacagacttact ctcaccatcagcagcctagaacttgaagattttgcggtttattactgt <u>cagtgg</u> <u>cgtagcaactggcctccctcgctcact</u> ttcggcgaggaccagggtggagatc aaa 配列番号: 93
5 0 E 1 1 V _L カッパ型	EMVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQTVSTFLAWY</u> QQKPGQVPRLLVY <u>DISSR</u> <u>ANG</u> TPARFSGGSGTDFTLTISLELEDFAVYYC <u>QWRSNWPPSLT</u> FGGGTRVEI K 配列番号: 94
5 0 E 1 1 C _H	gcctccaccaagggcccacatcggctcttccccctggcaccctcctccaagagcacc tctgggggacacagcggccctgggctgctgggtcaaggactacttccccgaaccg gtgacggtgctcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcaaccttcccg gctgtcctacagtcctcaggactctactcctcagcagcgtggtgaccgtgcc tccagcagcttgggcaaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagc aacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgtagcaaaaactcacaca tgcccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagcttctctcttc ccccaaaaccgaaggacacctcatgatctcccggaccctgaggtcacaatgc gtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagtccaactggtacgtg gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgaggaggagcagtaaac agcagtagcgtggtgagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaat ggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgag aaaaccatctccaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctg ccccatcccgggatgagctgaccaagaaccagggtcagcctgacctgcctggtc aaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagagcaatgggcagccg gagaacaactacaagaccagcctcccgtgctggactccgacggctccttcttc ctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc tcatgctccgtgatgcatgagggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctc tcctgtctccgggtaaatga 配列番号: 95
5 0 E 1 1 C _H	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSLSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTH CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEGLHNHYTQKSL SLSPGK 配列番号: 96
5 0 E 1 1 C _L カッパ型	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgcacatctgatgagcagttg aaatctggaactgcctctgttgtgtgctgctgaataacttctatcccagagag gcccaggtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggag agtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctg acgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgccaagtacc catcagggcctgagctcgccctcacaagagcttcaacaggggagagtgtag 配列番号: 97
5 0 E 1 1 C _L カッパ型	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 配列番号: 98

10

20

30

40

当業者は、上記可変ドメインを有する抗体の可変ドメインが、所望される特異性および生物学的機能の他のポリペプチドまたは抗体を構築するために使用され得ることを容易に理解するであろう。したがって、本発明はまた、上記で記載された可変ドメインの少なくとも1つのCDRを含み、かつ、好都合には、添付された実施例において記載される抗体と実質的に同じ結合特性または類似する結合特性を有するポリペプチドおよび抗体を包含する。当業者は、本明細書中に記載される可変ドメインまたはCDRを使用して、様々な抗体が、この技術分野において知られている方法に従って、例えば、欧州特許出願EP0451216A1および同EP0549581A1に記載されるように構築され得ることを容易に理解するであろう。さらに、当業者は、結合親和性が、アミノ酸置換をCDR内において、または、Kababatによって定義されるようなCDRと部分的に重なる超可変ループ(ChothiaおよびLesk、J. Mol. Biol. 196(1987)、901~917)の内部において行うことによって強化されることがあることを知っている。したがって、本発明はまた、述べられたCDRの1つまたは複数、または複数のアミノ酸置換を含み、好ましくは2つ以下のアミノ酸置換を含む抗体に関連する。好ましくは、本発明の抗体は、その免疫グロブリン鎖の一方または両方において、V_H領域については配列番号2、配列番号10、配列番号18、配列番号22、配列番号30、配列番号38、配列番号76、配列番号84および配列番号92に示されるような可変領域、ならびに、V_L領域については配列番号4、配列番号12、配列番号20、配列番号24、配列番号32、配列番号40、配列番号78、配列番号86および配列番号94に示されるような可変領域、あるいは、図1に示されるような可変領域の2つのCDRまたは3つすべてのCDRを含む。

【0096】

上記抗体をコードする本発明のポリヌクレオチドは、例えば、DNA、cDNA、RNAまたは合成的に生産されたDNAもしくはRNA、またはそれらのポリヌクレオチドのいずれかを単独でまたは組み合わせて含む組換え的に生産されたキメラ核酸分子であり得る。一実施形態ではポリヌクレオチドは可変領域と定常ドメインの少なくとも一部をコードするcDNAである。好ましい実施形態では、場合により、前記抗体の他方の免疫グロブリン鎖の可変領域をコードする前記ポリヌクレオチドと組み合わせて、上記ポリヌクレオチドを含むベクターが提供される。このようなベクターは、適切な宿主細胞中、適切な条件下で前記ベクターの選択を可能にするマーカ遺伝子などのさらなる遺伝子を含み得る。

【0097】

好ましくは、本発明のポリヌクレオチドは、原核細胞または真核細胞における発現を可能にする発現制御配列に機能的に連結される。前記ポリヌクレオチドの発現は、翻訳可能なmRNAへのポリヌクレオチドの転写を含む。真核細胞、好ましくは、哺乳動物細胞における発現を確実にする調節要素は、当業者に周知である。それらは、通常、転写開始を確実にする調節配列と、場合により、転写終止および転写産物の安定化を確実にするポリAシグナルとを含む。さらなる調節要素は、転写および翻訳エンハンサ、ならびに/または本来的に結合しているプロモータ領域もしくは異種プロモータ領域を含み得る。

【0098】

これに関して、当業者であれば、軽鎖および/または重鎖の少なくとも可変ドメインをコードするポリヌクレオチドは、両方の免疫グロブリン鎖または一方の鎖のみの可変ドメインをコードし得ることを容易に認識するであろう。

【0099】

同様に、前記ポリヌクレオチドは同じプロモータの制御下にあってもよいし、または別個に発現制御されてもよい。原核生物宿主細胞における発現を可能にする有望な調節要素は、例えば、大腸菌の場合にはP_L、lac、trpまたはtacプロモータを含み、真核生物宿主細胞における発現を可能にする調節要素の例は、酵母の場合にはAOX1またはGAL1プロモータ、または哺乳動物および他の動物細胞の場合にはCMV-、SV40-、RSV-プロモータ、CMV-エンハンサ、SV40-エンハンサまたはグロビン

イントロンである。

【0100】

転写開始に關与する要素に加えて、このような調節要素は、ポリヌクレオチドの下流に、SV40 - ポリA部位またはtk - ポリA部位などの転写終止シグナルも含み得る。さらに、使用される発現系に応じて、ポリペプチドを細胞区画に方向付けるかまたはそれを培地に分泌させることができるリーダ配列を本発明のポリヌクレオチドのコード配列に付加することができる、当技術分野において周知である。リーダ配列は、翻訳、開始および終止配列と適切な段階で会合し、好ましくは、リーダ配列は、翻訳されたタンパク質またはその一部を周辺腔または細胞外培地に分泌させることができる。場合により、異種配列は、所望の特徴、例えば、発現された組換え産物の安定化または簡単な精製を付与するC末端またはN末端同定ペプチドを含む融合タンパク質をコードし得る。本文脈では、Okayama - Berg cDNA発現ベクターpcDV1 (Pharmacia)、pCDM8、pRc/CMV、pcDNA1、pcDNA3 (Invitrogen)またはpSPORT1 (GIBCO BRL)などの適切な発現ベクターが当技術分野において公知である。

10

【0101】

好ましくは、発現制御配列は、真核生物宿主細胞を形質転換またはトランスフェクトすることができるベクター中の真核生物プロモータ系であるが、原核生物宿主用の制御配列も使用し得る。ベクターが適切な宿主に組み込まれたら、ヌクレオチド配列の高レベルの発現に適切な条件下で宿主を維持し、所望により、免疫グロブリン軽鎖、重鎖、軽鎖/重鎖二量体またはインタクトな抗体、結合断片または他の免疫グロブリン形態を回収および精製する; Beychok, Cells of Immunoglobulin Synthesis, Academic Press, N.Y., (1979)を参照のこと。

20

【0102】

さらに、本発明は、場合により、本発明の抗体の他方の免疫グロブリン鎖の可変ドメインをコードする本発明のポリヌクレオチドと組み合わせて、抗原または好ましくは本発明の抗体の免疫グロブリン鎖の可変ドメインをコードするポリヌクレオチドを含む遺伝子工学で通常使用されるベクター、特にプラスミド、コスミド、ウイルスおよびバクテリオファージに関する。好ましくは、前記ベクターは、発現ベクターおよび/または遺伝子導入もしくは標的化ベクターである。

30

【0103】

レトルウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ関連ウイルス、ヘルペスウイルスまたはウシ乳頭腫ウイルスなどのウイルス由来の発現ベクターを、標的細胞集団への本発明のポリヌクレオチドまたはベクターの送達に使用することができる。組換えウイルスベクターを構築するために、当業者に周知の方法を使用することができる; 例えば、Sambrook, Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y. および Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1994)に記載されている技術を参照のこと。あるいは、標的細胞への送達のために、本発明のポリヌクレオチドおよびベクターをリポソームに再構成することができる。本発明のポリヌクレオチドを含有するベクター(例えば、免疫グロブリン鎖の重および/または軽可変ドメインをコードする配列および発現制御配列)を、周知方法(これは、細胞宿主の種類に応じて変化する)によって宿主細胞に導入することができる。例えば、原核細胞の場合には塩化カルシウムトランスフェクションが一般的に用いられるのに対して、他の細胞宿主の形質転換の場合にはリン酸カルシウム処理またはエレクトロポレーションが使用され得る(Sambrook、上記を参照のこと)。

40

【0104】

上記に関して、本発明はさらに、前記ポリヌクレオチドまたはベクターを含む宿主細胞

50

に関する。前記宿主細胞は、原核細胞または真核細胞であり得る。宿主細胞中に存在する本発明のポリヌクレオチドまたはベクターは、宿主細胞のゲノムに組み込まれ得るか、または染色体外で維持され得る。宿主細胞は、細菌、昆虫、真菌、植物、動物またはヒト細胞などの任意の原核細胞または真核細胞であり得る；本発明の抗体を生産するのに適切な宿主細胞および方法は、以下のセクション「宿主細胞」により詳細に記載されている。

【0105】

上述の宿主細胞を使用して、本発明の抗体を、例えば、薬学的使用のために、または、治療的介入のための標的として産生させ、また調製することが可能である。したがって、1つの実施形態において、抗IFN-抗体またはそのIFN-結合断片を調製するための方法であって、下記の工程を含む方法を提供することもまた、本発明の目的である：

- (a) 本明細書中上記で定義されるような細胞を培養する工程；および
- (b) 前記抗体またはそのIFN-結合断片を培養物から単離する工程。

【0106】

したがって、本発明は、本発明のポリヌクレオチドによってコードされる、あるいは、抗IFN-抗体またはその免疫グロブリン鎖を調製するための上述の方法によって得ることができる組換え抗体またはそのIFN-結合断片、その免疫グロブリン鎖に関連する。抗体およびその模倣体の組換え産生のための様々な手段および方法、ならびに、競合する結合分子（これは抗体である場合があり、または、抗体でない場合がある）についてスクリーニングする様々な方法がこの技術分野において知られている。しかしながら、本明細書中に記載されるように、特にヒトにおける治療的適用に関しては、本発明の抗体は、前記抗体の適用が、キメラ抗体について、また、さらには、ヒト化抗体について他の場合には認められるそのような抗体に対する免疫応答を実質的に有していないという意味で、組換えヒト抗体である。

【0107】

結合分子、抗体またはその断片は、治療薬として直接使用することができる。しかしながら、一実施形態では、本発明によって提供される抗体または抗原結合断片は、検出可能に標識されるか、または薬物に結合され、ここで、検出可能な標識は、酵素、放射性同位体、フルオロフォア、ペプチドおよび重金属からなる群より選択される。標識された本発明の抗体または抗原結合断片は、「免疫化学/免疫標識」のようなインビトロアッセイを含め、インビボまたはインビトロで特定の標的を検出するのに使用することができる。インビボにおいて、それらは、目的の抗原を発現する組織、細胞または他の物質を検出するために、核医学イメージング技術と同様の方法で使用することができる。標識、それらの診断での使用、およびそれらと本発明の結合分子とのカップリングは、さらに以下のセクション「標識および診断」により詳細に記載されている。

【0108】

本発明の抗体は、自己免疫性障害に冒された動物またはヒトから単離される。他方で、本発明において特定されるIFN-特異的抗体は、罹患個体の免疫系（例えば、APCED患者において認められる症状に関連する免疫系）を重度に損なうことに関与する場合がある。したがって、自己免疫性障害に罹患する被験体の病理学的反応を、自己抗体の数および/またはその影響を罹患したヒト患者または動物において最小限に抑えるための手段および対策を提供することによって消滅させること、または少なくとも緩和することが、本発明のさらなる局面である。したがって、1つの実施形態において、本発明はまた、本発明の自己抗体によって特異的に認識されるエピトープを含むペプチドまたはペプチド型化合物に関連する。競合的抗原の適用による場合と同様な効果で、それにより、様々な自己抗体がそれらのそれぞれの標的に結合しないようにすること、また、様々な自己抗体がそれらのそれぞれの標的に結合することを妨げることが、さらに下記で詳しく記載されるように抗イディオタイプ抗体によって得られる場合がある。したがって、1つの実施形態において、本発明はまた、本発明の自己抗体の抗イディオタイプ抗体を提供する。

【0109】

既に上述したように、本発明はまた、上記に定義された障害（すなわち、自己寛容の発

10

20

30

40

50

生障害または無秩序な発生に関連する障害)の処置に使用するための、本発明の抗イディオタイプ抗体またはペプチドもしくはペプチド系化合物に関する。これらの単離された本発明の抗体またはその断片は、モノクローナル抗イディオタイプのパネルを作製するために免疫原として使用することができる。抗イディオタイプ抗体を作製するのに適切な方法については、Raychadhuri et al., J. Immunol. 137 (1986), 1743を参照し、T細胞については、Ertl et al., J. Exp. Med. 159 (1985), 1776を参照のこと。Raychadhuri et al., J. Immunol. 137 (1986), 1743によって詳細に記載されているように、当技術分野においてルーチンに実施される標準的なアッセイを使用すれば、抗イディオタイプ抗体は、内部イメージおよび非内部イメージイデオトープの表示を特徴とするであろう。抗イディオタイプ抗体が、それが結合するかまたは結合される抗体の抗原を構造的に模倣する場合、その抗原の「内部イメージ」と称される。

10

20

30

40

50

【0110】

自己免疫性疾患関連自己抗体(複数の自己抗体)のイディオタイプを模倣する分子を提供する方法は、当技術分野において説明されている;例えば、国際公開第03/099868号(この開示内容は、参照により本明細書に組み込まれる)を参照のこと。例えば、このような方法は、以下の工程:(a)本発明の方法にしたがって自己抗体を提供すること;(b)該自己抗体を固相に結合してアフィニティマトリックスを形成すること;(c)免疫グロブリンを含むプールした血漿もしくはB細胞を該アフィニティマトリックスと接触させ、次いで未結合の血漿成分を除去すること;(d)自己抗体に対する抗イディオタイプ抗体(抗Id)である結合した免疫グロブリンをマトリックスから溶出すること;(e)複数の分子メンバーを含む分子ライブラリを提供すること;ならびに(e)該抗Idを該分子ライブラリと接触させ、該抗Idが結合した結合分子を単離すること(該結合分子は、自己抗体のイディオタイプを模倣する分子である)を含み得る。自己抗体を単離する方法は、国際公開第2010/136196号(この開示内容は、参照により本明細書に組み込まれる)に開示されており、自己免疫性疾患および免疫系障害を処置するための、正常ヒト血清(NHS)から単離された天然ポリクローナルIgG反応性抗体(Ab)を含有する免疫グロブリン調製物が記載されている。IgG反応性Abは、抗原結合部位内またはその付近(例えば、オーバーラップしている)のいずれかに位置するそれらの抗原決定基に結合することによって、自己免疫性疾患を患っている患者の血清中に存在する疾患関連または病原性自己抗体を強力に中和する。

【0111】

本発明はまた、上述の抗IFN-抗体および/またはIFN-結合断片、本発明のポリヌクレオチド、ベクター、細胞、ペプチドまたはペプチド型化合物、ならびに/あるいは、組合せて本発明の抗体またはそのIFN-結合断片の特徴を示す抗体またはそのIFN-結合断片のカクテルのうちのいずれか1つを含む組成物に関連する。加えて、または、代替として、1つの実施形態において、本発明の組成物またはキットは本発明の抗イディオタイプ抗体を含む。1つの実施形態において、組成物は医薬組成物であり、かつ、薬学的に許容され得る担体をさらに含む。薬学的に許容され得る担体、投与経路および投薬計画は、当業者に知られている対応する文献から採用することができ、さらには下記の「薬学的担体」および「投薬計画」のセクションにおいてもより詳しく記載される。

【0112】

生化学的アッセイおよび細胞型インビトロアッセイのほかに、本発明の抗体の治療的有用性は、適切な動物モデルにおいて、例えば、RA、乾癬、SLEまたはT1DMなどについての動物モデルにおいて確認することができる;下記の実施例、例えば、実施例4を参照のこと。

【0113】

一実施形態では、医薬組成物は、好ましくは、非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)、コルチコステロイド、抗ヒスタミンおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される、炎症または自己免疫性障害を処置するのに有用なさらなる薬剤をさらに含む。加えて

またはあるいは、さらなる実施形態では、医薬組成物は、免疫抑制薬および抗炎症または「抗リウマチ」薬からなる群より選択される、炎症関連疾患を処置するのに有用なさらなる薬剤をさらに含む。

【0114】

別の実施形態では、組成物は診断組成物又はキットであり、免疫診断法または核酸ベースの診断法に通常使用される試薬をさらに含む。

【0115】

さらに、本発明は、下記の方法において使用されるための上述の抗IFN-抗体およびそのIFN-結合断片のいずれか1つ、あるいは、本明細書中上記で定義されるような組成物に関連する：

(a) 免疫媒介もしくは自己免疫性の疾患もしくは状態を処置するか、または、免疫媒介もしくは自己免疫性の疾患もしくは状態の進行を妨げる方法；

(b) 免疫媒介もしくは自己免疫性の疾患もしくは状態に伴う症状を改善する方法；ならびに/あるいは

(c) 免疫媒介もしくは自己免疫性の疾患もしくは状態の存在について、または、免疫媒介もしくは自己免疫性の疾患もしくは状態を発症することについての被験体の危険性を明らかにするために被験体を診断するか、またはスクリーニングする方法；ただし、前記疾患または状態は患者におけるIFN-および/またはIFN-の発現に伴う。

【0116】

これに関して、いくつかの適用経路を用いることができる。本発明の一実施形態では、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、腹腔内投与、鼻腔内投与、非経口投与、またはエアロゾルとして投与されるように設計されている、上記抗体もしくは抗原結合断片、抗イデオタイプ抗体またはペプチドもしくはペプチド系化合物、及び/又は、組合せによって本発明の抗体の特徴を示す抗体のカクテルが提供される。

【0117】

上記で示されるように、それらの結合特異性のために、本発明の様々な分子（例えば、抗体およびその断片など）は好ましくは、免疫媒介または自己免疫性の障害または状態の処置、改善、診断および/またはスクリーニングの上記で規定される方法において使用される場合がある。例えば、上昇したIFN-活性がしばしば、SLEを有する患者の血清において検出されている（Ronnbloom他、Sem. Immun. 23 (2011)、113~121）。インターフェロン依存性遺伝子の特異的な発現パターン（これは「インターフェロシグナチャー」と呼ばれる）がさらに、様々な自己免疫性障害の患者（例えば、シェーグレン症候群、皮膚筋炎、多発性硬化症（MS）、乾癬、1型糖尿病またはインスリン依存性糖尿病（T1DMまたはIDDM）の患者および一部のRA患者など）の白血球において示される（例えば、Higgs他、Eur. Musc. Rev. (2012)、22~28を参照のこと）。加えて、炎症性関節炎、MSおよびT1DMの発症が、IFN-療法の期間中に繰り返し報告されており、このことは、IFN-がそれらの疾患を少なくとも促進させることを示している（Crow MK.、Arthritis Res. Ther. (2010)、増刊1：S5）。さらなるデータにより、IFN-の関与が、筋炎、全身性強皮症、慢性乾癬において示唆され（Higgs他、Eur. Musc. Rev. (2012)、22~28；Bissonnette他、J. Am. Acad. Dermatol. (2009)、427~436；Greenberg SA、Arth. Res. Ther. (2010)：S4）、また、自己免疫性甲状腺炎において示唆される（PrummelおよびLaurberg、Thyroid (2003)、547~551）。したがって、1つの実施形態において、上記方法において使用されるための抗体またはそのIFN-結合断片あるいは本明細書中上記で定義されるような組成物が提供され、この場合、前記疾患は自己免疫疾患であり、好ましくは、全身性エリテマトーデス（SLE）、皮膚エリテマトーデス（CLE）、円板状エリテマトーデス（DLE）、1型糖尿病（T1DM）、シェーグレン症候群、皮膚筋炎、乾癬、自己免疫性甲状腺炎、関節リウマチ、脊椎関節炎、強皮症、および、白血病を含む種々のガン形

10

20

30

40

50

態（例えば、乳ガンおよび卵巣ガンならびに小児リンパ芽球性白血病（ALL；Eina v他、Oncogene、24（2005）、6367～6375）からなる群から選択される自己免疫疾患である。予備的結果では、加えてT1DMに罹患する、または罹患していないAPS1患者から得られる抗体の中和活性における違いが示唆された（図4）。しかしながら、患者血清のより詳細な分析により、両方の種類の患者における個々の抗IFNA抗体の中和活性が実質的に同じである場合があり、一方で、抗体力価およびIFN中和活性の総レベルが有意に異なり、非常に低い力価がT1DM患者において認められることが明らかにされた；図31および図32を参照のこと。したがって、1つの実施形態において、本発明はまた、血清のサンプルが、コントロールサンプルと比較して、すなわち、健康な被験体から得られる血清、または、疾患症状を有していないT1DM患者から得られる血清と比較して、より低い中和活性を少なくとも1つのIFN-サブタイプのサイトカインに対して示すと判定された患者におけるT1DMの処置において使用されるための本明細書中に記載されるIFN-結合性およびIFN- / 結合性の分子、ならびに、他のIFN-結合分子に関連する。

10

20

30

40

50

【0118】

処置において好適である分子、例えば、本明細書中に示される炎症に伴う障害の処置において好適である分子の多さのために、本発明はまた、そのような障害（好ましくは、免疫媒介または自己免疫性の疾患または状態はIFN- および / またはIFN- の発現に伴う）の処置、そのような障害の診断、ならびに / あるいは、そのような障害の起こりそうな経過および結果を予後判定する方法に関連し、また、本発明の分子の使用に関連する。1つの実施形態において、そのような障害を処置するための方法が提供され、この方法は、その必要性のある被験体に、治療有効量の上述の抗体またはその抗原結合断片、組合せて本発明の抗体の特徴を示す抗体のカクテル、抗イディオタイプ抗体またはペプチドもしくはペプチド型化合物を投与することを含む。

【0119】

さらに、1つの実施形態において、本発明は、IFN- および / またはIFN- の発現に伴う免疫媒介または自己免疫性の疾患または状態を処置する方法であって、被験体に、

(i) 本発明の抗IFN- 抗体およびIFN- 結合断片の少なくとも1つのCDR ; あるいは

(ii) 本明細書中上記で定義されるような少なくとも1つの抗イディオタイプ抗体および / またはペプチドもしくはペプチド型化合物を含むリガンド結合分子の治療有効量を投与することを含む方法に関連する。

【0120】

疾患に関連づけられるか、または疾患を引き起こす特定の抗原のエピトープについて特異的であるただ1つのモノクローナル抗体を使用することに基づく処置方法は、いくつかの欠点に悩まされる場合がある。例えば、処置の困難さおよびおそらくは非効率性が、いくつかの抗原を同時に標的とすることを必要とする特定の障害を引き起こす病原性機構の多さから生じる場合がある。そのうえ、患者集団の本来的な多様性を、少なくとも使用されるモノクローナル抗体の低下した結合効率を引き起こすことがある異なる患者または一人の患者のどちらにおいても、例えば、所与抗原の多型、グリコシル化の不均一性またはわずかな変性に関して考慮に入れなければならない。これらの欠点のいくつかは、例えば、抗原が、処置されることが意図される患者に免疫学的に関連しているかどうかを、また、どのようなエピトープ変化であれ、エピトープ変化が特定の患者において存在するかどうかを判定するための処置前のスクリーニングによって回避される場合がある。しかしながら、そのようなスクリーニングは多くの場合、処置の緊急性のために、または、費用抑制のために省かれる。したがって、本発明はさらに、2つ以上のタイプの結合分子を一度に患者に適用することに基づく方法、すなわち、結合分子のカクテルを適用することに基づく方法に関連する。これらの結合分子は、異なるエピトープにおいて1つのIFNAサブタイプに、および / または、IFN- のエピトープに特異的に結合する場合があります

、この場合、適用される結合分子のそれぞれが別のIFNAサブタイプと特異的に結合する場合があります、または、2つ以上のIFNAサブタイプのいくつかのエピトープおよび/またはIFN- に結合するいくつかの結合分子が使用される。本発明の様々な結合分子が抗原としての1つのIFNAサブタイプに向けられる(特異的に結合する)場合、それらの結合特異性は前記抗原の異なったエピトープに向けられる。そのようなカクテルの使用が、自己免疫性障害(例えば、APS1など)に罹患する患者を処置するために特に想定される。これは、そのような患者は、約3000の内因性抗原に対する自己抗体の存在を考慮すると、1つの特定の抗体による単独療法を受け入れないことが多いからである。そのような場合には、同じ抗原特異性または異なる抗原特異性を有する本発明の2つ以上のモノクローナル抗体および/またはペプチドおよびペプチド型化合物による併用療法は、症状の少なくとも何らかの軽減を達成することが予想される。 10

【0121】

したがって、1つの実施形態において、障害を処置するさらなる方法であって、
・本明細書中上記で定義されるようなIFNAサブタイプおよび/またはIFN- と特異的に結合する本発明の抗IFN- 抗体およびIFN- 結合断片;ならびに/あるいは
・本発明の抗イディオタイプ抗体および/または本発明のペプチドもしくはペプチド型化合物(ただし、そのようなペプチドもしくはペプチド型化合物は、本発明の抗IFN- 抗体およびIFN- 結合断片によって特異的に認識されるエピトープを含む) からなる群から選択される少なくとも2つ、3つ、4つ、5つおよびそれ以上の成分から本質的になるカクテルの治療有効量を被験体に投与することを含む方法が提供される。 20

【0122】

本発明は当然のことながら、IFN- の1つもしくは複数のサブタイプおよび/またはIFN- の発現に伴う免疫媒介または自己免疫性の状態および障害を診断することに向けられる診断方法および予後方法、ならびに/あるいは、そのような疾患の発症の予後、すなわち、その進行、処置に対する応答または回復にもまた及ぶ。したがって、1つの実施形態において、本発明は、IFN- の発現に伴う被験体における免疫媒介または自己免疫性の疾患または状態を診断するための方法であって、被験体の生物学的サンプルを本発明の抗IFN- 抗体およびIFN- 結合断片と接触させること、ならびに、IFN- および/またはIFN- の存在を検出することを含む方法に関連する。さらに、 1つの実施形態において、本発明は、単離された生物学的サンプルにおいてIFN- および/またはIFN- を検出するか、または測定する方法であって、該サンプルを本発明の抗IFN- 抗体と混合すること、当該抗体により、混合物に存在するいずれかのIFN- サブタイプおよび/またはIFN- との複合体を形成させること、ならびに、該混合物に存在する該複合体を検出することを含む方法に関連する。 30

【0123】

既に上記で述べられたように、1つの実施形態において、本発明は、IFN- および/またはIFN- の発現に伴う免疫媒介または自己免疫性の疾患または状態を診断するためのキットであって、上述の抗IFN- 抗体およびIFN- 結合断片、抗イディオタイプ抗体またはペプチドもしくはペプチド型化合物、ポリヌクレオチド、ベクターまたは細胞を、必要な場合には使用のための試薬および/または説明書と一緒に含むキットに関連する。本発明のキットには、例えば、キットを含む容器の内部に、医薬品または生物学的製品の製造、使用または販売を規制する政府当局によって定められる形式での通知が伴い得る(そのような通知は、ヒト投与のための製造、使用または販売の当局による承認を反映する)。加えて、または、代替において、キットは、適切な診断アッセイにおいて使用されるための試薬および/または説明書を含む。本発明の組成物、すなわち、キットは、当然のことではあるが、上記で述べられるような疾患を処置するために特に適用可能である、IFN- の発現に伴う障害の診断、防止および処置のために特に適している。特に好ましい実施形態において、障害はIFN- サブタイプの1つもしくは複数および/またはIFN- の発現に伴う。 40

【0124】

別の実施形態では、本発明は、上記本発明の結合分子、抗体、抗原結合断片、ペプチドもしくはペプチド系化合物、ポリヌクレオチド、ベクターまたは細胞のうちのいずれか1つ、および場合により、免疫診断法または核酸ベースの診断法で通常使用される試薬などの検出に適切な手段を含む診断組成物に関する。本発明の抗体は、例えば、それらを液相でまたは固相担体に結合して利用することができるイムノアッセイで使用するのに適切である。本発明の抗体を利用することができるイムノアッセイの例は、直接または間接フォーマットのいずれかの競合および非競合イムノアッセイである。このようなイムノアッセイの例は、ラジオイムノアッセイ(RIA)、サンドイッチ(イムノメトリックアッセイ)、フローサイトメトリおよびウェスタンブロットアッセイである。本発明の抗原および抗体を多くの異なる担体に結合させ、それらに特異的に結合した細胞を単離するのに使用することができる。周知の担体の例としては、ガラス、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカーボネート、デキストラン、ナイロン、アミロース、天然および改変セルロース、ポリアクリルアミド、アガロースおよびマグネタイトが挙げられる。担体の性質は、本発明の目的のために、可溶性または不溶性のいずれかであり得る。当業者に公知の多くの異なる標識および標識方法がある。本発明に使用することができる標識の種類例としては、酵素、放射性同位体、コロイド状金属、蛍光化合物、化学発光化合物および生物発光化合物が挙げられる(上記実施形態も参照のこと)。

10

【0125】

この関連において、本発明はまた、この目的のために特に設計される手段に関連する。例えば、タンパク質または抗体に基づくアレイが使用される場合があり、アレイには、例えば、1つまたは複数のIFN-サブタイプに由来し、自己免疫疾患(具体的には、SLEまたはAPECED/APS1)に罹患する患者に存在するかもしれない自己抗体を検出するための疾患関連抗原を含有する抗原が装荷されるか、あるいは、そのような炎症関連抗原のいずれか1つを特異的に認識する本発明の抗体または同等な抗原結合分子が装荷される。マイクロアレイでの免疫アッセイの設計が、Kusnezow他、Mol. Cell Proteomics 5(2006)、1681~1696において要約される。したがって、本発明はまた、結合分子、具体的には、本発明の抗IFN-抗体およびIFN-結合断片または本発明に従って特定される抗原が装荷されるマイクロアレイに関連する。

20

30

【0126】

定義および実施形態

別途記載される場合を除き、本明細書中で使用されるような用語および実施形態には、国際出願公開WO2013/098419および国際出願公開WO2013/098420において提供されるような、また、使用されるような定義が与えられる。補充として、本明細書中で使用されるような一般的な用語には、Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology(Oxford University Press、1997年、2000年改訂および2003年再版、ISBN 0198506732)において提供されるような定義が与えられる。

40

【0127】

用語「a」または「an」の実体は、その実体の1つ以上を指すことに留意する；例えば、「抗体」は、1つ以上の抗体を表すと理解される。したがって、用語「a」(または「an」)、「1つ以上」および「少なくとも1つ」は、本明細書で互換的に使用される。

【0128】

用語「中和する」および用語「中和抗体」はそれぞれ、抗原または生きている微生物の少なくとも何らかの生物学的活性を低下させるか、または無効にする抗体が意味されるという点でこの技術分野において一般的であるように使用される。例えば、本発明のサブタイプ特異的な抗IFN-抗体は、十分な量で、それぞれのIFN-サブタイプの活性

50

を、例えば、実施例に記載されるようなアッセイにおいて無効にするか、または低下させるならば、中和抗体である。中和は50%阻害濃度(IC50)によって一般に定義され、中和滴定曲線下面積(AUC)に基づいて統計学的に評価することができる。本発明の例示的な抗IFN-抗体のIC50値が、本明細書中において、例えば、図8~図10において、また、表4において記載され、また、示される。

【0129】

中枢性寛容および末梢性寛容

中枢性寛容および末梢性寛容が国際出願公開WO2013/098419の62頁~63頁でのそれぞれの章においてより詳しく記載される(その開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる)。

【0130】

ペプチドおよびポリペプチド:

用語「ペプチド」は、用語「ポリペプチド」および「タンパク質」(これは、本明細書では時には互換的に使用され得る)、ならびにその意味の範囲内で、任意のアミノ酸配列、例えば、本発明の重鎖および軽鎖可変領域ならびに定常領域のアミノ酸配列を含むと理解される。同様に、タンパク質およびポリペプチドの断片も意図され、本明細書では「ペプチド」と称され得る。それにもかかわらず、用語「ペプチド」は、好ましくは、少なくとも5個の連続するアミノ酸、好ましくは少なくとも10個の連続するアミノ酸、より好ましくは少なくとも15個の連続するアミノ酸、さらにより好ましくは少なくとも20個の連続するアミノ酸、特に好ましくは少なくとも25個の連続するアミノ酸を含むアミノ酸ポリマーを意味する。加えて、本発明によるペプチドは、典型的には、100個以下の連続するアミノ酸、好ましくは80個未満の連続するアミノ酸、より好ましくは50個未満の連続するアミノ酸を有する。

【0131】

本明細書で使用される場合、用語「ポリペプチド」は、単数の「ポリペプチド」および複数の「ポリペプチド」、例えば、本発明の抗体を包含することを意図し、(ペプチド結合としても公知である)アミド結合によって直線的に連結したモノマー(アミノ酸)から構成される分子を指す。用語「ポリペプチド」は、2個以上のアミノ酸からなる任意の1つまたは複数の鎖を指し、特定の長さの産物を指さない。したがって、「ペプチド」、「ジペプチド」、「トリペプチド」、「オリゴペプチド」、「タンパク質」、「アミノ酸鎖」または2個以上のアミノ酸からなる1つまたは複数の鎖を指すのに使用される他の任意の用語が「ポリペプチド」の定義内に含まれ、用語「ポリペプチド」は、これらの用語のいずれかに代えてまたはこれと互換的に使用され得る。

【0132】

用語「ポリペプチド」はまた、限定されないが、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、公知の保護基/ブロック基による誘導体化、タンパク質分解による切断、または天然に存在しないアミノ酸による改変を含むポリペプチドの発現後修飾産物を指すことを意図する。ポリペプチドは天然の生物学的供給源に由来するものでもよいし、または組換え技術によって生産されるものでもよいが、必ずしも指定の核酸配列から翻訳されるものではない。それは、化学合成を含む任意の方法で作製され得る。

【0133】

本発明のポリペプチドは、約3個以上、5個以上、10個以上、20個以上、25個以上、50個以上、75個以上、100個以上、200個以上、500個以上、1,000個以上または2,000個以上のアミノ酸のサイズであり得る。それにもかかわらず、用語「ポリペプチド」は、好ましくは、少なくとも100個のアミノ酸を含むアミノ酸ポリマーを意味する。ポリペプチドは一定の三次元構造を有し得るが、それらは必ずしもこのような構造を有するものではない。一定の三次元構造を有するポリペプチドは折り畳まれていると称され、一定の三次元構造を持たず、むしろ多数の異なる立体構造をとり得るポリペプチドは折り畳まれていないと称される。本明細書で使用される場合、糖タンパク質という用語は、アミノ酸残基、例えば、セリン残基またはアスパラギン残基の酸素含有側

10

20

30

40

50

鎖または窒素含有側鎖を介してタンパク質に結合する少なくとも1つの炭水化物部分に結合したタンパク質を指す。

【0134】

「単離された」ポリペプチドまたはその断片、変異体もしくは誘導体は、その自然環境下でないポリペプチドを意図する。特定の精製レベルは必要とされない。例えば、単離されたポリペプチドは、その天然または自然の環境から取り出され得る。宿主細胞で発現された組換的に生産されたポリペプチドおよびタンパク質は、任意の適切な技術によって分離、分画または部分的もしくは実質的に精製された天然ポリペプチドまたは組換えポリペプチドがそうであるように、本発明の目的のために単離されたとみなされる。

【0135】

「組換えペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質」は、組換えDNA技術によって生産された（すなわち、所望のペプチドを含む融合タンパク質をコードする外因性の組換えDNA発現構築物によって形質転換された細胞、微生物または哺乳動物から産生された）ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質を指す。ほとんどの細菌培養物で発現されたタンパク質またはペプチドは、典型的には、グリカンを含まないであろう。酵母で発現されたタンパク質またはポリペプチドは、哺乳動物細胞で発現されたものとは異なるグリコシル化パターンを有し得る。

【0136】

本発明のポリペプチドには、上記ポリペプチドの断片、誘導体、類似体および変異体ならびにそれらの任意の組み合わせも含まれる。用語「断片」、「変異体」、「誘導体」および「類似体」は、天然ペプチドのアミノ酸配列と十分に類似のアミノ酸配列を有するペプチドおよびポリペプチドを含む。用語「十分に類似の」は、第1および第2のアミノ酸配列が共通の構造ドメインおよび/または共通の機能活性を有するように、第1のアミノ酸配列が、第2のアミノ酸配列と同一または同等のアミノ酸残基の十分数または最小数を含有することを意味する。例えば、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%同一の共通の構造ドメインを含むアミノ酸配列が、本明細書では十分に類似のものと定義される。好ましくは、変異体は、本発明の好ましいペプチドのアミノ酸配列と、特に抗体もしくは抗体断片と、または本発明の抗体もしくはそれらのいずれかの断片、変異体、誘導体もしくは類似体によって認識されるエピトープを含む合成ペプチドもしくはペプチド系化合物と十分に類似である。このような変異体は、一般に、本発明のペプチドの機能活性を保持する（すなわち、本発明の抗体によって結合される）。変異体は、1個以上のアミノ酸の欠失、付加、および/または置換によって、アミノ酸配列がそれぞれ天然および野生型（wt）ペプチドとは異なるペプチドを含む。これらは、天然に存在する変異体および人工的に設計されたものであり得る。

【0137】

用語「断片」、「変異体」、「誘導体」および「類似体」は、本発明の抗体または抗体ポリペプチドに言及する場合、対応する天然結合分子、抗体またはポリペプチドの抗原結合特性の少なくとも一部を保持する任意のポリペプチドを含む。本発明のポリペプチド断片は、本明細書の他の箇所で議論される特定の抗体断片に加えて、タンパク質分解断片および欠失断片を含む。本発明の抗体および抗体ポリペプチドの変異体は、上記断片、およびさらにアミノ酸の置換、欠失または挿入によりアミノ酸配列を改変したポリペプチドを含む。変異体は天然に存在するものでもよいし、または天然に存在しないものでもよい。天然に存在しない変異体は、当技術分野において公知の突然変異誘発技術を使用して生産され得る。変異体ポリペプチドは、保存的または非保存的なアミノ酸置換、欠失または付加を含むことができる。本発明の結合分子、例えば、本発明の抗体および抗体ポリペプチドの誘導体は、天然ポリペプチドでは見られないさらなる特徴を示すように改変されたポ

10

20

30

40

50

リペプチドである。例としては、融合タンパク質が挙げられる。変異体ポリペプチドは、本明細書では「ポリペプチド類似体」とも称され得る。本明細書で使用される場合、結合分子もしくはその断片、抗体または抗体ポリペプチドの「誘導体」は、官能側基の反応によって化学的に誘導体化された1つ以上の残基を有する主題ポリペプチドを指す。「誘導体」としては、20種の標準的アミノ酸の1個以上の天然に存在するアミノ酸誘導体を含むペプチドも挙げられる。例えば、プロリンを4-ヒドロキシプロリンに置換することができる；リシンを5-ヒドロキシリシンに置換することができる；ヒスチジンを3-メチルヒスチジンに置換することができる；セリンをホモセリンに置換することができる；そして、リシンをオルニチンに置換することができる。

【0138】

抗イディオタイプ抗体：

用語「抗イディオタイプ抗体」は、抗体または他の結合分子に言及する場合、抗原結合部位付近におけるまたは抗原結合部位における抗体の可変領域上に位置する固有の抗原性ペプチド配列に結合して、これによって、所定の自己抗体により別の方法で引き起こされる特異的免疫反応を阻害する分子を含む。同様に、本発明の抗体によって特異的に認識されるエピトープを含む合成ペプチドまたはペプチド系化合物を使用することができる。

【0139】

抗イディオタイプ抗体は、他の抗体と同様の方法で得ることができる。特定の抗イディオタイプ抗体は、凝集（比濁法アッセイまたは比濁分析アッセイ）、沈殿（放射免疫拡散）、またはサンドイッチイムノアッセイ、例えば、ELISAによって、任意の種類の架橋により検出される。米国特許出願公開第20020142356号明細書は、高濃度高分子量の標的抗原に対して特異的な抗体に対する抗イディオタイプモノクローナル抗体集団を得るための方法であって、前記抗イディオタイプ抗体集団が、前記標的抗原に対して特異的な選択抗体に対して多種多様な結合親和性を有し、特定の用途に必要な親和性を有する前記抗イディオタイプ抗体集団のサブセットが選択され得る方法を提供する。

【0140】

米国特許出願公開第20020142356号明細書には、抗体をコートとしておよび抗イディオタイプ抗体を検出として使用した（その逆もまた同様である）抗原の競合イムノアッセイが記載されている。抗イディオタイプ抗体を代理抗原として使用することが開示されている他の参考文献としては、Losman et al., *Cancer Research*, 55 (1995) (23 suppl. S): S5978 - S5982; Becker et al., *J. of Immunol. Methods* 192 (1996), 73 - 85; Baral et al., *International J. of Cancer*, 92 (2001), 88 - 95; および Kohen et al., *Food and Agriculture Immunology*, 12 (2000), 193 - 201 が挙げられる。疾患の処置においてまたは寄生虫に対して抗イディオタイプ抗体を使用することは、当技術分野において公知である；例えば、Sacks et al., *J. Exper. Medicine*, 155 (1982), 1108 - 1119 を参照のこと。

【0141】

分子の類似性および/または同一性の決定：

2つのペプチド間の「類似性」は、第1のペプチドのアミノ酸配列を第2のペプチドの配列と比較することによって決定される。第1のペプチドのアミノ酸は、それが同一または保存的アミノ酸置換である場合、第2のペプチドの対応するアミノ酸と類似する。保存的置換としては、Dayhoff, M.O., ed., *The Atlas of Protein Sequence and Structure* 5, National Biomedical Research Foundation, Washington, D.C. (1978)、および Argos, *EMBO J.* 8 (1989), 779 - 785 に記載されているものが挙げられる。例えば、以下の群の1つに属するアミノ酸は、保存的変化または置換を表す：- Ala、Pro、Gly、Gln、Asn、Ser

10

20

30

40

50

、Thr; - Cys、Ser、Tyr、Thr; - Val、Ile、Leu、Met、Ala、Phe; - Lys、Arg、His; - Phe、Tyr、Trp、His; および - Asp、Glu。

【0142】

2つの配列間の%同一性または類似性の決定は、好ましくは、Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873 - 5877の数学的アルゴリズムを使用して達成される。このようなアルゴリズムは、NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>) で利用可能なAltschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403 - 410のBLASTnおよびBLASTpプログラム中に組み込まれている。

10

【0143】

%同一性または類似性の決定は、BLASTnおよびBLASTpプログラムの標準的パラメータを用いて実施される。

【0144】

BLASTポリヌクレオチド検索は、BLASTnプログラムを用いて実施される。一般的パラメータについて、「最大標的配列」のボックスを100に設定し得、「ショートクエリ」のボックスにチェックマークを付け得、「予測閾値」のボックスを10に設定し得、「ワードサイズ」のボックスを28に設定し得る。スコアリングパラメータについて、「一致/不一致スコア」を1, -2に設定し得、「ギャップコスト」のボックスを線形に設定し得る。フィルタおよびマスキングパラメータについて、「低複雑度領域」のボックスにチェックマークを付け得、「種特異的反復」のボックスにはチェックマークを付けなくてもよく、「ルックアップテーブルのみについてマスク」のボックスにチェックマークを付け得、「小文字をマスク」のボックスにはチェックマークを付けなくてもよい。

20

【0145】

BLASTタンパク質検索は、BLASTpプログラムを用いて実施される。一般的パラメータについて、「最大標的配列」のボックスを100に設定し得、「ショートクエリ」のボックスにチェックマークを付け得、「予測閾値」のボックスを10に設定し得、「ワードサイズ」のボックスを「3」に設定し得る。スコアリングパラメータについて、「マトリックス」のボックスを「BLOSUM62」に設定し得、「ギャップコスト」のボックスを「存在: 11 伸長: 1」に設定し得、「組成調整」のボックスを「条件的組成スコアマトリックス調整」に設定し得る。フィルタおよびマスキングパラメータについて、「低複雑度領域」のボックスにはチェックマークを付けなくてもよく、「ルックアップテーブルのみについてマスク」のボックスにはチェックマークを付けなくてもよく、「小文字をマスク」のボックスにはチェックマークを付けなくてもよい。

30

【0146】

ポリヌクレオチド:

用語「ポリヌクレオチド」は、単数の核酸および複数の核酸を包含することを意図し、単離された核酸分子または構築物、例えば、メッセンジャーRNA (mRNA) またはプラスミドDNA (pDNA) を指す。ポリヌクレオチドは、通常ホスフォジエステル結合または非通常型結合 (例えば、ペプチド核酸 (PNA) に見られるようなアミド結合) を含むことができる。用語「核酸」は、ポリヌクレオチド中に存在する任意の1つ以上の核酸セグメント、例えば、DNAまたはRNA断片を指す。「単離された」核酸またはポリヌクレオチドは、その天然環境から取り出された核酸分子、DNAまたはRNAを意図する。例えば、ベクターに含まれる抗体をコードする組換えポリヌクレオチドは、本発明の目的のために単離されたとみなされる。単離されたポリヌクレオチドのさらなる例としては、異種宿主細胞で維持される組換えポリヌクレオチドまたは溶液中の (部分的または実質的に) 精製されたポリヌクレオチドが挙げられる。単離されたRNA分子としては、本発明のポリヌクレオチドのインビボまたはインビトロRNA転写産物が挙げられる。本発明にしたがって単離されたポリヌクレオチドまたは核酸としてはさらに、合成的に生産

40

50

されたこのような分子が挙げられる。加えて、ポリヌクレオチドまたは核酸は、プロモータ、リボソーム結合部位または転写ターミネータなどの調節要素でもよいし、またはこれらを含んでもよい。

【0147】

本明細書で使用される場合、「コード領域」は、アミノ酸に翻訳されるコドンからなる核酸の部分である。「停止コドン」(TAG、TGAまたはTAA)はアミノ酸に翻訳されないがコード領域の一部とみなされ得るが、例えば、プロモータ、リボソーム結合部位、転写ターミネータ、イントロンなどの任意の隣接配列はコード領域の一部ではない。本発明の2つ以上のコード領域が単一のポリヌクレオチド構築物内に、例えば、単一のベクター上に、または別々のポリヌクレオチド構築物内に、例えば、別々の(異なる)ベクター上に存在することができる。また、任意のベクターは、単一のコード領域を含有することもできるし、または2つ以上のコード領域を含むことができ、例えば、単一のベクターは、免疫グロブリン重鎖可変領域および免疫グロブリン軽鎖可変領域を別々にコードすることができる。加えて、本発明のベクター、ポリヌクレオチドまたは核酸は、結合分子、抗体またはそれらの断片、変異体もしくは誘導体をコードする核酸に融合しているかまたは融合していない異種コード領域をコードすることができる。異種コード領域は、限定されないが、分泌シグナルペプチドまたは異種機能性ドメインなどの特別な要素またはモチーフを含む。

10

【0148】

ある実施形態では、ポリヌクレオチドまたは核酸は、DNAである。DNAの場合では、ポリペプチドをコードする核酸を含むポリヌクレオチドは、通常、1つ以上のコード領域と機能的に結合されたプロモータおよび/または他の転写もしくは翻訳制御要素を含むことができる。機能的な結合は、遺伝子産物(例えば、ポリペプチド)のコード領域が、遺伝子産物の発現を調節配列の影響下または制御下に置くような方法で1つ以上の調節配列と結合している場合である。プロモータ機能の誘導が所望の遺伝子産物をコードするmRNAの転写をもたらす場合、および2つのDNA断片間の結合の性質が遺伝子産物の発現を指令する発現調節配列の能力を妨害しないか、または鋳型DNAの転写される能力を妨害しない場合、2つのDNA断片(例えば、ポリペプチドコード領域およびそれと結合するプロモータ)は、「機能的に結合されている」かまたは「機能的に連結されている」。したがって、プロモータがポリペプチドをコードする核酸の転写をもたらすことができる場合、プロモータ領域はその核酸と機能的に結合されているであろう。プロモータは、所定の細胞でのみDNAの実質的な転写を指令する細胞特異的プロモータであり得る。プロモータの他に、例えば、エンハンサ、オペレータ、リプレッサおよび転写終結シグナルなどの他の転写制御要素が、細胞特異的転写を指令するためにポリヌクレオチドと機能的に結合され得る。適切なプロモータおよび他の転写制御領域は、本明細書で開示される。

20

30

【0149】

様々な転写制御領域が当業者に公知である。これらとしては、限定されないが、脊椎動物細胞で機能する転写制御領域、例えば限定されないが、サイトメガロウイルス(イントロン-Aを含む前初期プロモータ)、シミアンウイルス40(初期プロモータ)および(ラウス肉腫ウイルスなどの)レトロウイルス由来のプロモータおよびエンハンサセグメントが挙げられる。他の転写制御領域としては、アクチン、熱ショックタンパク質、ウシ成長ホルモンおよびウサギ グロビンなどの脊椎動物遺伝子由来のもの、ならびに真核細胞での遺伝子発現を制御することができる他の配列が挙げられる。他の適切な転写制御領域としては、組織特異的プロモータおよびエンハンサ、ならびにリンホカイン誘導性プロモータ(例えば、インターフェロンまたはインターロイキンによって誘導可能なプロモータ)が挙げられる。

40

【0150】

同様に、様々な翻訳制御要素が当業者に公知である。これらとしては、限定されないが、リボソーム結合部位、翻訳開始および停止コドン、ならびにピコルナウイルス由来の要素(特に、CITE配列とも称される内部リボソーム侵入部位またはIRES)が挙げら

50

れる。

【0151】

他の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、例えば、メッセンジャーRNA (mRNA: messenger RNA)、小ヘアピンRNA (shRNA)、低分子干渉RNA (siRNA) または任意の他のRNA産物の形態のRNAである。

【0152】

本発明のポリヌクレオチドコード領域および核酸コード領域は、本発明のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドの分泌を指令する分泌またはシグナルペプチドをコードするさらなるコード領域と結合することができる。シグナル仮説によれば、哺乳動物細胞によって分泌されたタンパク質は、成長中のタンパク質鎖が粗面小胞体通って輸送され始めると成熟タンパク質から切断されるシグナルペプチドまたは分泌リーダ配列を有する。当業者であれば、脊椎動物細胞によって分泌されたポリペプチドは、一般に、前記ポリペプチドのN末端に融合したシグナルペプチドを有し、これが完全または「全長」ポリペプチドから切断されて分泌型または「成熟」型ポリペプチドが産生されることを理解している。ある実施形態では、天然のシグナルペプチド、例えば、免疫グロブリン重鎖もしくは軽鎖のシグナルペプチド、またはその配列の機能性誘導体であって、それと機能的に結合されたポリペプチドの分泌を指令する能力を保持している機能性誘導体を使用される。あるいは、異種哺乳動物シグナルペプチドまたはその機能性誘導体を使用することができる。例えば、野生型リーダ配列をヒト組織プラスミノゲン活性化因子(TPA)またはマウス - グルクロニダーゼのリーダ配列で置換することができる。しかしながら、ポリペプチド、特に本発明の免疫グロブリン及びその断片の細胞内生産もまた可能である。

10

20

【0153】

発現:

用語「発現」は、本明細書で使用される場合、遺伝子が生化学物質、例えば、RNAまたはポリペプチドを生成する過程を指す。この過程は、限定されないが、遺伝子ノックダウンならびに一過性発現および安定発現の両方を含む、細胞内における遺伝子の機能的存在の任意の顕在化を含む。それとしては、限定されないが、遺伝子のメッセンジャーRNA (mRNA)、トランスファーRNA (tRNA)、小ヘアピンRNA (shRNA)、低分子干渉RNA (siRNA) または任意の他のRNA産物への転写、およびこのようなmRNAのポリペプチドへの翻訳が挙げられる。所望の最終産物が生化学物質である場合、発現は、その生化学物質および任意の前駆体の作製を含む。遺伝子の発現は、「遺伝子産物」を生成する。本明細書で使用される場合、遺伝子産物は、核酸、例えば、低分子干渉RNA (siRNA)、遺伝子の転写によって生成されるメッセンジャーRNA、または転写産物から翻訳されるポリペプチドのいずれかであり得る。本明細書に記載される遺伝子産物としてはさらに、転写後修飾、例えば、ポリアデニル化を受けた核酸、または翻訳後修飾、例えば、メチル化、グリコシル化、脂質付加、他のタンパク質サブユニットとの会合、タンパク質分解切断などを受けたポリペプチドが挙げられる。

30

【0154】

様々な発現ベクター/宿主系を用いて、ポリヌクレオチド配列を含有および発現させることができる。これらとしては、限定されないが、組換えバクテリオファージ、プラスミドもしくはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌などの微生物；酵母発現ベクターで形質転換された酵母；ウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系；ウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、CaMV；タバコモザイクウイルス、TMV；）もしくは細菌発現ベクター（例えば、TiもしくはpBR322プラスミド）で形質転換された植物細胞系；または動物細胞系が挙げられる。

40

【0155】

ペプチド、ポリペプチドまたは融合タンパク質（以下、「産物」と称される）を宿主細胞中で発現させるために、以下のような手順を使用することができる。前記産物をコード

50

するDNA配列を含有する制限断片を、宿主細胞で機能する複製起点および適切な選択可能マーカを含有する適切な組換えプラスミドにクローニングすることができる。プラスミドは、産物の誘導性発現用のプロモータ（例えば、pTrc (Amann et al, Gene 69 (1988), 301-315) および pET1-Id (Studier et al., Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990), 60-89) を含むことができる。組換えプラスミドを、例えば、エレクトロポレーションによって宿主細胞に導入することができ、組換えプラスミドを含有する細胞を、プラスミド上のマーカについて選択することによって特定することができる。産物に対して特異的なアッセイを使用して、産物の発現を宿主細胞で誘導および検出することができる。

10

【0156】

いくつかの実施形態では、産物/ペプチドをコードするDNAを宿主細胞での発現のために最適化することができる。例えば、DNAは、1つ以上のアミノ酸に対するコドンであって、この同じアミノ酸に対する他のコドンと比べて宿主細胞において優勢なコドンを含むことができる。

【0157】

あるいは、産物の発現は、無細胞抽出物中でのインビトロタンパク質合成によって実施することができ、これは、機能的な研究のための改変または非天然アミノ酸の導入にも特に適している（下記も参照のこと）。過剰発現産物が宿主細胞に対して毒性である場合、産物が不溶性であるかまたは封入体を形成する場合、またはタンパク質が細胞内プロテアーゼによって急速なタンパク質分解を受ける場合、インビトロ翻訳系の使用は、インビボ遺伝子発現よりも利点を有し得る。最も頻繁に使用される無細胞翻訳系は、ウサギ網状赤血球、コムギ胚芽および大腸菌由来の抽出物からなる。すべてが、外因性RNAの翻訳に必要なすべての高分子成分（70Sまたは80Sリボソーム、tRNA、アミノアシルtRNA合成酵素、開始、伸長および終結因子など）を含む粗抽出物として調製される。効率的な翻訳を確実にするためには、アミノ酸、エネルギー源（ATP、GTP）、エネルギー再生系（真核生物系の場合にはクレアチンリン酸およびクレアチンホスホキナーゼ、ならびに大腸菌溶解物の場合にはホスホエノールピルビン酸およびピルビン酸キナーゼ）、および当技術分野において公知の他の補因子（ Mg^{2+} 、 K^{+} など）を各抽出物に補充しなければならない。適切な転写/翻訳系は、例えば、Promega Corporation、Roche Diagnostics、およびAmbion、すなわち、Applied Biosystemsから市販されている（Anderson, C. et al., Meth. Enzymol. 101 (1983), 635-644; Arduengo, M. et al. (2007), The Role of Cell-Free Rabbit Reticulocyte Expression Systems in Functional Proteomics in, Kudlicki, Katzen and Bennett eds., Cell-Free Expression Vol. 2007. Austin, TX: Landes Bioscience, pp. 1-18; Chen and Zubay, Meth. Enzymol. 101 (1983), 674-90; Ezure et al., Biotechnol. Prog. 22 (2006), 1570-1577)。

20

30

40

【0158】

宿主細胞：

本発明に関して、宿主細胞は、細菌、昆虫、真菌、植物、動物またはヒト細胞などの原核細胞または真核細胞であり得る。好ましい真菌細胞は、例えば、サッカロマイセス属のもの、特に、S. セレビス工種のものである。用語「原核生物の」は、本発明の抗体または対応する免疫グロブリン鎖の発現のためのDNAまたはRNA分子で形質転換またはトランスフェクトされ得るすべての細菌を含むことを意味する。原核生物宿主としては、例えば、大腸菌 (E. coli)、ネズミチフス菌、セラチア・マルセッセンスおよび枯草

50

菌などのグラム陰性ならびにグラム陽性細菌が挙げられ得る。用語「真核生物の」は、酵母、高等植物、昆虫および好ましくは哺乳動物細胞、最も好ましくはHEK293、NSO、CSOおよびCHO細胞を含むことを意味する。組換え生産手順で用いられる宿主に応じて、本発明のポリヌクレオチドによってコードされる抗体または免疫グロブリン鎖は、グリコシル化され得るか、または非グリコシル化され得る。本発明の抗体、または対応する免疫グロブリン鎖も、最初のメチオニンアミノ酸残基を含み得る。本発明のポリヌクレオチドは、当業者に一般に公知の技術のいずれかを使用して、宿主を形質転換またはトランスフェクトするのに使用され得る。さらに、機能的に連結された融合遺伝子を調製し、それらを、例えば、哺乳動物細胞および細菌で発現させるための方法は、当技術分野において周知である(Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1989)。そこに記載されている遺伝子構築物および方法は、真核生物または原核生物の宿主における本発明の抗体または対応する免疫グロブリン鎖の発現に用いられ得る。一般に、挿入されたポリヌクレオチドの効率的な転写を促進するプロモータ配列を含有する発現ベクターが、宿主と併せて使用される。発現ベクターは、典型的には、複製起点、プロモータ、およびターミネータ、ならびに形質転換細胞の表現型選択を提供することができる特定の遺伝子を含む。DNA配列に適切な細胞源ならびに免疫グロブリンの発現および分泌用の宿主細胞は、American Type Culture Collection(「Catalogue of Cell Lines and Hybridomas」, Fifth edition(1985) Rockville, Maryland, U.S.A.(これは、参照により本明細書に組み込まれる))などの多数の供給源から得ることができる。さらに、本発明の細胞を含むトランスジェニック動物、好ましくは哺乳動物は、本発明の抗体の大規模生産に使用され得る。

【0159】

発酵槽で形質転換宿主を成長させ、当技術分野において公知の技術にしたがって培養して、最適な細胞成長を達成し得る。発現されたら、本発明の全抗体、それらの二量体、個々の軽鎖および重鎖、または他の免疫グロブリン形態を、硫酸アンモニウム沈降法、アフィニティカラム、カラムクロマトグラフィ、ゲル電気泳動などを含む当技術分野の標準手順にしたがって精製し得る; Scopes, 「Protein Purification」, Springer Verlag, N.Y.(1982)を参照のこと。次いで、本発明の抗体またはその対応する免疫グロブリン鎖を、成長培地、細胞溶解物、または細胞膜画分から単離し得る。例えば、本発明の組換え発現された抗体または免疫グロブリン鎖の単離および精製は、任意の従来手段、例えば、本発明の抗体の定常領域に対するモノクローナルまたはポリクローナル抗体の使用を含むものなどの分取クロマトグラフィ分離および免疫学的分離によるものであり得る。例えば、薬物標的化およびイメージング用途のために、本発明の抗体を他の部分にさらにカップリングし得ることは、当業者に明らかである。結合部位に対する抗体または抗原の発現後にこのようなカップリングを化学的に行ってもよいし、またはカップリング産物をDNAレベルで本発明の抗体または抗原に人為操作してもよい。次いで、DNAを適切な宿主系で発現させ、必要な場合、発現タンパク質を収集および変性させる。

【0160】

医薬用途の場合、少なくとも約90~95%の同質性の実質的に純粋な免疫グロブリンが好ましく、98~99%またはそれ以上の同質性が最も好ましい。部分的にまたは所望により同質性まで精製したら、次いで、抗体を治療的(体外的を含む)に使用してもよいし、またはアッセイ手順の開発および実施に使用してもよい。

【0161】

本発明はまた、本発明の抗体またはその対応する免疫グロブリン鎖を発現することができる細胞を生産するための方法であって、本発明のポリヌクレオチドまたはベクターを用いて、細胞を遺伝子操作することを含む方法に関する。本発明の方法によって得ることが

できる細胞は、例えば、本発明の抗体とその抗原との相互作用を試験するのに使用され得る。

【0162】

E L I S A アッセイ :

様々な抗原のための酵素結合免疫吸着検定法 (E L I S A) としては、比色分析、化学発光および蛍光測定ベースのものが挙げられる。E L I S A は、薬物、ならびに血漿および尿試料中の他の抗原性成分が低量の検出に上手く適用されており、抽出工程を伴わず、実施が簡単である。タンパク質抗原に対する抗体の検出のための E L I S A では、短い合成ペプチドをマイクロタイタープレートのプラスチック表面に直接結合する使用が多い。ペプチドは、一般に、それらの合成的性質および高速液体クロマトグラフィを使用した効率的な精製方法により非常に純粋である。短いペプチドの欠点は、それらが通常は、立体構造または不連続エピトープではなく直鎖状エピトープを表すことである。立体構造エピトープを提示するためには、長いペプチドまたは完全な天然タンパク質のいずれかを使用する。タンパク質抗原をプレートの疎水性ポリスチレン支持体に直接結合すると、結合したタンパク質が部分的または完全に変性し、立体構造エピトープが失われ得る。抗原の固定化 (捕捉 E L I S A) を媒介する抗体でプレートをコーティングすることにより、この影響を回避することができる。

10

【0163】

しかしながら、多くの場合、過剰発現された組換えタンパク質は不溶性であり、立体構造エピトープに対する抗体を分析しようとする場合には変性条件下での精製および復元を必要とする。例えば、コートタンパク質として組換え融合タンパク質を使用した一般的な E L I S A については、米国特許出願公開第 2 0 0 3 0 0 4 4 8 7 0 号明細書を参照のこと。

20

【0164】

結合分子 :

「結合分子」は、本発明との関連で使用される際には、主に抗体およびその断片に関連し、しかし、本発明の「目的とする分子」に結合する他の非抗体分子もまた指すことがあり、この場合、目的とする分子は、サイトカインとして知られている糖タンパク質のクラスタンパク質であり、具体的には、種々の I F N - サブタイプの群から選択されるインターフェロンである。本発明の目的とする分子は、上記および下記における本発明の特定の実施形態の記載の範囲内においてさらに詳しく定義される。本発明の結合分子には、ホルモン、受容体、リガンド、主要組織適合性複合体 (M H C) 分子、シャペロン (例えば、熱ショックタンパク質 (H S P) など)、ならびに、細胞間接着分子 (例えば、カドヘリンスーパーファミリー、インテグリンスーパーファミリー、C 型レクチンスーパーファミリーおよび免疫グロブリン (I g) スーパーファミリーのメンバーなど) が含まれるが、これらに限定されない。したがって、明瞭性だけのために、また、本発明の範囲を限定することなく、下記の実施形態のほとんどが、治療剤および診断剤を開発するための好ましい結合分子を代表する抗体および抗体様分子に関して議論される。

30

【0165】

抗体 :

用語「抗体」および「免疫グロブリン」は、本明細書では互換的に使用される。抗体または免疫グロブリンは、上記および下記に定義される本発明の目的の分子に結合する分子であって、少なくとも重鎖の可変ドメインを含み、通常、少なくとも重鎖および軽鎖の可変ドメインを含む分子である。脊椎動物系における基本的な免疫グロブリンの構造は、比較的よく理解されている ; 例えば、Harlow and Lane, Antibodies : A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988) を参照のこと。用語「結合する」および「認識する」は、本発明の結合分子 (例えば、抗体) の結合親和性に関して互換的に使用される。

40

【0166】

50

上記および下記に定義されているように、目的の分子に特異的に結合するのに十分な構造を含む任意の抗体または免疫グロブリン断片は、本明細書では、「結合分子」、「結合断片」または「免疫特異的断片」と互換的に表される。

【0167】

本発明の抗体またはその抗原結合断片、免疫特異的断片、変異体もしくは誘導体としては、限定されないが、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、多重特異的抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、霊長類化抗体、マウス化抗体またはキメラ抗体、単鎖抗体、エピトープ結合断片、例えば、Fab、Fab'およびF(ab')₂、Fd、Fv、単鎖Fv(scFv)、単鎖抗体、ジスルフィド結合Fv(sdFv)、V_LドメインまたはV_Hドメインのいずれかを含む断片、Fab発現ライブラリによって生産された断片、ならびに抗イデオタイプ(抗Id)抗体(例えば、本明細書で開示される抗体に対する抗Id抗体を含む)が挙げられる。ScFv分子は当技術分野において公知であり、例えば、米国特許第5,892,019号明細書に記載されている。これに関して、抗体の抗原結合断片は、単ドメイン抗体(sdAB)またはnanobodies(商標)(Ablynx, Gent, Belgium)としても公知のドメイン抗体(dAb)でもあり得る。例えば、De Haard et al., J. Bacteriol. 187(2005), 4531-4541; Holt et al., Trends Biotechnol. 21(2003), 484-490を参照のこと。以下により詳細に議論されるように、用語「免疫グロブリン」は、生化学的に区別することができる様々な広いクラスのポリペプチドを含む。当業者であれば、重鎖はガンマ、ミュー、アルファ、デルタまたはイプシロン(、μ、、)に分類され、それらの中にいくつかのサブクラスがある(例えば、1~4)ことを認識するであろう。この鎖の性質が抗体の「クラス」をそれぞれIgG、IgE、IgM、IgD、IgAおよびIgYと決定するものである。免疫グロブリンサブクラス(アイソタイプ)、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1などはよく特徴付けられており、機能分化を付与することが公知である。本発明の免疫グロブリンまたは抗体分子は、任意の種類(例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgAおよびIgY)、クラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2など)またはサブクラスの免疫グロブリン分子であり得る。当業者であれば、本開示を考慮して、これらのクラスおよびアイソタイプのそれぞれの改変型を容易に識別可能であり、したがってこれらは本発明の範囲内である。すべての免疫グロブリンのクラスが明らかに本発明の範囲内にあるが、以下の議論は、一般に、IgGクラスの免疫グロブリン分子を対象とする。IgGに関して、標準的な免疫グロブリン分子は、分子量約23,000ダルトンの2つの同一の軽鎖ポリペプチド、および分子量53,000~70,000の2つの同一の重鎖ポリペプチドを含む。典型的には、4本の鎖がジスルフィド結合によって「Y」構造で結合され、ここで、「Y」の入り口で始まり可変領域を通じて継続する重鎖と軽鎖がひとまとまりに繋がっている。

【0168】

上記の表1に列記される本発明の例示的な抗IFN-抗体の分類から明白であるように、本発明の例示的抗体はIgG1クラスのものであり、このことから、調節性T細胞応答および/または上皮が場合によっては、これらのAIRE欠乏状態におけるそれらの開始において暗示される。これらの知見が、Karner他によってClin. Exp. Immunol. (2012) (doi: 10.1111/cei.12024)に記載されるAIRE欠損マウスにおいて見出される対応する自己抗体の分類によって確認される(その開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる)。したがって、本発明の好ましい実施形態において、本発明の抗体はIgGタイプのものであり、一層より好ましくはIgG1である。

【0169】

IgGの構造:

軽鎖は、カッパまたはラムダ(、)のいずれかに分類される。各重鎖クラスは、カッパまたはラムダ軽鎖のいずれかと結合することができる。一般に、ハイブリドーマ、B

10

20

30

40

50

細胞または遺伝子操作した宿主細胞のいずれかによって免疫グロブリンが産生される場合、軽鎖および重鎖は互いに共有結合し、2本の重鎖の「テール」部分は共有結合性ジスルフィド結合または非共有結合によって互いに結合する。重鎖では、アミノ酸配列は、Y構造のフォークヘッド末端にあるN末端から各鎖の下部にあるC末端へと延びている。

【0170】

軽鎖および重鎖の両方が、構造的および機能的相同性の領域に分けられる。用語「定常」および「可変」は、機能的に使用される。これに関して、軽鎖部分および重鎖部分の両方の可変ドメイン (V_L および V_H) は、抗原認識および抗原特異性を決定することが認識されよう。反対に、軽鎖の定常ドメイン (C_L) および重鎖の定常ドメイン (CH_1 、 CH_2 または CH_3) は、分泌、経胎盤移動性、Fc受容体結合、補体結合などの重要な生物学的特性を付与する。慣例では、定常領域ドメインが抗体の抗原結合部位またはアミノ末端から遠ざかるにつれて、定常領域ドメインのナンバリングが増加する。N末端部分は可変領域であり、定常領域はC末端部分にある； CH_3 および C_L ドメインは、実際には、それぞれ重鎖および軽鎖のカルボキシ末端を含む。

10

【0171】

上記のように、可変領域は、抗体が抗原上のエピトープを選択的に認識し、特異的に結合することを可能にする。すなわち、抗体の V_L ドメインおよび V_H ドメインまたは相補性決定領域 (CDR) のサブセットが組み合わさって、三次元の抗原結合部位を規定する可変領域を形成する。この四要素の抗体構造が、Yの各アームの末端に存在する抗原結合部位を形成する。より具体的には、抗原結合部位は、 V_H 鎖および V_L 鎖それぞれの3つのCDRによって規定される。本発明の目的の分子に特異的に結合するのに十分な構造を含有する任意の抗体または免疫グロブリン断片は、本明細書では「結合断片」または「免疫特異的断片」と互換的に表される。

20

【0172】

天然に存在する抗体では、抗体は、各抗原結合ドメイン中に存在する「相補性決定領域」または「CDR」とも称される6つの超可変領域を含み、それらは、水性環境での抗体の三次元構造を想定して、抗原結合ドメインを形成するように特別に配置されている短い非連続的なアミノ酸配列である。「CDR」は、より少ない分子間の多様性を示す4つの比較的保存された「フレームワーク」領域または「FR」に隣接する。フレームワーク領域は主としてシート立体構造をとり、CDRは、シート構造と連結し、いくつかの場合では、その一部を形成するループを形成する。したがって、フレームワーク領域は、鎖間非共有結合性相互作用によってCDRの正しい方向での配置を提供する足場を形成するように作用する。配置されたCDRによって形成された抗原結合ドメインは、免疫反応性抗原上のエピトープに対して相補的な表面を規定する。この相補性表面は、抗体のその同種エピトープへの非共有結合を促進する。それぞれCDRおよびフレームワーク領域を含むアミノ酸は、正確に定義されているので、当業者であれば、任意の所定の重鎖または軽鎖可変領域についてそれらを容易に同定することができる；「Sequences of Proteins of Immunological Interest」, Kabat, E., et al., U.S. Department of Health and Human Services, (1983); および Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196 (1987), 901-917 (これらは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる) を参照のこと。

30

40

【0173】

当技術分野において使用されており、および/または認められている用語の定義が2つ以上ある場合、本明細書で使用される用語の定義は、特に明確な反対の指定がない限り、すべてのこのような意味を含むことを意図する。具体例は、重鎖および軽鎖ポリペプチドの両方の可変領域内に見られる非連続的な抗原結合部位を説明する用語「相補性決定領域」(「CDR」)の使用である。この特定の領域は、Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, 「Sequences of Proteins of Immunological Inter

50

est」(1983)およびChothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196(1987), 901-917(これらは、参照により本明細書に組み込まれる)によって記載されており、ここで、これらの定義は、互いに比較するとアミノ酸残基のオーバーラップまたはサブセットを含む。それにもかかわらず、抗体またはその変異体のCDRを指すいずれかの定義の適用は、本明細書で定義および使用される用語の範囲内にあることを意図する。上記で引用した各参考文献によって定義されるCDRを包含する適切なアミノ酸残基を、比較として以下の表2に示す。特定のCDRを包含する正確な残基数は、CDRの配列およびサイズに応じて変化する。当業者であれば、どの残基がヒトIgGサブタイプの抗体の特定の超可変領域またはCDRを含むかを、その抗体の可変領域のアミノ酸配列を考慮してルーチンに決定することができる。

【0174】

表2：CDRの定義¹

【表2】

	K a b a t	C h o t h i a
VH CDR1	31-35	26-32
VH CDR2	50-65	52-58
VH CDR3	95-102	95-102
VL CDR1	24-34	26-32
VL CDR2	50-56	50-52
VL CDR3	89-97	91-96

¹ 表2におけるすべてのCDR定義の番号表記は、K a b a t他によって示される番号表記慣例に従う(下記を参照のこと)。

【0175】

K a b a tらはまた、任意の抗体に適用可能な可変ドメイン配列のナンバリングシステムを定義した。当業者であれば、配列それ自体以外のいかなる実験データにも頼ることなく、任意の可変ドメイン配列にこの「K a b a tナンバリング」システムを明確に割り当てることができる。本明細書で使用される場合、「K a b a tナンバリング」は、K a b a t et al., U. S. Dept. of Health and Human Services, 「Sequence of Proteins of Immunological Interest」(1983)によって示されるナンバリングシステムを指す。特に明記されない限り、本発明の抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体における特定のアミノ酸残基の位置のナンバリングについての言及は、K a b a tナンバリングシステムに従うものであるが、それは理論上のものであり、本発明のあらゆる抗体に等しく適用することはできない。例えば、最初のCDRの位置に応じて、以降のCDRがいずれかの方向にシフトする場合がある。

【0176】

一実施形態では、本発明の抗体は、IgMまたは5価構造を有するその誘導体ではない。特に、本発明の特定の用途、特に治療用途では、IgMは、その5価構造および親和性成熟の欠如のために非特異的な交差反応性および非常に低い親和性を示すことが多いので、IgMは、IgGおよび他の2価抗体または対応する結合分子よりも有用ではない。

【0177】

特に好ましい実施形態では、本発明の抗体は、ポリクローナル抗体ではない。すなわち、それは、血漿免疫グロブリン試料から得られる混合物ではなく1つの特定の抗体種から実質的になる。

【0178】

抗体断片、動物化：

単鎖抗体を含む抗体断片は、可変領域を単独で、または以下のものの全部もしくは一部

10

20

30

40

50

と組み合わせることができる：ヒンジ領域、C H 1、C H 2 および C H 3 ドメイン。本発明の目的の分子に結合する断片であって、可変領域と、ヒンジ領域、C H 1、C H 2 および C H 3 ドメインとの任意の組み合わせをまた含む断片も本発明に含まれる。本発明の方法にしたがって単離されたモノクローナル抗体、特にヒトモノクローナル抗体と同等の本発明の抗体またはその免疫特異的断片は、鳥類および哺乳動物を含む任意の動物起源であり得る。好ましくは、抗体は、ヒト、マウス、ロバ、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、リヤマ、ウマまたはニワトリ抗体である。別の実施形態では、可変領域は、起源がコンドリクトイド（例えば、サメ由来）であり得る。

【0179】

本発明の特に好ましい実施形態において、抗体は、ヒト被験体からクローン化される天然に産出するヒトモノクローナル抗体またはその結合断片、誘導体および変異体であり、ただし、これらは、上記および下記において、例えば、表1、図（具体的には図1～図4）および実施例（例えば、実施例2および実施例6）において詳しく定義されるように本発明の特定のIFN サブタイプに特異的に結合するものである。

【0180】

場合により、ヒト抗体のフレームワーク領域がデータベースにおける該当するヒト生殖系列可変領域配列に従ってアライメントされ、また、取り入れられる；例えば、MRC Centre for Protein Engineering (Cambridge、英国)によって提供されるVbase (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>)を参照のこと。例えば、真の生殖系列配列から潜在的に逸脱すると見なされるアミノ酸は、クローニング過程の期間中に組み込まれるPCRプライマー配列に起因し得ると思われる。人為的に作製されたヒト様抗体、例えば、ファージディスプレイされた抗体ライブラリまたは異種マウスに由来する単鎖抗体断片(s c F v)などと比較した場合、本発明のヒトモノクローナル抗体は、(i)代理動物の免疫応答ではなく、むしろ、ヒトの免疫応答を使用して得られること、すなわち、抗体が、ヒト体内におけるその関連する立体配座における天然型IFN サブタイプに対する応答で作製されていること、(ii)個体を疾患(例えば、SLE)の症状の存在から保護しているか、または、疾患(例えば、SLE)の症状の存在を少なくとも有意に最小限に抑えていること、そして、(iii)抗体がヒト起源であるので、自己抗原に対する交差反応性の危険性が最小限に抑えられることによって特徴づけられる。したがって、本発明によれば、用語「ヒトモノクローナル抗体」、用語「ヒトモノクローナル自己抗体」および用語「ヒト抗体」などは、ヒト起源のものである特定のIFN - サブタイプ特異性のIFN - 結合分子を示すために、すなわち、ヒト細胞(例えば、B細胞またはそのハイブリドーマなど)から単離されているか、あるいは、cDNAがヒト細胞(例えば、ヒトメモリーB細胞)のmRNAから直接にクローン化されている特定のIFN - サブタイプ特異性のIFN - 結合分子を示すために使用される。ヒト抗体は、アミノ酸置換がたとえ、例えば、その結合特徴を改善するために、当該抗体において行われるにしても、依然として「ヒト」であると見なされる。

【0181】

下記の、および例えば、Kucherlapatiらによる米国特許第5,939,598号明細書に記載されているように、ヒト免疫グロブリンライブラリ由来の抗体、または内在性免疫グロブリンを発現しない1つ以上のヒト免疫グロブリンについてトランスジェニックな動物由来の抗体は、それらを本発明の真のヒト抗体から区別するためにヒト様抗体と表される。

【0182】

例えば、典型的にはファージディスプレイから単離された合成および半合成抗体などのヒト様抗体の重鎖および軽鎖の対合は、それらが元のヒトB細胞で生じたような元の対合を必ずしも反映しない。したがって、従来技術で一般的に使用されている組換え発現ライブラリから得られたFabおよびs c F v断片は、免疫原性および安定性に対するすべての可能な関連効果に関して人工的であるとみなされ得る。

10

20

30

40

50

【0183】

対照的に、本発明は、ヒトにおけるその治療有用性を特徴とする、選択されたヒト被験体から単離された親和性成熟抗体を提供する。

【0184】

移植抗体（等価物）

本発明はまた、それぞれ抗IFN-抗体などの本発明の抗体由来のCDRを含む移植抗体（互換的に、等価物と称される）を提供する。このような移植CDRとしては、本発明の抗体のCDRが移植されたか、または1つ以上のアミノ酸置換を含むCDRが移植される動物化抗体が挙げられる。CDRは、上記のように、ヒトフレームワークまたは動物起源由来の抗体フレームワークに直接移植され得る。所望により、フレームワークライブラリを作製することによって、フレームワーク変化も組み込まれ得る。以下により詳細に記載されるように、CDRおよび/またはフレームワーク配列の最適化を独立しておよび連続的に組み合わせることもできるし、または同時に実施することもできる。

10

【0185】

移植抗体を作製するために、本発明の抗体のドナーCDRを、抗体アクセプタ可変領域フレームワークに移植する。活性を最適化するために抗体を移植してCDR変異体作製するための方法は、以前に記載されている（例えば、国際公開第98/33919号；国際公開第00/78815号；国際公開第01/27160号を参照のこと）。この手順を実施して、ドナーCDRの移植および親和性の再獲得を同時プロセスで達成し得る。可変領域の結合親和性を改変または最適化するために、この方法を単独でまたはCDR移植と組み合わせる同様に使用することができる。ドナーCDRの結合親和性をアクセプタ可変領域に付与するための方法は、重鎖および軽鎖可変領域の両方に適用可能であり、それ自体を使用して抗体可変領域を移植し、それと同時に抗体可変領域の結合親和性を最適化することができる。

20

【0186】

ドナーCDR内の全位置または選択位置に複数の異なるアミノ酸残基変化を含むように、ドナーCDRを改変することができる。CDR種の様々な集団を生産するために、例えば、20種の天然に存在するアミノ酸残基または予め選択されたサブセットのランダムな組み込みまたは偏った組み込みをドナーCDRに導入することができる。CDR変異体種を可変領域の様々な集団に含めることにより、所定の抗原に対して最適化された結合親和性を示す変異体種の作製が可能になる。一定範囲の可能な変化をドナーCDRの位置で行うことができる。変化のために選択され得る可能な変化の一部または全部を、移植ドナーCDRの集団に導入することができる。変化を導入するためにCDR内の単一位置を選択することもできるし、またはアミノ酸を改変した様々な位置が組み合わせる活性についてスクリーニングすることもできる。

30

【0187】

1つのアプローチは、例えば、全20種の天然に存在するアミノ酸を各位置で置換することによって、CDRに沿ってすべてのアミノ酸位置を変化させることである。CDRの大部分が基準のドナーCDR配列を維持し、したがってドナーCDRの結合親和性を維持するように、他のドナーCDRアミノ酸位置との関連で各位置の置換を行うことができる。例えば、アクセプタ可変領域フレームワーク（天然または改変フレームワークのいずれか）に、CDR内の各位置に単一位置の置換を含むCDRの集団を移植することができる。同様に、全20種のアミノ酸残基またはアミノ酸のサブセットを組み込むように変化させた2個以上の位置を含むCDRの集団による移植のために、アクセプタ可変領域フレームワークを標的とすることができる。移植すべきCDR内またはCDR群内の1つ以上のアミノ酸位置を改変し、アクセプタ可変領域フレームワークに移植して移植抗体の集団を作製することができる。1つ以上の改変位置を有するCDRは、所望により、1つ以上の改変位置を有する1つ以上の他のCDRと組み合わせることができると理解される。

40

【0188】

1つ以上の改変位置を有するCDR変異体種の集団を、可変領域の結合ポケットを構成

50

するCDRのいずれかまたはすべてと組み合わせることができる。したがって、重鎖または軽鎖における1つ、2つまたは全3つのレシピエントCDR位置にドナーCDR変異体集団を同時に組み込むために、アクセプタ可変領域フレームワークを標的とすることができる。アミノ酸位置変化で標的とするためのCDRまたはCDRの数の選択は、例えば、アクセプタへの完全なCDR移植が望ましいか、または結合親和性の最適化のためにこの方法が実施されるかに依存するであろう。

【0189】

ドナーCDRの結合親和性を抗体アクセプタ可変領域フレームワークに付与するために変化のためのドナーCDRアミノ酸を選択するための別のアプローチは、公知のまたは容易に同定可能なCDR位置であって非常に変わりやすいものを選択することである。例えば、可変領域CDR3は、一般に、非常に変わりやすい。したがって、結合親和性の再獲得もしくは増強を単独でまたは関連アクセプタ可変フレームワーク変化と一緒に確実にする移植手順では、この領域をアミノ酸位置変化の選択的な標的とすることができる。

10

【0190】

マウス化抗体：

上記のように、移植によって作製される抗体の例は、マウス化抗体である。本明細書で使用される場合、用語「マウス化抗体」または「マウス化免疫グロブリン」は、本発明のヒト抗体由来の1つ以上のCDR、およびマウス抗体配列に基づくアミノ酸置換および/または欠失および/または挿入を含有するヒトフレームワーク領域を含む抗体を指す。CDRを提供するヒト免疫グロブリンは「親」または「アクセプタ」と称され、フレームワーク変化をもたらすマウス抗体は「ドナー」と称される。定常領域は存在する必要がないが、存在する場合、それらは、通常、マウス抗体の定常領域と実質的に同一、すなわち、少なくとも約85~90%、好ましくは約95%またはそれ以上同一である。したがって、いくつかの実施形態では、全長マウス化ヒト重鎖免疫グロブリンまたは軽鎖免疫グロブリンは、マウス定常領域、ヒトCDR、および多数の「マウス化」アミノ酸置換を有する実質的にヒトのフレームワークを含有する。典型的には、「マウス化抗体」は、マウス化可変軽鎖および/またはマウス化可変重鎖を含む抗体である。例えば、キメラ抗体の可変領域全体は非マウスであるため、マウス化抗体は典型的なキメラ抗体を包含しないであろう。「マウス化」の工程によって「マウス化」された改変抗体は、CDRを提供する親抗体と同じ抗原に結合し、マウスでは親抗体と比較して免疫原性が通常低い。

20

30

【0191】

抗体断片：

本明細書で使用される場合、用語「重鎖部分」は、免疫グロブリン重鎖に由来するアミノ酸配列を含む。重鎖部分を含むポリペプチドは、CH1ドメイン、ヒンジ（例えば、上部、中部および/または下部ヒンジ領域）ドメイン、CH2ドメイン、CH3ドメインまたはその変異体もしくは断片の少なくとも1つを含む。例えば、本発明に使用される結合ポリペプチドは、CH1ドメインを含むポリペプチド鎖；CH1ドメイン、ヒンジドメインの少なくとも一部およびCH2ドメインを含むポリペプチド鎖；CH1ドメインおよびCH3ドメインを含むポリペプチド鎖；CH1ドメイン、ヒンジドメインの少なくとも一部およびCH3ドメインを含むポリペプチド鎖、またはCH1ドメイン、ヒンジドメインの少なくとも一部、CH2ドメインおよびCH3ドメインを含むポリペプチド鎖を含むことができる。別の実施形態では、本発明のポリペプチドは、CH3ドメインを含むポリペプチド鎖を含む。さらに、本発明に使用される結合ポリペプチドは、CH2ドメインの少なくとも一部（例えば、CH2ドメインの全部または一部）を欠くことができる。上記のように、当業者であれば、これらのドメイン（例えば、重鎖部分）のアミノ酸配列が天然に存在する免疫グロブリン分子と異なるように、これらのドメインを改変することができるであろう。

40

【0192】

本明細書で開示される特定の抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体では、多量体の1つのポリペプチド鎖の重鎖部分は、多量体の第2のポリペプチド鎖上の重鎖

50

部分と同一である。あるいは、本発明の重鎖部分含有単量体は同一ではない。例えば、各単量体は、異なる標的結合部位を含むことができ、例えば、二重特異性抗体または二特異性抗体を形成する。

【0193】

別の実施形態では、本明細書で開示される抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、s c F vなどの単一ポリペプチド鎖から構成され、潜在的なインビボ治療用途および診断用途のために細胞内に発現され得る（細胞内抗体）。

【0194】

本明細書で開示される診断方法および治療方法に使用される結合ポリペプチドの重鎖部分は、様々な免疫グロブリン分子に由来し得る。例えば、ポリペプチドの重鎖部分は、I g G 1分子に由来するC H 1ドメイン、およびI g G 3分子に由来するヒンジ領域を含むことができる。別の例では、重鎖部分は、I g G 1分子に部分的に由来するヒンジ領域、およびI g G 3分子に部分的に由来するヒンジ領域を含むことができる。別の例では、重鎖部分は、I g G 1分子に部分的に由来するキメラヒンジ、およびI g G 4分子に部分的に由来するキメラヒンジを含むことができる。

10

【0195】

したがって、実施例にも例示されているように、一実施形態では、本発明の抗体の定常領域またはその一部、特にC H 2および/またはC H 3ドメイン、しかし場合によりC H 1ドメインは、本発明の方法にしたがって単離されたネイティブなヒトモノクローナル抗体の可変領域に対して異種性である。本文脈では、異種定常領域は、本発明の抗体の治療用途の場合には、好ましくはヒト起源のものであるが、動物研究の場合には、例えば齧歯類起源のものであり得る（実施例も参照のこと）。

20

【0196】

本明細書で使用される場合、用語「軽鎖部分」は、免疫グロブリン軽鎖由来のアミノ酸配列を含む。好ましくは、軽鎖部分は、V_LまたはC_Lドメインの少なくとも1つを含む。

【0197】

先に示したように、様々な免疫グロブリンクラスの定常領域のサブユニット構造および三次元構造が周知である。本明細書で使用される場合、用語「V_Hドメイン」は免疫グロブリン重鎖のアミノ末端可変ドメインを含み、用語「C H 1ドメイン」は免疫グロブリン重鎖の第1の（最もアミノ末端の）定常領域ドメインを含む。C H 1ドメインはV_Hドメインに隣接し、免疫グロブリン重鎖分子のヒンジ領域に対してアミノ末端側にある。

30

【0198】

本明細書で使用される場合、用語「C H 2ドメイン」は、例えば、従来のナンバリングスキームを使用すれば抗体の約残基244～残基360（K a b a tナンバリングシステムでは残基244～360；およびE Uナンバリングシステムでは残基231～340、K a b a t E A e t a l . 前掲書を参照のこと）に及ぶ重鎖分子の部分を含む。C H 2ドメインは、別のドメインと密接に対合していないという点が固有である。どちらかといえば、2つのN-結合分岐状炭水化物鎖が、インタクトな天然I g G分子の2つのC H 2ドメイン間に挿入される。C H 3ドメインはC H 2ドメインからI g G分子のC末端に及び、約108個の残基を含むこともまた詳細に記載されている。

40

【0199】

本明細書で使用される場合、用語「ヒンジ領域」は、C H 1ドメインをC H 2ドメインに結合する重鎖分子の部分を含む。このヒンジ領域は約25個の残基を含み、柔軟であり、したがって2つのN末端抗原結合領域が独立して動くことを可能にする。ヒンジ領域を3つの異なるドメイン：上部、中部および下部ヒンジドメインに細分化することができる；R o u x e t a l . , J . I m m u n o l . 1 6 1 (1 9 9 8) , 4 0 8 3 を参照のこと。

【0200】

本明細書で使用される場合、用語「ジスルフィド結合」は、2個の硫黄原子間に形成さ

50

れる共有結合を含む。アミノ酸システインは、ジスルフィド結合を形成することができるか、または第2のチオール基と架橋することができるチオール基を含む。天然に存在するIgG分子の大部分では、CH1およびCL領域はジスルフィド結合によって連結され、2本の重鎖は、Kabatナンバリングシステムを使用すれば239位および242位に対応する位置で（EUナンバリングシステムでは、226位または229位）2つのジスルフィド結合によって連結される。

【0201】

本明細書中で使用される場合、用語「連結される」、「融合される」または「融合」は交換可能に使用される。これらの用語は、化学的コンジュゲート化または組換え手段を含むどのような手段によってでも、2つ以上の要素または成分を一緒につなぐことを示す。

「読み枠を合わせた融合」は、2つ以上のポリヌクレオチドのオープンリーディングフレーム（ORF）を、これらの元々のORFの正しい翻訳読み枠を維持する様式で、連続したより長いORFを形成するためにつなぐことを示す。したがって、組換え融合タンパク質は、元々のORFによってコードされるポリペプチドに対応する2つ以上のセグメントを含有する単一タンパク質である（そのようなセグメントは通常、自然界ではそのようにつながれない）。したがって、読み枠が、融合されたセグメントの全体にわたって連続にされるにもかかわらず、これらのセグメントは、例えば、読み枠を合わせたリンカー配列によって物理的または空間的に隔てられる場合がある。例えば、免疫グロブリン可変領域のCDRをコードするポリヌクレオチドが、読み枠を合わせて融合される場合があり、しかし、「融合された」CDRが、連続したポリペプチドの一部として共翻訳される限り、少なくとも1つの免疫グロブリンフレームワーク領域またはさらなるCDR領域をコードするポリヌクレオチドによって隔てられる場合がある。したがって、1つの実施形態において、ポリヌクレオチドは、可変領域と、定常ドメインの少なくとも一部とをコードするcDNAである。1つの実施形態において、ポリヌクレオチドは、本明細書中で定義されるような本発明の抗体の可変領域および定常ドメインをコードするcDNAである。

【0202】

エピトープ：

抗体のためのペプチドまたはポリペプチドのエピトープの最小サイズは約4～5個のアミノ酸であると考えられる。ペプチドまたはポリペプチドのエピトープは好ましくは、少なくとも7個のアミノ酸を含有し、より好ましくは少なくとも9個のアミノ酸を含有し、最も好ましくは少なくとも約15～約30個の間のアミノ酸を含有する。CDRは抗原性のペプチドまたはポリペプチドをその三次形態で認識することができるので、エピトープを構成するアミノ酸は連続している必要はなく、いくつかの場合には、同じペプチド鎖に存在していないことさえある。本発明において、本発明の抗体によって認識されるペプチドまたはポリペプチドのエピトープは、抗体が2つ以上のサブタイプを認識する場合には、本発明の目的とする分子、すなわち、少なくとも1つのIFNAサブタイプ、またはそれ以外のIFNAサブタイプの相同的配列の少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、より好ましくは少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも15個、少なくとも20個、少なくとも25個、約15～約30個の間または約30～約50個の間の連続したアミノ酸または不連続なアミノ酸からなる配列を含有する。本発明の例示的抗体の19D11および26B9についてのIFNA2のエピトープのマッピング、ならびに、例示的抗体26B9についてのIFNWのエピトープのマッピングについては、図27を参照のこと。

【0203】

結合特性：

本明細書で互換的に使用される「結合する」または「認識する」は、一般に、結合分子、例えば、抗体がその抗原結合ドメインを介して所定のエピトープに結合すること、およびその結合が抗原結合ドメインとエピトープとの間のある程度の相補性を必要とすることを意味する。この定義によれば、抗体がランダムな無関係のエピトープに結合するよりも容易に、その抗原結合ドメインを介してエピトープに結合する場合、その抗体はそのエピ

トープに「特異的に結合する」と言われる。用語「特異性」は、本明細書では、ある特定の抗体がある特定のエピトープに結合する相対的親和性を特定するのに使用される。例えば、抗体「A」が抗体「B」よりも所定のエピトープに対して高い特異性を有するとみなしてもよいし、または抗体「A」が、関連エピトープ「D」に対して有するよりも高い特異性でエピトープ「C」に結合するということもできる。無関係のエピトープは、通常、所定の結合分子の結合特異性の評価に使用され得る非特異的抗原（例えば、BSA、カゼインまたは任意の他の特定のポリペプチド）の一部である。これに関して、用語「特異的結合」は、抗体が、非特異的抗原に対する結合のその K_D よりも少なくとも2倍低い K_D で、所定の抗原に結合することを指す。本明細書で使用される場合、用語「高特異的」結合は、特定の標的エピトープに対する抗体の相対 K_D が、他のリガンドに対するその抗体の結合の K_D よりも少なくとも10倍低いことを意味する。

10

【0204】

存在する場合、抗体の抗原との「免疫学的結合特性」または他の結合特性という用語は、そのすべての文法の形式で、抗体の特異性、親和性、交差反応性および他の結合特性を指す。

【0205】

「優先的に結合する」によって、結合分子、例えば、抗体が、関連したエピトープ、類似したエピトープ、相同的なエピトープまたは相似的なエピトープに結合するであろうよりも容易に、ある1つのエピトープに特異的に結合することが意味される。したがって、所与のエピトープに「優先的に結合する」抗体は、そのような抗体が関連のエピトープと交差反応することがあるとしても、そのエピトープに結合する可能性が、関連したエピトープに結合することができる場合よりも大きいであろう。特定の抗原、例えば、具体的なIFNAサブタイプなどに関しては、用語「優先的に結合する」は、結合分子が、例えば、抗体が、関連したIFNAサブタイプ、類似したIFNAサブタイプ、相同的なIFNAサブタイプまたは相似的なIFNAサブタイプに結合するであろうよりも容易に、ある1つのIFNAサブタイプに特異的に結合することを意味する。

20

【0206】

非限定的な例として、結合分子、例えば、抗体が、その抗体の第2のエピトープに対する解離定数(K_D)よりも低い K_D で第1のエピトープに結合する場合、それは第1のエピトープに選択的に結合するとみなされ得る。別の非限定的な例では、抗体が、その抗体の第2のエピトープに対する K_D よりも少なくとも1桁低い親和性で第1のエピトープに結合する場合、抗体は前記第1の抗原に選択的に結合するとみなされ得る。別の非限定的な例では、抗体が、その抗体の第2のエピトープに対する K_D よりも少なくとも2桁低い親和性で第1のエピトープに結合する場合、抗体は前記第1のエピトープに選択的に結合するとみなされ得る。

30

【0207】

別の非限定的な例では、結合分子、例えば、抗体が、その抗体の第2のエピトープに対する解離速度(k_{off})よりも低い k_{off} で第1のエピトープに結合する場合、それは第1のエピトープに選択的に結合するとみなされ得る。別の非限定的な例では、抗体が、その抗体の第2のエピトープに対する k_{off} よりも少なくとも1桁低い親和性で第1のエピトープに結合する場合、抗体は第1のエピトープに選択的に結合するとみなされ得る。別の非限定的な例では、抗体が、その抗体の第2のエピトープに対する k_{off} よりも少なくとも2桁低い親和性で第1のエピトープに結合する場合、抗体は第1のエピトープに選択的に結合するとみなされ得る。

40

【0208】

本明細書で開示される結合分子、例えば、抗体または抗原結合断片、変異体または誘導体は、 $5 \times 10^{-2} \text{秒}^{-1}$ 、 10^{-2}秒^{-1} 、 $5 \times 10^{-3} \text{秒}^{-1}$ または 10^{-3}秒^{-1} 以下の解離速度(k_{off})で、本発明の目的の分子またはその断片もしくは変異体と結合することができる。より好ましくは、本発明の抗体は、 $5 \times 10^{-4} \text{秒}^{-1}$ 、 10^{-4}秒^{-1} 、 $5 \times 10^{-5} \text{秒}^{-1}$ 、または 10^{-5}秒^{-1} 、 $5 \times 10^{-6} \text{秒}^{-1}$ 、1

50

10^{-6} 秒⁻¹、 5×10^{-7} 秒⁻¹ または 10^{-7} 秒⁻¹ 以下の解離速度 ($k(\text{off})$) で、本発明の目的の分子またはその断片もしくは変異体と結合すると言うことができる。

【0209】

本明細書で開示される結合分子、例えば、抗体または抗原結合断片、変異体または誘導体は、 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$ 、 $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$ 、 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$ または $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$ 以上の結合速度 ($k(\text{on})$) で、本発明の目的の分子またはその断片もしくは変異体と結合すると言うことができる。より好ましくは、本発明の抗体は、 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$ 、 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$ 、 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$ 、または $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$ または $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$ 以上の結合速度 ($k(\text{on})$) で、本発明の目的の分子またはその断片もしくは変異体と結合すると言うことができる。

10

【0210】

結合分子、例えば、抗体が、所定のエピトープに対する基準抗体の結合をいくらか遮断する程度にそのエピトープに選択的に結合する場合、所定のエピトープに対する基準抗体の結合を競合的に阻害すると言われる。当技術分野において公知の任意の方法、例えば、競合ELISAアッセイによって競合的阻害を判定することができる。抗体は、所定のエピトープに対する基準抗体の結合を少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%競合的に阻害すると言うことができる。

【0211】

本明細書で使用される場合、用語「親和性」は、結合分子、例えば、個々のエピトープと、免疫グロブリン分子のCDRとの結合強度の程度を指す。例えば、Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. (1988)の第27頁～第28頁を参照のこと。本明細書で使用される場合、用語「結合活性」は、免疫グロブリンの集団と抗原との間の複合体の総合的な安定性、すなわち、免疫グロブリン混合物と抗原との機能的結合強度を指す。例えば、Harlowの第29頁～第34頁を参照のこと。結合活性は、集団中の個々の免疫グロブリン分子と特異的エピトープとの親和性、およびさらに免疫グロブリンおよび抗原の結合価の両方に関連する。例えば、2価のモノクローナル抗体と、ポリマーなどの高頻度反復エピトープ構造を有する抗原との間の相互作用は、高い結合活性の1つであろう。任意の適切な方法を使用して抗原に対する抗体の親和性または結合活性を実験的に決定することができる。例えば、Berzofsky et al., 「Antibody - Antigen Interactions」In *Fundamental Immunology*, Paul, W. E., Ed., Raven Press New York, NY (1984)、Kuby, Janis *Immunology*, W. H. Freeman and Company New York, NY (1992)、および本明細書に記載される方法を参照のこと。抗原に対する抗体の親和性を測定するための一般的な技術としては、ELISA、RIAおよび表面プラズモン共鳴が挙げられる。異なる条件下(例えば、塩濃度、pH)で測定する場合、特定の抗体抗原間相互作用の測定された親和性は変化し得る。したがって、標準化した抗体抗原溶液および標準化した緩衝液を用いて、親和性および他の抗原結合パラメータ、例えば、 K_D 、 IC_{50} を測定することが好ましい。

20

30

40

【0212】

本発明の結合分子、例えば、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体はまた、それらの交差反応性に関して記載または明示され得る。本明細書で使用される場合、用語「交差反応性」は、第1の抗原に対して特異的な抗体の第2の抗原と反応する能力；2つの異なる抗原性物質間の関連性の程度を指す。したがって、抗体が、その抗体の形成を誘導したエピトープと異なるエピトープに結合する場合、その抗体は交差反応性である。交差反応性エピトープは、一般に、抗体を誘導したエピトープと同じ相補的な構造的特徴の多くを含み、いくつかの場合では、実際には元のエピトープよりも適合する可能性が

50

ある。

【0213】

例えば、ある特定の抗体が、関連するが同一ではないエピトープ、例えば、基準エピトープに対して少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも65%、少なくとも60%、少なくとも55%、および少なくとも50%の（当技術分野において公知の、および本明細書に記載される方法を使用して計算されるような）同一性を有するエピトープに結合するという点で、それらはある程度の交差反応性を有する。抗体が基準エピトープに対して95%未満、90%未満、85%未満、80%未満、75%未満、70%未満、65%未満、60%未満、55%未満、および50%未満の（当技術分野において公知の、および本明細書に記載される方法を使用して計算されるような）同一性を有するエピトープに結合しない場合、それは交差反応性をほとんど、または全く持たないと言うことができる。抗体があるエピトープの他の任意の類似体、オソログまたは相同体に結合しない場合、それはそのエピトープに対して「非常に特異的である」とみなすことができる。

10

【0214】

本発明の結合分子、例えば、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体はまた、本発明の目的の分子に対する結合親和性に関して記載または明示され得る。好ましい結合親和性には 5×10^{-2} M、 10^{-2} M、 5×10^{-3} M、 10^{-3} M、 5×10^{-4} M、 10^{-4} M、 5×10^{-5} M、 10^{-5} M、 5×10^{-6} M、 10^{-6} M、 5×10^{-7} M、 10^{-7} M、 5×10^{-8} M、 10^{-8} M、 5×10^{-9} M、 10^{-9} M、 5×10^{-10} M、 10^{-10} M、 5×10^{-11} M、 10^{-11} M、 5×10^{-12} M、 10^{-12} M、 5×10^{-13} M、 10^{-13} M、 5×10^{-14} M、 10^{-14} M、 5×10^{-15} M、または 10^{-15} M未満の解離定数または K_D を有するものが含まれる。典型的には、抗体は、 10^{-7} M以下の解離定数（ K_D ）で、その所定の抗原に結合する。好ましくは、抗体は、 10^{-9} M以下の解離定数（ K_D ）で、さらにより好ましくは 10^{-11} M以下の解離定数（ K_D ）で、その同種抗原に結合する。

20

【0215】

抗体の改変：

免疫グロブリンまたはそれをコードするcDNAをさらに改変することができる。したがって、さらなる実施形態では、本発明の方法は、キメラ抗体、ヒト化抗体、単鎖抗体、Fab断片、二重特異性抗体、融合抗体、標識抗体またはこれらのいずれか1つの類似体を生産する工程のいずれか1つを含む。対応する方法が当業者に公知であり、例えば、Harlow and Lane「Antibodies, A Laboratory Manual」, CSH Press, Cold Spring Harbor, 1988に記載されている。ファージディスプレイ技術によって前記抗体の誘導体を得る場合、本発明に提供される抗体のいずれか1つのものと同じエピトープに結合するファージ抗体の効率性を上昇させるために、BIACoreシステムにおいて用いられるように、表面プラズモン共鳴を使用することができる（Schier, Human Antibodies Hybridomas 7 (1996), 97-105; Malmborg, J. Immunol. Methods 183 (1995), 7-13）。例えば、国際公開第89/09622号には、キメラ抗体の生産が記載されている。欧州特許出願公開第0239400号明細書および国際公開第90/07861号には、ヒト化抗体の生産方法が記載されている。本発明にしたがって用いられる抗体のさらなる供給源は、いわゆるゼノジニック抗体である。例えば、国際公開第91/10741号、国際公開第94/02602号、国際公開第96/34096号および国際公開第96/33735号には、マウスにおけるヒト抗体などのゼノジニック抗体の生産についての一般的原理が記載されている。上記のように、本発明の抗体は、完全抗体の他に、例えば、Fv、FabおよびF(ab)₂を含む様々な形態で、ならびに単鎖形態で存在し得る。例えば、国際公開第88/09344号を参照のこと。

30

40

【0216】

50

当技術分野において公知の従来技術を使用して、例えば、アミノ酸の欠失、挿入、置換、付加、および/または組換えおよび/または当技術分野において公知の任意の他の改変を単独でまたは組み合わせて使用することによって、本発明の抗体またはそれらの対応する免疫グロブリン鎖をさらに改変することができる。免疫グロブリン鎖アミノ酸配列の基礎となるDNA配列にこのような改変を導入する方法は当業者に周知である；例えば、Sambrook, Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y. および Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1994) を参照のこと。本発明の抗体の改変としては、アセチル化、ヒドロキシル化、メチル化、アミド化、および炭水化物もしくは脂質部分、補因子などの結合を含む、側鎖改変、骨格改変、ならびにN末端およびC末端改変を含む、1つ以上の構成アミノ酸における化学的および/または酵素的誘導体化が挙げられる。同様に、本発明は、標識または薬物などの異種性分子がアミノ末端に融合された記載される抗体またはそのいくつかの断片を含むキメラタンパク質の生産を包含する。このようにして作製された抗原結合分子は、それぞれ罹患細胞および組織の適切な表面構造を発現する細胞への薬物局在化に使用することができる。この標的化および細胞への結合は、治療的または診断的に活性な薬剤の送達および遺伝子治療/遺伝子送達に有用であり得る。本発明の抗体を有する分子/粒子は、目的の特定の抗原を発現する細胞/組織に特異的に結合するので、診断用途および治療用途を有し得る。

【0217】

試料：

本明細書で使用される場合、用語「試料」又は「生物学的試料」は、被験体または患者から得られる任意の生物学的物質を指す。一態様では、試料は、血液、脳脊髄液（「CSF」）または尿を含み得る。他の態様では、試料は、全血、血漿、末梢血から濃縮された単核細胞（PBMC）、例えば、リンパ球（すなわち、T細胞、NK細胞またはB細胞）、単球、マクロファージ、樹状細胞および好塩基球；および培養細胞（例えば、被験体由来のB細胞）を含み得る。試料はまた、腫瘍組織を含む生検または組織試料を含み得る。さらに他の態様では、試料は、全細胞および/または細胞溶解物を含み得る。一実施形態では、試料は、末梢血単核細胞（PBMC）を含む。当技術分野において公知の方法によって試料を採取することができる。

【0218】

抗IFN- γ 抗体の特定、対応するB細胞の単離および抗IFN- γ 抗体の組換え発現：

表1に列記されるような、また、いくつかのIFN- γ サブタイプについて例示的に示されるような本発明の抗IFN- γ 抗体について特異的であるB細胞の特定、および、目的とする特異性を示す抗体の分子クローニング、ならびに、それらの組換え発現および機能的特徴づけを概して、国際出願公開WO2013/098419および同WO2013/098420に記載されるように行うことができる；それらにおける実施例のセクションを参照のこと、具体的には、国際公開WO2013/098419の118頁～120頁における実施例1および実施例2、ならびに、国際公開WO2013/098420の27頁～31頁における実施例1～実施例4を参照のこと（それらの開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる）。

【0219】

簡単に記載すると、本発明の1つの実施形態において、単一のB細胞またはオリゴクローナルなB細胞の培養物が、実施例に記載されるように培養され、また、前記B細胞によって産生される抗体を含有する培養物の上清が、実施例に記載されるように、IFN- γ サブタイプの1つまたは複数について特異的である抗体の存在および親和性についてスクリーニングされた。別の実施形態において、患者血清が、様々なIFN- γ サブタイプに対する自己抗体の存在について最初にスクリーニングされ、その後、大きい力価を有する

自己抗体が末梢血単核細胞の単離のために選択された：国際公開WO2013/098419の118頁～120頁における実施例2を参照のこと（その開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる）。スクリーニングプロセスは、IFN-サブタイプの断片、ペプチドまたは誘導体に関して結合についてスクリーニングすることを含む。続いて、結合が検出される抗体、または、前記抗体を産生する細胞が単離された；国際公開WO2013/098419の120頁における実施例3を参照のこと（その開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる）。したがって、予備的スクリーニングを、抗体分泌細胞を含有するサンプル（例えば、全末梢血または血清など）を使用して候補ドナーのパネルに対して行うことができる。具体的には、単核細胞を、末梢血単核細胞（PBMC）を単離するための標準的な分離技術（例えば、勾配遠心分離など）を使用して血液またはリンパ組織から単離することができる。この分離工程の後および/または前において、（異なる患者から、異なる組織から、および/または異なる時点で得られる）血清（または血漿）、細胞培養物上清または細胞のサンプルを、抗体および抗体分泌細胞の存在を検出するための標準的な技術（例えば、ELISA、BIACORE、ウエスタンブロット、FACS、SERPA、抗原アレイ、細胞培養系におけるウイルス感染の中和、または、ELISPOTアッセイ）を使用して予備スクリーニングすることができる。文献はこれらの技術のいくつかの例を提供しており、例えば、ワクチン接種されたドナーにおける免疫応答を特徴づけるためのELISPOTの使用（Crotty他、Immunol Meth. 286（2004）、111～122）、新たに感染した患者のための診断ツールとしての抗原マイクロアレイの使用（Mezzasoma他、Clin Chem. 48（2002）、121～130）、および、抗原特異的な免疫応答を測定するための他の技術（Kern他、Trends Immunol. 26（2005）、477～484）を示す。

10

20

30

40

【0220】

候補の抗IFN-抗体、および、候補の抗IFN-抗体を分泌するB細胞がそれぞれ特定された後で、目的とする抗体をコードする核酸配列が得られ、この場合には、B細胞を調製する工程、および、目的とする抗体をコードする核酸をB細胞から得る/配列決定する工程、および、さらには、その核酸を、目的とする抗体を発現することができる発現宿主に挿入するか、または、その核酸を使用して、目的とする抗体を発現することができる発現宿主を調製する工程、発現宿主を、目的とする抗体が発現させられる条件のもとで培養または継代培養する工程、および、必要な場合には、目的とする抗体を精製する工程が含まれる。核酸は、制限部位を導入するために、コドン使用頻度を変更するために、ならびに/あるいは、転写調節配列および/もしくは翻訳調節配列を加えるために、または最適化するためにその間で操作されることがあることは言うまでもないことである。これらの技術は最先端であり、過度な負担を伴うことなく当業者によって行うことができる。例えば、重鎖定常領域を異なるイソタイプの重鎖定常領域に交換することができ、または、完全に除くことができる。可変領域を、単鎖のFv領域をコードするために連結することができる。多数のFv領域を、2つ以上の標的に対する結合能を与えるために連結することができる、または、重鎖および軽鎖のキメラな組合せを用いることができる。遺伝物質が入手可能となると、所望の標的と結合するそれらの能力をともに保持する上記に記載されるようなアナログの設計は直截的である。抗体可変領域のクローニングおよび組換え抗体の作製のための様々な方法が当業者には知られており、例えば、Gilliland他、Tissue Antigens 47（1996）、1～20；Doenecke他、Leukemia、11（1997）、1787～1792に記載される。しかしながら、本発明の好ましい実施形態において、B細胞が、国際出願公開WO2013/098420に記載される方法によって、具体的には、その28頁～30頁における実施例3に記載される方法によって発現させられる（その開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる）。

【0221】

疾患および障害：

50

特に指定がない限り、用語「障害」および「疾患」は、本明細書では互換的に使用される。本明細書で使用される場合、用語「自己免疫性障害」は、個体自身の組織または器官またはその同時分離体または徴候またはそれらから生じる症状から生じるかまたそれらに対する疾患または障害である。自己免疫性疾患は適応免疫反応の脱調節によって主に引き起こされ、自己構造に対する自己抗体または自己反応性T細胞が形成される。ほぼすべての自己免疫性疾患は、炎症性成分を有する。自己炎症性疾患は主に炎症性であり、いくつかの古典的な自己炎症性疾患は、先天性炎症経路の遺伝的欠陥によって引き起こされる。自己炎症性疾患では、自己反応性T細胞または自己抗体は見られない。これらの自己免疫性および自己炎症性障害の多くにおいて、限定されないが、高ガンマグロブリン血症、高レベルの自己抗体、組織中の抗原抗体複合体沈着、副腎皮質ステロイドまたは免疫抑制性処置から恩恵を受けるもの、および罹患組織中のリンパ系細胞凝集塊を含む多くの臨床用および研究用のマーカーが存在し得る。B細胞媒介性自己免疫性障害に関する理論に限定されないが、B細胞は、自己抗体産生、免疫複合体形成、樹状およびT細胞活性化、サイトカイン合成、ケモカインの直接放出、および異所性新リンパ形成に対しての病巣の提供を含む、多くの機能的な経路によりヒト自己免疫性疾患において病原性効果を示すことが考えられる。これらの経路のそれぞれが、自己免疫性疾患の病状に異なった度合いで寄与し得る。

10

20

30

40

50

【0222】

本明細書中で使用される場合、「自己免疫性障害」は、器官特異的疾患であること（すなわち、免疫応答が、器官系に対して、例えば、内分泌系、造血系、皮膚、心肺系、胃腸系および肝臓系、腎臓系、甲状腺、耳、神経筋系、中枢神経系などに対して特異的に向けられる）、または、多数の器官系を冒し得る全身性疾患（例えば、全身性エリテマトーデス（SLE）、関節リウマチ、多発性筋炎、自己免疫性多腺性内分泌不全症候群1型（APS1）/自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症・外胚葉ジストロフィー（APECED）など）であることが可能である。好ましいそのような疾患には、自己免疫性のリウマチ学的障害（例えば、関節リウマチ、シェーグレン症候群、強皮症、狼瘡（例えば、SLEおよびループス腎炎など）、多発性筋炎/皮膚筋炎および乾癬性関節炎など）、自己免疫性の皮膚科学的障害（例えば、乾癬、天疱瘡群疾患、水疱性類天疱瘡疾患および皮膚エリテマトーデスなど）、および、自己免疫性の内分泌障害（例えば、糖尿病関連の自己免疫疾患（例えば、1型糖尿病またはインスリン依存性糖尿病（T1DMまたはIDDM）など）、自己免疫性の甲状腺疾患（例えば、グレーブス病および甲状腺炎）など）、および、自己免疫の生成に影響を及ぼす疾患（例えば、自己免疫性多腺性内分泌不全症候群1型（APS1）/自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症・外胚葉ジストロフィー（APECED）、重症筋無力症（MG/胸腺腫）など）が含まれる。

【0223】

好ましい疾患には、例えば、SLE、RA、T1DM、MS、シェーグレン症候群、グレーブス病、甲状腺炎、ならびに、糸球体腎炎ならびにAPS1が含まれる。一層より好ましいものが、RA、SLEおよびMSであり、最も好ましいものがSLEである。

【0224】

標識および診断：

標識剤は、本発明の抗体または抗原に直接的または間接的のいずれかでカップリングされ得る。間接的カップリングの一例は、スペーサ部分の使用によるものである。さらに、本発明の抗体は、共有結合または非共有結合によって連結されているさらなるドメインを含み得る。この連結は、当技術分野において公知の上記方法による遺伝的融合に基づくものでもよいし、または例えば国際公開第94/04686号に記載されている化学的架橋によって実施することもできる。本発明の抗体を含む融合タンパク質中に存在するさらなるドメインは、好ましくは、可撓性リンカー、有利にはポリペプチドリンカーによって連結され得、前記ポリペプチドリンカーは、前記さらなるドメインのC末端と本発明の抗体のN末端との間（またはその逆も同様である）の距離に及ぶのに十分な長さの、複数の親水性ペプチド結合アミノ酸を含む。治療的または診断的に活性な薬剤が、様々な方法によ

って、本発明の抗体またはその抗原結合断片にカップリングされ得る。これとしては、例えば、共有的な方法、例えばペプチド結合によって、治療的または診断的に活性な薬剤にカップリングされた、本発明の抗体の可変領域を含む単鎖融合タンパク質が挙げられる。さらなる例としては、さらなる分子に共有結合または非共有結合によってカップリングされた抗原結合断片を少なくとも含む分子が挙げられ、以下の非限定的な例示的リスト中のものが挙げられる。Trauneker, Int. J. Cancer Surp. Su DP 7 (1992), 51-52には、CD3に対するFv領域が、可溶性CD4または他のリガンド、例えばOVCAおよびIL-7にカップリングされている、二重特異性試薬ヤヌシンが記載されている。同様に、本発明の抗体の可変領域をFv分子に構築して、引用文献に示されている代替的リガンドにカップリングすることができる。Higgins, J. Infect. Disease 166 (1992), 198-202には、GP120のV3領域中の特定の配列に対する抗体に架橋されたOKT3からなるヘテロコンジュゲート抗体が記載されている。このようなヘテロコンジュゲート抗体はまた、本発明の方法の抗体中に含まれる少なくとも可変領域を使用して構築され得る。特異的抗体のさらなる例としては、Fanger, Cancer Treat. Res. 68 (1993), 181-194およびFanger, Crit. Rev. Immunol. 12 (1992), 101-124に記載されている抗体が挙げられる。従来の抗体を含む免疫毒素であるコンジュゲートは、当技術分野において広く記載されている。従来のカップリング技術によって毒素を抗体にカップリングしてもよいし、またはタンパク質毒素部分を含む免疫毒素を融合タンパク質として生産してもよい。本発明の抗体は、このような免疫毒素を得るための対応する方法で使用され得る。このような免疫毒素の例示は、Byers, Seminars Cell. Biol. 2 (1991), 59-70およびFanger, Immunol. Today 12 (1991), 51-54によって記載されているものである。

【0225】

上記融合タンパク質は、プロテアーゼにより切断可能なリンカーまたは切断部位をさらにも含む。これらのスペーサ部分は順に不溶性でもよいしまたは可溶性でもよく(Diener et al., Science 231 (1986), 148)、標的部位における抗原からの薬物放出を可能にするように選択され得る。免疫療法のための本発明の抗体および抗原にカップリングされ得る治療剤の例は、ケモカイン、ホーミング分子、薬物、放射性同位体、レクチンおよび毒素である。本発明の抗体および抗原にコンジュゲートされ得る薬物は、コンジュゲート分子を使用しようとする疾患状況に依存する。例えば、腫瘍疾患の処置に有用な標的に対して特異的な抗体を、古典的には抗腫瘍薬物と称される化合物、例えば、マイトマイシンC、ダウノルピシンおよびビンブラスチンにコンジュゲートすることができる。例えば、腫瘍免疫療法のために、放射性同位体とコンジュゲートした本発明の抗体または抗原を使用する際には、特定の同位体が、白血球分布ならびに安定性および放射などの因子に応じて、他の同位体よりも好ましい場合がある。自己免疫反応に応じて、いくつかの放射体が、他の放射体よりも好ましい場合がある。一般に、粒子および粒子を放射する放射性同位体が、免疫療法では好ましい。ショートレンジの高エネルギー放射体、例えば ^{212}Bi が好ましい。治療目的では、本発明の抗体または抗原に結合され得る放射性同位体の例は、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{90}Y 、 ^{67}Cu 、 ^{212}Bi 、 ^{212}At 、 ^{211}Pb 、 ^{47}Sc 、 ^{109}Pd および ^{188}Re である。本発明の抗体または抗原にカップリングされ得る他の治療剤、ならびにエクスピボおよびインスピボの治療プロトコールは公知であるか、または当業者であれば容易に確認することができる。標識するのに適切な放射性核種の非限定的な例は、 ^{198}Au 、 ^{212}Bi 、 ^{11}C 、 ^{14}C 、 ^{57}Co 、 ^{67}Cu 、 ^{18}F 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^3H 、 ^{197}Hg 、 ^{66}Ho 、 ^{111}In 、 $^{113\text{m}}\text{In}$ 、 ^{123}I 、 ^{125}I 、 ^{127}I 、 ^{131}I 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{15}O 、 ^{13}N 、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{203}Pb 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{105}Rh 、 ^{97}Ru 、 ^{35}S 、 ^{153}Sm および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ である。標識するのに適切な他の分子は、蛍光色素または発光色素、磁気粒子、金属、および二次的な酵素

10

20

30

40

50

または結合工程によって検出可能な分子、例えば、酵素またはペプチドタグである。本発明で標識として使用するのに適切な市販の蛍光プローブは、Handbook of Fluorescent Probes and Research Products, 8th Edition (この開示内容は、参照により本明細書に組み込まれる) に列挙されている。磁気粒子ベースのアッセイ(MPA)に使用するのに適切な磁気粒子は、常磁性物質、反磁性物質、強磁性物質、強磁性物質および超常磁性物質から選択され得る。

【0226】

診断目的に有用な分子および細胞生化学の一般的な方法は、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed. (Sambrook et al., Harbor Laboratory Press 2001); Short Protocols in Molecular Biology, 4th Ed. (Ausubel et al. eds., John Wiley & Sons 1999); Protein Methods (Bollag et al., John Wiley & Sons 1996)などの標準的な教科書に見られ得る。診断目的用の試薬、検出手段およびキットは、Pharmacia Diagnostics、Amersham、BioRad、Stratagene、Invitrogen、およびSigma-Aldrichなどの商業ベンダー、ならびに本明細書で引用されている参考文献、特に特許文献のいずれか1つに示されている供給源から市販されている。

10

【0227】

処置および薬物：

本明細書で使用される場合、用語「処置する」または「処置」は、自己免疫性疾患および/または自己炎症性疾患の発症などの望ましくない生理的变化または障害を防止するか、または遅延(減少)させることを目的とする治療的処置および予防的または防止的手段の両方を指す。有益なまたは所望の臨床結果としては、限定されないが、検出可能であるかまたは検出不可能であるかにかかわらず、症候の軽減、疾患の程度の縮小、安定化した(すなわち、悪化していない)疾患状態、疾患進行の遅延または緩慢化、疾患状態の寛解または緩和、および(部分的であるかまたは完全であるかにかかわらず)寛解が挙げられる。「処置」はまた、処置を受けない場合に予想される生存期間と比較して生存期間を延長させることを意味し得る。処置を必要とする者としては、症状または障害を既に有する者、ならびに症状または障害を有する傾向がある者、または症状または障害の徴候を防止すべき者が挙げられる。

20

30

【0228】

特に指定がなければ、用語「薬物」、「医薬」または「医薬品」は、本明細書では互換的に使用され、限定されないが、(A)内用または外用の物品、医薬および調製物、ならびにヒトまたは他の動物のいずれかの疾患の診断、治療、緩和、処置または予防に使用することを目的とする任意の物質または物質の混合物;ならびに(B)ヒトまたは他の動物の体の構造または任意の機能に影響を与えることを目的とする物品、医薬および調製物(食品を除く);ならびに(C)項目(A)および(B)で指定された任意の物品の成分として使用することを目的とする製品を含むものである。用語「薬物」、「医薬」または「医薬品」は、1つ以上の「薬剤」、「化合物」、「物質」または「(化学)組成物」、ならびにいくつかの他の文脈ではさらに充填剤、崩壊剤、潤滑剤、流動促進剤、結合剤のような他の薬学的に不活性な賦形剤、またはヒトもしくは他の動物の体内の目的の標的部位(例えば、皮膚、胃または腸内)における「薬物」、「医薬」もしくは「医薬品」の容易な運搬、崩壊、分解、溶解および生物学的アベイラビリティを確保するものを含む、ヒトまたは他の動物のいずれかで使用することを目的とする調製物の製剤一式を含むものである。用語「薬剤」、「化合物」または「物質」は、本明細書では互換的に使用され、より具体的な文脈では、限定されないが、すべての薬理的に活性な薬剤(すなわち、所望の生物学的または薬理的効果を誘導するか、または本発明の方法によってこのような可能な薬理的効果を誘導する能力について調査または試験される薬剤)を含むものである。

40

50

【0229】

「抗リウマチ薬」および免疫抑制薬の例としては、クロロキン、ヒドロキシクロロキン、ミオクリシン、オーラノフィン、スルファサラジン、メトトレキセート、レフルノミド、エタネルセプト、インフリキシマブ（プラス経口および皮下用メトトレキセート）、アダリムマブなど、アザチオプリン、D-ペニシラミン、ゴールド塩類（経口）、ゴールド塩類（筋肉内）、ミノサイクリン、シクロスポリンAおよび局所性シクロスポリンを含むシクロスポリン、タクロリムス、ミコフェノール酸モフェチル、シクロホスファミド、ブドウ球菌プロテインA（Goodyear and Silverman, J. Exp. Med., 197(2003), 125-39）が挙げられ、これらの塩および誘導体などを含む。

10

【0230】

「非ステロイド系抗炎症薬」または「NSAID」の例としては、アスピリン、アセチルサリチル酸、イブプロフェンおよびイブプロフェン遅延剤、フェノプロフェン、ピロキシカム、フルルピプロフェン、ナプロキセン、ケトプロフェン、ナプロキセン、テノキシカム、ベノリレート、ジクロフェナク、ナプロキセン、ナブメトン、インドメタシン、ケトプロフェン、メフェナム酸、ジクロフェナク、フェンブフェン、アザプロバゾン、アセメタシン、チアプロフェン酸、インドメタシン、スリンダク、トルメチン、フェニルブタゾン、ジクロフェナクおよびジクロフェナク遅延剤、GR253035などのシクロオキシゲナーゼ(COX)-2インヒビター、MK966、セレコキシブ(CELEBREX(登録商標)); 4-(5-(4-メチルフェニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾロ-1-イル)ベンゼンスルホンアミドおよびバルデコキシブ(BEXTRA(登録商標))、およびメロキシカム(MOBIC(登録商標))が挙げられ、これらの塩および誘導体などを含む。好ましくは、これらは、アスピリン、ナプロキセン、イブプロフェン、インドメタシンまたはトルメチンである。このようなNSAIDは、場合により、鎮痛剤、例えば、コデイン、トラマドール、および/またはジヒドロコデインまたは麻酔剤、例えば、モルヒネと共に使用される。

20

【0231】

「被験体」または「個体」または「動物」または「患者」または「哺乳動物」は、診断、予後予測、予防または治療に望ましい任意の被験体、特に哺乳動物被験体、例えば、ヒト患者を意味する。

30

【0232】

医薬担体：

薬学的に許容し得る担体および投与経路は、当業者に公知の対応文献から採用することができる。当技術分野において周知の方法にしたがって本発明の医薬組成物を製剤化することができる。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2000) by the University of Sciences in Philadelphia, ISBN 0-683-306472, Vaccine Protocols. 2nd Edition by Robinson et al., Humana Press, Totowa, New Jersey, USA, 2003; Banga, Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing, and Delivery Systems. 2nd Edition by Taylor and Francis. (2006), ISBN: 0-8493-1630-8を参照のこと。適切な医薬担体の例は当技術分野において周知であり、リン酸緩衝生理食塩水溶液、水、油/水エマルジョンなどのエマルジョン、様々な種類の湿潤剤、滅菌溶液などが挙げられる。周知の従来の方法によってこのような担体を含む組成物を製剤化することができる。適切な用量で被験体にこれらの医薬組成物を投与することができる。様々な方法で、適切な組成物の投与をもたらすことができる。例としては、薬学的に許容し得る担体を含む組成物を、経口、鼻腔内、直腸、局所、腹腔内、静脈内、筋肉内、皮下、皮下、経皮、くも膜下および頭蓋内の方法により投与することが挙げられる。点鼻薬製剤

40

50

などのエアロゾル製剤は、保存剤および等張剤を有する、活性薬剤の精製した水溶液または他の溶液を含む。このような製剤は、好ましくは、鼻粘膜に適合する pH および等張状態に調節される。経口投与用医薬組成物、例えば、単ドメイン抗体分子（例えば、「nanobodies（登録商標）」なども本発明で想定される。このような経口製剤は、錠剤、カプセル剤、粉末、液体または半固体形態であり得る。錠剤は、ゼラチンまたはアジュバントなどの固体担体を含むことができる。直腸投与用または経膈投与用の製剤は、適切な担体を有する坐剤として提供され得る；O'Hagan et al., Nature Reviews, Drug Discovery 2(9)(2003), 727-735 も参照のこと。様々な種類の投与に適切な製剤に関するさらなる指針は、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985) および対応する最新版に見ることができる。薬物送達方法の簡単な総説については、Langer, Science 249(1990), 1527-1533 を参照のこと。

【0233】

投与計画：

投与計画は、担当の医師および臨床的要因によって決定される。医学分野で周知であるように、任意のある患者への投与量は、その患者のサイズ、体表面、年齢、投与される特定の化合物、性別、投与時間および経路、一般的健康状態、同時に投与されている他の薬物を含む多数の要因に依存する。典型的な用量は、例えば、0.001 ~ 1000 μg の範囲内であり得る（すなわち、この範囲内の、発現のためのまたは発現阻害のための核酸）；しかしながら、この例示的な範囲よりも少ないかまたは多い用量が、特に前述の要因を考慮して想定される。一般に、医薬組成物の定期投与としての計画は、1 μg ~ 10 mg 単位/日の範囲内とするべきである。計画が持続注入である場合も、それぞれ 1 μg ~ 10 mg 単位/キログラム体重/分の範囲内とするべきである。定時的評価によって経過をモニタリングすることができる。非経口投与用の製剤は、滅菌水性または非水性溶液、懸濁液およびエマルジョンを含む。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油などの植物油、およびエチルオレートなどの注射可能な有機エステルである。水性担体としては、生理食塩水および緩衝媒体を含む、水、アルコール溶液/水溶液、エマルジョンまたは懸濁液が挙げられる。非経口投与用のビヒクルとしては、塩化ナトリウム溶液、リンゲルブドウ糖液、ブドウ糖および塩化ナトリウム、乳酸化リンゲル液、または固定化油が挙げられる。静脈内投与用のビヒクルとしては、体液および栄養補充液、（リンゲルブドウ糖液に基づくものなどの）電解質補充液などが挙げられる。例えば、抗微生物薬、抗酸化剤、キレート剤、および不活性ガスなどの保存剤および他の添加物も存在し得る。さらに、本発明の医薬組成物は、医薬組成物の目的用途に応じて、抗腫瘍剤および細胞毒性薬物などの薬剤をさらに含むことができる。

【0234】

加えて、他の薬剤の同時投与または連続投与が望ましい場合がある。治療有効用量または治療有効量は、症候または症状を改善するのに十分な有効成分の量を指す。細胞培養または実験動物における標準的な薬学的手順、例えば、ED₅₀（集団の50%で治療的に有効な用量）およびLD₅₀（集団の50%に致死的な用量）によって、このような化合物の治療有効性および毒性を決定することができる。治療効果と毒性効果との間の用量比が治療指数であり、それはLD₅₀/ED₅₀の比と表すことができる。

【0235】

好ましくは、組成物中の治療薬は、炎症の予防または免疫反応の抑制に十分な量で存在する。

【0236】

これらおよび他の実施形態は、本発明の記載および実施例によって開示および包含される。本発明にしたがって用いられる材料、方法、使用法および化合物のうちのいずれか一つに関するさらなる文献は公開ライブラリおよびデータベースから、例えば、電子機器を

使用して検索され得る。例えば、National Center for Biotechnology Informationおよび/またはNational Library of Medicine at the National Institutes of Healthが主催する公開データベース「Medline」を活用することができる。European Molecular Biology Laboratory (EMBL)の一部であるEuropean Bioinformatics Institute (EBI)のデータベースとアドレスなどのさらなるデータベースとウェブアドレスが当業者に公知であり、インターネットの検索エンジンを用いてそれらを得ることもできる。遡及的な検索および現状の認識に有用な生物学の特許情報の概要、および関連する特許情報の供給源の調査は、Berks, TIBTECH 12 (1994), 352-364において与えられる。

10

【0237】

上記開示は、一般に、本発明を説明する。いくつかの文書が本明細書の本文を通して引用される。本明細書の末尾、特許請求の範囲の直前に、完全な書誌引用を見出すことができる。引用されているすべての参考文献（本出願を通して引用されている参考文献、発行特許、公開特許出願、および製造業者の仕様書、説明書などを含む）の内容は、参照により本明細書に明確に組み込まれる；しかしながら、引用されているいかなる文書も実に本発明に対する従来技術であると認めるものではない。以下の具体的な実施例を参照することにより、さらに完全な理解を得ることができるが、これらは例証のみを目的として本明細書に提供するものであり、本発明の範囲を限定することを意図するものではない。

20

【実施例】**【0238】**

以下の実施例1~9および対応する図1~32は本発明をさらに例証するが、本発明の範囲を何ら限定するものと解釈するべきではない。本明細書で用いられるものなどの従来方法についての詳細な説明は、引用されている文献に見出すことができる；「The Merck Manual of Diagnosis and Therapy」Seventeenth Ed. ed. by Beers and Berkow (Merck & Co., Inc., 2003)も参照のこと。

【0239】

本発明の実施は、特に指示がない限り、当技術分野の技術の範囲内である細胞生物学、細胞培養、分子生物学、遺伝子導入生物学、微生物学、組換えDNA、および免疫学の従来技術を用いる。分子遺伝学および遺伝子工学の方法は、一般に、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Sambrook et al., (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press); DNA Cloning, Volumes I and II (Glover ed., 1985); Oligonucleotide Synthesis (Gait ed., 1984); Nucleic Acid Hybridization (Hames and Higgins eds., 1984); Transcription And Translation (Hames and Higgins eds., 1984); Culture Of Animal Cells (Freshney and Alan, Liss, Inc., 1987); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (Miller and Calos, eds.); Current Protocols in Molecular Biology and Short Protocols in Molecular Biology, 3rd Edition (Ausubel et al., eds.); および Recombinant DNA Methodology (Wu, ed., Academic Press). Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (Miller and Calos, eds., 1987, Cold Spring Harbor Laborat

30

40

50

ory); Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155 (Wu et al., eds.); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer and Walker, eds., Academic Press, London, 1987); Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I - IV (Weir and Blackwell, eds., 1986) の最新版に記載されている。この開示で言及されている遺伝子操作のための試薬、クローニングベクターおよびキットは、BioRad、Stratagene、InvitrogenおよびClontechなどの商業ベンダーから入手可能である。細胞培養および培地回収の一般的な技術は、Large Scale Mammalian Cell Culture (Hu et al., Curr. Opin. Biotechnol. 8 (1997), 148); Serum-free Media (Kitano, Biotechnology 17 (1991), 73); Large Scale Mammalian Cell Culture (Curr. Opin. Biotechnol. 2 (1991), 375); および Suspension Culture of Mammalian Cells (Birch et al., Bioprocess Technol. 19 (1990), 251) に概説されている。

【0240】

材料および方法

患者選択、APECED/APSS1患者からの末梢血単核細胞(PBMC)単離、メモリーB細胞培養および抗体単離を、国際出願公開WO2013/098419および同WO2013/098420に記載されるように、ただし、単離および分析された抗体の特異性が、述べられたPCT出願において具体的に使用されたIL-17およびIL-22の代わりに本明細書中上記および下記で定義されるようなIFNAサブタイプに対してのものであったという違いを伴って行った; それらにおける実施例のセクションを参照のこと、具体的には、国際公開WO2013/098419の117頁~120頁における実施例1および実施例2ならびに168頁~171頁における実施例17、そして、国際公開WO2013/098420の27頁~31頁における実施例1~実施例4を参照のこと(それらの開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる)。

【0241】

本発明のヒト抗体の分子クローニングならびにその後の抗体産生および抗体精製を国際出願公開WO2013/098419に記載されるように行った; その出願明細書の実施例のセクションを参照のこと、具体的には、その117頁~120頁における実施例1~実施例3を参照のこと(それらの開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる)。AIRE遺伝子の変異分析を国際出願公開WO2013/098419に記載されるように行った; その実施例のセクションを参照のこと、具体的には、115頁~116頁における実施例の材料および方法における「AIRE遺伝子の変異分析」のセクションを参照のこと(その開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる)。ただし、特定の工程を国際公開WO99/15559に記載されるように行った。この関連において、AIRE(APECED)遺伝子におけるそれぞれの変異の遺伝子型解析が、国際出願公開WO99/15559において12頁~13頁での実施例2に記載されるように行われる; AIRE遺伝子のエクソン2およびエクソン6における変異の確認が、13頁5行から14頁13行にまで及ぶ国際出願公開WO99/15559の実施例3に記載されるように行われる(それらの開示内容はその全体が参照によって本明細書中に組み込まれる)。具体的には、変異分析のために、DNAサンプルが、APECEDの患者、および、APECEDの疑われる保因者、および、正常な健常者コントロールから得られる末梢血単核細胞

から (Sambrook 他、1989、Molecular Cloning. A Laboratory Manual. (CSH Press) に従って) 精製され、すべての特定されたエクソンについて特異的なプライマーを使用する PCR に供される。

【0242】

実施例 1：患者の血清におけるサイトカイン特異的抗体の検出

APECED (自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症・表皮異形成、これはまた、自己免疫性多腺性内分泌不全症 1 型 (APS1) と呼ばれる) の遺伝子状態に罹患する患者の血清における様々なサイトカイン特異的抗体および疾患特異的抗体の大まかな存在が、本出願人の国際出願公開 WO 2013/098419 の 128 頁における実施例 7 に記載されような、また、128 頁～130 頁における表 1 および表 2 に示されるようなプロトタイプ分析によって求められている (それらの開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる)。合計で 23 名の患者から得られる血清 (これらは APS1-1 から APS1-23 までの符号によって示される) をアッセイにおいて使用した。8 個のコントロール血清を、患者と年齢が一致する健康な研究室職員から得て、C1～C8 としてコード化した。試験された 23 名の患者における IFNA サブタイプ特異的抗体および dsDNA 特異的抗体の存在を示す図 4 を参照のこと。図 4 に示される血清反応性に加えて、APS1-9 および APS1-2 の患者は、IFNA1/13、IFNA5、IFNA6、IFNA10、IFNA14、IFNA16 および IFNA21 に対する血清反応性を示している。

10

【0243】

抗 dsDNA 抗体は SLE について非常に特異的であり、この疾患の診断において使用される。驚くべきことに、APS1 患者は誰も、抗 dsDNA 抗体の頻繁な存在にもかかわらず、狼瘡を有しない。しかしながら、APS1 患者は、狼瘡に関わる多くの分子機構に参与する臨床的に関連した薬物標的であるいくつかのインターフェロン-サブタイプに対する顕著な血清反応性を示し、このことから、これらの抗体は SLE 処置において好適であり得ることが暗示される。

20

【0244】

E L I S A - I F N -

96 ウエルマイクロプレート (Coster、米国) を、ヒト IFNA1、IFNA2 (ImmunoTools)、IFNA4 (SinoBiological)、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA21 (すべてが PBL から得られる) および IFNA14 (ATGen) または IFNA8 (Novus Biologicals) により被覆した。プレートを PBS-T により洗浄し、2% の BSA (Sigma、Buchs、スイス) を含有する PBS により室温で 1 時間、ブロッキング処理した。患者血清、B 細胞馴化培地または組換え抗体調製物を室温で 2 時間インキュベーションした。目的とする抗原に対するヒト IgG の結合を、西洋ワサビペルオキシダーゼにコンジュゲート化されたヤギ抗ヒト Fc ガンマ特異的抗体 (Jackson ImmunoResearch, Europe Ltd.、Cambridgeshire、英国) を使用して測定し、その後、HRP 活性の測定を、TMB 基質溶液 (TMB、Sigma、Buchs、スイス) を使用して行った。ヒト Fc 融合のマウス IFNA2、IFNA4、IFNA14 (SinoBiological) に対する結合を、西洋ワサビペルオキシダーゼにコンジュゲート化された抗 F(ab')₂ 特異的抗体を用いて検出した (図 19A を参照のこと)。

30

40

【0245】

実施例 2：本発明の抗体の EC50 の ELISA 決定

IFNA2 (ImmunoTools)、IFNA4 (SinoBiological)、IFNA14 (ATGen) に対する本発明の様々な hMAB の EC50 結合を ELISA によって求めた (使用された組換えタンパク質に関する詳細については下記の表 3 もまた参照のこと)。MAB の連続希釈物 (1000 ng/ml から 0.0169 ng/ml まで) を抗原被覆プレート (PBS における 1 μg/ml での一晚の被覆、続いて、

50

洗浄、および、PBSにおける2%BSAによるブロッキング処理)と2時間インキュベーションした。続いてプレートを洗浄し、MABの結合を、抗ヒトHRPコンジュゲート化二次抗体を用いて検出した。それぞれの抗原に対する最大結合の半分をもたらすMABの濃度(EC50、ng/ml)を、濃度の対数をODの450nmでの測定値に対してプロットすることによって得られるS字形の用量応答曲線(可変スロープ、4パラメータ)に対して、Prism 4 Graph Padソフトウェアを使用して計算した；図3および下記の表4を参照のこと。

【表3】

標的	提供者	カタログ番号
INF-アルファ1ベータ (IFNA1/13)	Immuntools	11343596
IFNA2	ImmunoTools	11343516
IFNA4	Sino Biological	10336-H08B
IFNA5	PBL	11135
IFNA6	PBL	11165
IFNA8	PBL	11115
IFNA21	PBL	11130
IFNA14	ATGen	ATGP1500
INF-オメガ1	ProSpec	CYT-040
IFN. ガンマ	Immuntools	11343536
gIFNA1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 16, 17, 21, B, W	自社生産、Gaussialシフェラーゼとの融合構築物	

表3：Elisaアッセイで使用された組換えタンパク質のリスト

10

20

【表 4】

抗原	I C 5 0 (n g / m l)				
	1 9 D 1 1	2 6 B 9	8 H 1	1 2 H 5	5 0 E 1 1
I F N A 1	3 . 8 0	8 . 6 0	2 8 . 9 8	5 1 . 3 2	9 7 . 3 8
I F N A 2	1 . 6 2	2 . 8 3	1 0 3 9 . 0	1 0 . 6 6	1 5 8 . 6
I F N A 4	0 . 9 5	2 . 0 7	5 . 4 3	0 . 4 8	2 0 . 2 5
I F N A 5	0 . 8 5	3 . 7 4	1 . 7 8	2 2 . 6 1	0 . 9 1
I F N A 6	0 . 7 9	3 . 1 6	7 7 . 7 0	3 . 5 5	3 9 . 3 0
I F N A 7	0 . 3 7	1 . 5 7	0 . 9 0	0 . 6 4	1 . 9 0
I F N A 8	2 7 . 6 9	2 0 5 . 0	5 7 1 . 0	0 . 8 6	4 . 0 2
I F N A 1 0	0 . 7 2	1 . 8 4	2 . 6 9	0 . 6 6	3 . 6 3
I F N A 1 4	0 . 3 1	2 . 0 1	7 8 4 . 6	2 . 1 5	9 . 2 0
I F N A 1 6	1 . 8 6	4 0 1 3 . 0	1 . 8 6	3 2 . 9 9	2 . 3 5
I F N A 1 7	0 . 7 5	2 . 2 2	2 . 1 1	0 . 7 5	2 . 3 1
I F N A 2 1	2 . 2 2	4 . 6 5	2 . 7 8	1 3 . 0 2	3 . 0 5
I F N W	—	0 . 5 0	2 . 1 3	—	1 1 3 . 2

表 4 : I S R E 二重ルシフェラーゼレポーターアッセイで得られるような、本発明の例示的な抗 I F N - 抗体の 1 9 D 1 1、2 6 B 9、8 H 1、1 2 H 5 および 5 0 E 1 1 の I C 5 0 中和値のまとめ。

【 0 2 4 6 】

表 3 に示されるような商用供給者から得られる I F N A タンパク質、ならびに、本発明に従って作製される I F N A タンパク質の g I F N A 2 / - 4 および - 1 4 を使用する、例示的な抗 I F N - 抗体の本発明に従って行われた E C 5 0 結合対 I C 5 0 中和の前のアッセイは、類似する結果を与えた。

【 0 2 4 7 】

加えて、I F N A 1 (I m m u n o T o o l s) に対する本発明の例示的 M A B の 1 9 D 1 1、2 5 C 3、2 6 B 9、5 D 1 および 1 3 B 1 1 の結合を、E L I S A によって I F N A 2 (I m m u n o T o o l s) に対するこれらの抗体の結合と比較した。この実験では、試験された M A B (3 0 0 n g / m l) を抗原被覆プレート (P B S における 1 μ g / m l での一晚の被覆、続いて、洗浄、および、P B S における 2 % B S A によるブロッキング処理) と 2 時間インキュベーションした。続いてプレートを洗浄し、M A B の結合を、抗ヒト H R P コンジュゲート化二次抗体を用いて検出した。例示的 M A B の 1 9 D 1 1、2 5 C 3、2 6 B 9 および 1 3 B 1 1 は、I F N A 1 および I F N A 2 に対する同程度の結合親和性を示した (図 1 1 A を参照のこと)。しかしながら、例示的な抗 I F N - M A B の 5 D 1 は I F N A 2 と結合し、I F N A 1 とは交差反応しない (図 1 1 A を参照のこと)。さらなる実験において、I F N A 8 に対する本発明の例示的 M A B の 1 9 D 1 1、2 5 C 3、2 6 B 9、5 D 1 および 1 3 B 1 1 の結合を、L I P S によって、I F N A 1 4 に対するこれらの抗体の結合と比較した (ともに I F N - G a u s s i a l ルシフェラーゼ融合タンパク質)。この場合、例示的 M A B の 1 3 B 1 1 は I F N A 8 との交差反応性を示さなかった。それ以外の例示的抗体 (1 9 D 1 1、2 5 C 3、2 6 B 9 および 5 D 1) は、I F N A 1 4 の結合よりも強い I F N A 8 の結合を示している (図 1 1 B

を参照のこと)。さらなる実験において、IFNA5、IFNA6、IFNA8、IFNA21(すべがてPBLから得られる)およびIFNA14(ATGen)に対する本発明の例示的MABの5D1、13B11、19D11、25C3、26B9および31B4の結合を求め、比較した。例示的な抗IFN-抗体13B1はIFNA8およびIFNA21と交差反応せず、抗体19D11は、IFNA21と、それ以外のIFNASubタイプとの場合よりも低い親和性で交差反応した(図11Cを参照のこと)。

【0248】

実施例3：中和アッセイ

中和アッセイが、研究されたサイトカインに応答する細胞株に対して、すなわち、必要な受容体を保有する細胞株に対して行われる。受容体に対するリガンド結合は、対応するシグナル伝達経路、核への転写因子の移行を活性化し、応答因子遺伝子の転写、翻訳、および、適用可能であるならば、生成物分泌をアップレギュレーションする。使用されるサイトカイン濃度が、アッセイの感度を最大にするために用量応答曲線の直線部分の開始部から選択される。抗体の中和能を試験するために、標的サイトカインの最適な濃度を、血清、上清または精製抗体のサンプルの連続希釈物とブレインキュベーションする。結果が、陽性コントロールと陰性コントロールとの間において中間の値を示す抗体の力価または濃度として表される。

【0249】

ホスホ-STAT1アッセイ

30,000個のHEK293T細胞またはHEK293TMSR細胞を、ポリ-L-リシン被覆された96ウエルプレート(BDBiocoat、Bedford、MA、米国)に、または、通常の組織培養処理された96ウエルプレート(Cat.No.3598、CorningInc.、Corning、NY、米国)にそれぞれ播種した。翌日、様々なrhIFNA、または、IFN-Gaussianシフェラーゼ融合タンパク質(g1IFN)を一過性に発現するHEK293T細胞の上清を、抗IFNAmAbまたはコントロールIgG(5μg/ml)と混合し、37で1時間ブレインキュベーションした。ブレインキュベーション後、混合物を使用して、HEK293T細胞またはHEK293TMSR細胞を37で10分間刺激した。刺激後、細胞を、プロテアーゼ阻害剤およびホスファターゼ阻害剤(Cat.No.C2978、同P5726、同P0044、同P8340、SIGMA-ALDRICH、St.Louis、MO、米国)が補充されるCellytic(商標)M溶解緩衝液を用いて溶解し、回収された溶解物を卓上型遠心分離機において13,000RPMで、4で清澄化した。溶解物を還元SDS-PAGEに供し、ニトロセルロースメンブランにプロットした。メンブランを、0.25%ウシゼラチン、150mMNaCl、5mMEDTA、50mMTris/HCl(pH7.5)、0.05%TritonX-100を含有する緩衝液により室温で1時間、ブロッキング処理し、その後、リン酸化STAT1に対するウサギモノクローナル抗体(Tyr701、ブロッキング緩衝液で1:1000希釈、Cat.No.9167、Cell Signaling Technology、Danvers、MA、米国)と4で一晩インキュベーションした。翌日、プロットをブロッキング緩衝液により3回洗浄し、その後、ウサギIgGに対する西洋ワサビペルオキシダーゼ結合二次抗体(ブロッキング緩衝液で1:20,000希釈、Cat.No.111-035-144、JacksonImmunoResearch、West Grove、PA、米国)とインキュベーションした。3回のさらなる洗浄工程の後、ECL基質を加え(Cat.No.34087、ThermoFisherScientific、Rockford、IL、米国)、反応性バンドをオートラジオグラフィーにより可視化した。結合した抗体を、RestoreWesternBlotStripping緩衝液(Cat.No.21059、ThermoFisherScientific)におけるインキュベーションによって除き、ウサギポリクローナル抗STAT1血清を使用して、総STAT1レベルを可視化した(ブロッキング緩衝液で1:1000希釈、Cat.No.9172、Cell Signaling Technology

10

20

30

40

50

y)。

【0250】

下記では、例示的な抗IFN-特異的抗体の5D1、19D11、25C3、26B9、31B4および13B11を用いて行われた2回のホスホ-STAT1アッセイの結果が議論される。図5Bおよび図5Cにおいて認められ得るように、例示的な抗IFN-特異的抗体の19D11、25C3、26B9、31B4および13B11の添加は、IFNA2、IFNA4およびIFNA14に依存するSTAT1のリン酸化を妨げており、このことは本発明のこれらの抗体のIFN-中和能を示している。加えて、例示的な抗IFN-特異的抗体の19D11、26B9および31B4はまた、IFNA1、g1IFNA5およびIFNA6に依存するSTAT1のリン酸化を妨げており、抗体26B9の中和能がIFNA5に対してわずかに低下している。抗体25C3はIFNA6活性およびIFNA14活性に関しては、IFNA2およびIFNA4に対するその中和能との比較においてわずかにより弱い中和能を示した。本発明の例示的な抗IFN-特異的抗体5D1の添加は、IFNA2およびIFNA4に対するこの抗体の中和活性を示し、IFNA14依存的なSTAT1リン酸化に関しては中和を認めることができず、または、非常に弱い中和を認めることができ(図5C、右側パネル)、IFNA6のわずかにより弱い中和を認めることができた。

10

【0251】

IFNA1bまたはIFNA16による刺激の後、例示的抗体の19D11、25C3、26B9、31B4および13B11は、IFNA1b(IFNA1/13)活性に対する中和能を示しており、中和を抗体5D1に関しては認めることができなかった(図5B)。IFNA16に関して、19D11、5D1および13B11の抗体だけが中和能を示しており、例示的抗体の25C3、26B9および31B4は、IFNA16に対する少なくとも大幅に低下した中和能を示し、または、IFNA16に対する中和能の喪失さえも示した(図5C)。例示的抗体13B11は、IFNA1、IFNA2、IFNA4およびg1IFNA5を強力に中和し、これに対して、非常に弱い中和をIFNA6依存的なSTAT1リン酸化に関して認めることができた。使用時のrhIFN濃度は、10ng/ml(IFNA1b)、2ng/ml(IFNA2、IFNA4、IFNA6、IFNA16)であった。g1IFNA5の上清をそのEC80希釈で使用した。

20

【0252】

13B11を除くすべての例示的抗体がこの機能的アッセイにおいてIFNA21を中和した(図5D)が、例示的抗体の25C3および13B11はIFNA6を中和しなかった(図5B)。MABの濃度が5μg/mlにおいてであり、rhIFNA(PBL)は2ng/mlにおいてであった。

30

【0253】

すべての抗体がIFNA5(g1IFNA5)を中和した(図5B)。抗体25C3および抗体13B11はIFNA8(g1IFNA8)を中和しなかった。本発明抗体の例示的な抗IFN-抗体のどれもがIFN-(IFN-ガンマ/IFNG)を中和しなかった(図5D)。上記の一般的な実験説明における場合とは別に、ここでは、HEK293T細胞を図5Dに示されるように、非処置(-)のままにしたか、あるいは、抗体の非存在下、または、5μg/mlのヒト由来の例示的なヒトMABもしくはヒトコントロールIgG(huIgG)の存在下、ヒトIFN-Gaussianルシフェラーゼ融合タンパク質を一過性に発現するHEK293T細胞の上清により刺激した(+)

40

【0254】

2回目の実験では、さらなるIFNAサブタイプが試験されている。これら2回の実験の結果が図5において一緒にされている。IFNA7、g1IFNA8、IFNA10、IFNA14またはIFNA16による刺激の後、例示的抗体19D11は、すべての試験されたIFNに対する中和能を示しており、例示的抗体の26B9および31B4はIFNA16を中和することができなかった(図5C)。例示的抗体25C3はIFNA7を完全に中和し、しかし、g1IFNA8、IFNA10、IFNA14およびIF

50

NA16のより弱い中和を示した。例示的抗体5D1は、IFNA7、g1 IFNA8、IFNA10およびIFNA16を中和し、しかし、IFNA14の中和は全く認められなかった。例示的抗体13B11は、IFNA7、IFNA10、IFNA14およびIFNA16の中和を示し、しかし、g1 IFNA8の中和は全く認められなかった。使用時のrhIFN濃度は、2ng/ml (IFNA7、IFNA10、IFNA14、IFNA16)であった。g1 IFNA8の上清をそのEC80希釈で使用した。

【0255】

すべての例示的抗体がこの機能的アッセイにおいてIFNA17を中和した(図5D)。13B11を除くすべての例示的抗体がIFNA21を中和した。2つの例示的抗体(26B9および31B4)だけがこの機能的アッセイにおいてIFNWを中和し、一方で、例示的抗体のどれもが、IFNBまたはg1 IFNGを中和しなかった。rhIFNAの濃度は2ng/mlであり、g1 IFNGの上清をそのEC80希釈で使用した。

10

【0256】

ISRE-ルシフェラーゼレポーターアッセイ

20,000個のHEK293T細胞または10,000個のHEK293T MSR細胞を、ポリ-L-リシン被覆された96ウエルプレート(BD Biocoat)(白色ハーフエリア96ウエルプレート(Cat.No.3688, Corning Inc.)) - 括弧内の値は、HEK293T MSR細胞を用いた2回目の実験選択肢における違いを示す)に播種し、Fugene HDを製造者の説明書(Promega, Madison, WI, 米国)に従って使用して100ng(50ng)の事前に混合されたISRE-ホタルルシフェラーゼレポーター構築物およびウミシイタケルシフェラーゼ構築物(Cat.No.CCS-008L, Qiagen, Hilden, ドイツ)によりリバーストランスフェクションした(図6Aにおける構築物の概略図を参照のこと)。ウミシイタケルシフェラーゼを発現する構築物が内部正規化コントロールとして役立った。細胞を、0.1mMの非必須アミノ酸、1mMのピルビン酸ナトリウム、10%(0.5%)のウシ胎児血清(Life Technologies, Carlsbad, CA, 米国)が補充されるOpti-MEM(登録商標)IReduced Serum Mediumにおいて一晩、加湿雰囲気中、37、5%CO₂でインキュベーションした。一晩のインキュベーションの後、細胞を、37で1時間プレインキュベーションされていた抗IFNA mAbまたはコントロールIgGを伴って、または伴うことなく、rhIFNAの混合物を含有する培地により24時間刺激した。24時間の刺激の後、二重ルシフェラーゼレポーターアッセイを製造者の説明書(Promega)に従って行った。

20

30

40

50

【0257】

図7において認められ得るように、例示的な抗IFN-特異的抗体の19D11、25C3、26B9、31B4(図7Aおよび図7B)および13B11(図7Cおよび図7D)の添加は、IFNA2、IFNA4およびIFNA14に依存するISRE-ルシフェラーゼレポーター活性化を妨げており、このことは本発明のこれらの抗体のIFN-中和能を示している。本発明の例示的な抗IFN-特異的抗体5D1の添加は、IFNA2およびIFNA4に対するこの抗体の中和活性を示し、IFNA14依存的なISRE-ルシフェラーゼ活性化に関しては中和を認めることができず、または、非常に弱い中和を認めることができた(図7Cおよび図7D)。ホスホ-STAT1アッセイにおいて既に認められたように、抗体25C3は、IFNA14活性に関しては、IFNA2およびIFNA4に対するその中和能との比較においてわずかにより弱い中和能を示した。同様に、例示的な抗IFN-特異的抗体13B11は、IFNA14に対するわずかに弱い中和能を示している(図7Cおよび図7D)。例示的抗体8H1は、IFNA1、A4、A5、A6、A7、A10、A16、A17およびA21に加えてIFNWを中和し、一方で、IFNA2、A8およびA14のわずかにより弱い中和を示す(図7E)。例示的抗体12H5は、すべてのアルファ型インターフェロンによる、すなわち、IFNA1、A2、A4、A5、A6、A7、A8、A10、A14、A16、A17およびA21によるISRE-ルシフェラーゼレポーター誘導を強く阻害し、一方で、IFNW媒介

のレポーター誘導には事実上影響を及ぼしていない。例示的抗体の 8H1 または 12H5 のどちらもが IFNB 媒介のレポーター誘導を妨害していない (図 7E)。

【0258】

図 8 に示されるように、例示的抗体 26B9 は、rhIFNA1、A2、A4、A5、A6、A8、A10、A14、A17、A21 および rhIFNW を強力に中和し、一方で、rhIFNA16 を弱く中和する。rhIFN の濃度は、10 ng/ml (IFNA1)、1.3 ng/ml (IFNA16) および 2 ng/ml (すべての他の rhIFN) であった。ISRE-ルシフェラーゼレポーターアッセイで求められるような IC50 値のまとめが表 4 に示される。

【0259】

図 9 において認められ得るように、例示的抗体 19D11 は、すべての rhIFNA 分子、すなわち、IFNA1、A2、A4、A5、A6、A7、A8、A10、A14、A16、A17 および A21 を中和する。rhIFN の濃度は、10 ng/ml (IFNA1)、1.3 ng/ml (IFNA16) および 2 ng/ml (すべての他の rhIFN) であった。ISRE-ルシフェラーゼレポーターアッセイで求められるような IC50 値のまとめが表 4 に示される。

【0260】

化学発光細胞結合アッセイ

30,000 個の HEK293T MSR 細胞を、白色ハーフエリア 96 ウェル組織培養プレート (Cat. No. 3688、Corning Inc.) に播種した。翌日、ヒト IFN-Gamma ルシフェラーゼ融合タンパク質を一過性に発現する HEK293T 細胞の上清を、抗 IFNA mAb、コントロール IgG、または、過剰濃度の標識されていない組換え IFNA2 と混合し、37 で 1 時間プレインキュベーションした。プレインキュベーション後、混合物を使用して、HEK293T MSR 細胞を 37 で 40 分間刺激した。結合すると、細胞を PBS により 3 回洗浄し、GammaFlash Assay Kit を製造者の説明書に従って使用して発色させた (Cat. No. 16159、Thermo Fisher Scientific)。

【0261】

図 10C に示されるように、例示的抗体 19D11 は、IFN 受容体を内因的に発現する HEK293T MSR 細胞に対する、g1 IFNA2、A4、A5、A6、A7、A8、A10、A14、A16、A17 および A21 の結合を効率的に中和する。対照的に、例示的抗体 19D11 は事実上、g1 IFNB および g1 IFNW の結合を妨害しない。本実施例で示されるすべての g1 IFN の結合は明らかに、コントロールのヒト抗体 (huIgG) によって影響されない。抗体濃度：5 μg/ml。

【0262】

図 10D において認められ得るように、HEK293T MSR 細胞に対する、g1 IFNA16 の結合が、例示的抗体 26B9 と比較した場合、例示的抗体 19D11 によってより効率的に中和される。しかしながら、例示的抗体 26B9 は、HEK293T MSR 細胞に対する、g1 IFNW の結合を強く中和しており、これに対して、例示的抗体 19D11 は、このリガンドに対する明らかな中和能を全く示さない。g1 IFNA16 および g1 IFNW の両方の結合は、コントロールのヒト抗体 (huIgG) によって影響されないままである。抗体濃度：10 μg/ml。

【0263】

実施例 4：本件抗体の有効性確認

本発明によって提供される様々な抗体が、動物疾患モデルにおいてヒト IFN- に対するそれらの中和活性に関して試験される。そのような実験を行うときには、ヒト IFN- サブタイプが病的表現型をマウスにおいて誘導すること、および、交差反応が本発明の試験された IFN- 抗体とマウス IFN- ホモログとの間で生じないことが保証されなければならない。IFN- についての適切なモデル系が先行技術において利用可能

10

20

30

40

50

でなかったので、本実施例では、マウスIFNと交差反応しないIFN - アルファ中和抗体を試験するためのそのような系が記載され、提供される。最初に、種々のIFN - サブタイプの影響を耳炎症の誘導についてインビボで試験した。具体的には、ヒトサブタイプのIFNA2a、IFNA2b、IFNA4およびIFNA14の前炎症性活性が試験されている。IFNA2aはアミノ酸23によってIFNA2bと異なる（IFNA2aではLysであり、IFNA2bではArgである）。

【0264】

耳炎症アッセイ

耳炎症の表現型を、それぞれの耳への20 μ lのPBSにおけるヒトIFNA2a、IFNA2b、IFNA4およびIFNA14またはPBSコントロールの皮内注入を、30ゲージのニードルを使用して1日おきに、0日目、2日目および4日目に与えること（20 μ l/耳、500ng/耳、1 μ g総量/マウス/日）によって8週齢のC57BL/6J（WT）マウス（Charles Riverから得られる）において誘導した。マウスを6日目に屠殺した；表5（下記）および実験予定表についての図14Aを参照のこと。

【表5】

群	n	サイトカイン	ng / 20 μ l
A	5	PBS	Na
B	5	IFNA2a	500
C	5	IFNA2b	500
D	5	IFNA4	500
E	5	IFNA14	500

表5：試験される異なるサイトカインへの動物群割り当て。n - 群における動物数、ng / 20 μ l - 耳あたり注入されたサイトカインの量。

【0265】

注入されたIFNAサブタイプの前炎症性影響を試験するために、動物の耳厚さ測定を、0日目におけるサイトカイン注入の前、および、（図14AにおいてMの文字によって示される）1日目、3日目、5日目での1日おきに、また、代替として、または、加えて、6日目において動物屠殺後に、耳あたり2回の測定によってサイトカイン投与の期間中、Mitutoyoデジタルマイクロメーターを用いて行った。

【0266】

さらに、体重が、炎症誘導に起因する何らかの起こり得る体重変化または加えられた処置に起因するそのそれぞれの減少を観測するために処置期間中モニターされる。加えて、動物の屠殺の後、耳のH&E（ヘマトキシリンおよびエオシン）組織学染色（Harris, H.F., J. Appl. Microscopy III (1900), 777~781、および、Mallory, F.B., Pathological technique. Philadelphia, Saunders (1938)を参照のこと）が行われる。

【0267】

試験された4つすべてのヒトIFNAサブタイプがサイトカイン注入後における耳の腫大を有意に誘導することができた；図14~図16、および、図17において表にまとめられる実験の結果を参照のこと。すべての耳がPBS処置の耳よりも際だって厚くなって

いた；このことは、2回目の皮内注入の後、3日目から実験終了まで、すべての群において有意であった。IFNA14がこの実験ではとりわけ5日目において最も強力であった。IFNA2aおよびIFNA4は、類似するレベルの耳肥厚を誘導した。IFNA2bが、IFNA4誘導腫大およびIFNA14誘導腫大の両方に対して最も類似していた。IFNA2bは、この実験ではIFNA2aイソフォームよりも多く腫大を誘導した；図14～図16、および、図17において表にまとめられる実験結果を参照のこと。

【0268】

この実験の結果は、この耳炎症アッセイが本発明の抗体の治療的適用可能性の試験のために適用可能であることを示す。本発明の例示的な抗IFN-抗体の19D11、26B9、31B4、5D1および13B11は、少なくともマウスIFN-サブタイプ2、サブタイプ4およびサブタイプ14との明らかな交差反応を何ら示さなかった（図19Aを参照のこと）ので、それらが、炎症の誘導のために使用されるヒトIFN-に対するそれらの中和特性に関して上記のアッセイで試験される。例示的な抗IFN-抗体25C3の、マウスIFNA2に対する明らかな結合親和性、ならびに、例示的な抗IFN-抗体の5D1および19D11の、マウスIFNA1に対する親和性が、本明細書中に記載されるインビボCyt o E a r中和実験を設計するときには考慮に入れられる。

10

【0269】

そのような処置試験が、抗体を、ヒトIFN-による炎症の誘導を試験するための上記の立案された実験予定表（図14Aもまた参照のこと）の期間中において種々の時点で注入することによって、本発明の例示的な抗IFN-抗体を用いて行われる。例えば、防止効果および/または治療効果を試験するために、本発明の例示的な抗体の1つまたは複数、実験の0日目にIFNAサブタイプ（1つまたは複数）と一緒に、あるいは、IFNAサブタイプ（1つまたは複数）とは別個に注入される。加えて、または、代替として、本発明の抗体またはそのIFN-結合断片の1つまたは複数が1日おきにIFNAサブタイプ（1つまたは複数）とともに注入される。例えば、IFNAサブタイプ（1つまたは複数）が、0日目、2日目および4日目（図14Aにおける短い矢印）に上記で示されるように注入されるならば、抗体が、1日おきの1日目、3日目および/または5日目（図14Aにおける長い矢印）に注入される。

20

【0270】

誘導された耳炎症の表現型を軽減する、および/または、そのような誘導を防止する本発明の抗体またはそのIFN-結合断片の中和能が、抗IFN-抗体処置を受ける動物、および、PBS、または、ヒトIFNAサブタイプとは別の分子に対する結合特異性（IFN-非関連の結合特異性）のヒトIgGのどちらかを受けるコントロール群において認められる耳腫大（厚さ）の比較によって調べられる。

30

【0271】

さらに、または、代替として、体重が、炎症誘導に起因する何らかの起こり得る体重変化または加えられた処置に起因するそのそれぞれの減少を観測するために処置期間中にモニターされる。加えて、動物の屠殺の後、耳のH&E（ヘマトキシリンおよびエオシン）組織学染色（上記を参照のこと）が行われる。このアッセイが、好ましくは乾癬のための代用モデルとして使用される。

40

【0272】

2回目の実験では、上記で示されたアッセイが、ヒトIFNA14（図28）、IFNA5（図29）およびIFNW（図30）の注入によってマウスの耳に誘導される炎症に対する本発明の例示的な抗体の26B9および19D11の中和特性を試験するためにいくつかの改変を伴って使用されている。図28A、図29Aおよび図30Aに示される時間スキームから認められ得るように、実験予定表がこの場合、実験0日目に（IP）注入される試験抗体およびコントロール、1日目、3日目、6日目および8日目での皮内へのサイトカイン注入、ならびに、10日目での試験動物の屠殺により10日に延長されている。試験された種々のサイトカインへの動物群割り当て、ならびに、サイトカインのそれぞれの濃度および量、試験されたそれぞれの抗体が、それぞれの図のパネルBにおいて表に

50

示される。両方の抗体、すなわち、26B9および19D11は、IgGコントロールとの比較において、IFNA14誘導による耳炎症（図28Dおよび図28E）およびIFNA5誘導による耳炎症（図29Dおよび図29E）の後でのいくつかの実験日における耳厚さの有意な低下に起因する顕著な予防的潜在的可能性および/または治療的潜在的可能性を示している。参照用のIFN-特異的抗体（図28および図29（具体的には図28Fおよび図29F）におけるRef.A）による処置もまた、いくつかの実験日においてIFNA14処置後での耳腫大の有意な減少を引き起こし、しかしながら、わずかにより少ない減少が、本発明の抗体26B9および抗体19D11と比較して、10日目に認められた（図28Dにおける26B9についての曲線Fおよび図28Eにおける19D11についての曲線Gを図28FにおけるRef.Aについての曲線Hと、また、IgGコントロールについてのそれぞれの図における曲線Eと比較のこと）。そのうえ、例示的抗体26B9はIFNW誘導の耳腫大の有意な減少を実験9日目に示し（図30D）、抗体19D11およびRef.Aの注入は、非特異的IgGによる処置と比較して、耳腫大の有意な減少を何ら示さなかった。したがって、本発明により提供される抗体は、高まったIFNA活性および/またはIFNW活性に伴う疾患の防止および/または処置において使用されるための大きい潜在的可能性を有する。

10

【0273】

Cytokine Assay:

このアッセイでは、マウスコホート（c57/bl6、7週～8週）に、10ulのPBSにおける62.5ng～1000ngのサイトカイン、例えば、少なくとも1つのIFNAサブタイプ（例えば、IFNA2a、IFNA2b、IFNA4またはIFNA14など）またはいくつかのIFNAサブタイプの混合物（またはPBSコントロール）が48時間～72時間毎に足首に関節内（IA）注入される。その後、軸に沿った足首の厚さ測定をMitutoyoデジタルマイクロメーターにより行う。動物は重量測定を毎日受け、それぞれのIFNAサブタイプ（1つまたは複数）が、マウスをイソフルランにより麻酔しながら投与される。実験の時間枠が、本発明の抗IFN-抗体（1つまたは複数）の注入を伴って耳炎症アッセイについて上記で示されるように設計され、この場合には、それぞれ、コントロール群はPBSまたは上記で示されるようなIFN-非関連の結合特異性のヒトIgGのどちらかを受ける。足首腫大の軽減が本発明の抗体の治療効果の読み取りとして使用される。このアッセイが、好ましくは関節炎（例えば、関節リウマチ）のための代用モデルとして使用される。

20

30

【0274】

実施例5：例示的なIFN-抗体のエピトープマッピング

マッピングの第1の工程として、異なった抗原結合部位に対する本発明の様々な抗IFN-MABの示差的結合を、異なる結合部位の数を求めるために調べた。

【0275】

この目的のために、様々なMABをヒト（hMAB）またはマウス（hmMAB）のどちらかのFcとともに発現させ、交差競合実験を、抗原をプレートに被覆することによって、また、大過剰のヒトMABの存在下におけるhmMABの結合を検出することによって行った。リガンドに結合したhmMABの検出を、一次抗体のFc部分に対して向けられるHRPコンジュゲート化二次抗体によって行った。

40

【0276】

図2Aおよび下記の表6Aから認められ得るように、本発明の例示的な抗IFN-抗体の19D11、26B9、31B4および13B11は、IFNA2の結合について相互に競合し、しかし、抗体5D1および抗体25C3とは競合せず、このことは、5D1および25C3が、19D11、26B9、31B4および13B11とは別のIFNA2の部位と結合することを示している。同じ競合パターンがIFNA4およびIFNA14について認められる場合があり、しかしながら、13B11はIFNA4の結合について競合せず、IFNA14の競合について、19D11、26B9、31B4とほんの弱く競合するだけであり、このことは、これらの抗体が結合するエピトープがこのIFN-

50

サブタイプにおいて保存されていないかもしれないこと、具体的にはIFNA4において一致していないかもしれないことを示している。1回目のアプローチの結果はまた、IFNA2およびIFNA4の結合についての本発明の抗IFN-抗体の5D1および25C3の相互の弱い競合を示しており、このことは、これらの抗体の、可能性のある部分的に重複するエピトープを示している；図2A、図2B、ならびに、表5A、表5Bを参照のこと。そのうえ、IFNA14に対する一致しない競合パターンが認められる場合があり、この場合、hMAB 25C3は、hmMAB 5D1との強い競合を示し、しかし、逆の状況におけるほんの弱い競合(hmMAB 25C3に対する、hMAB 5D1)が認められる場合があり、このことは、IFNA14特異的エピトープに対する25C3抗体の優先の可能性を示している；図2Cおよび下記の表6Cを参照のこと。

10

【表6】

A ヒトIFNA2		ヒトMAB競合剤					
		19D11	25C3	26B9	31B4	5D1	13B11
hmMAB Bの結合 の競合	19D11	+++++	-	+++++	+++++	-	++++
	25C3	-	+++++	-	-	+	-
	31B4	+++++	-	+++++	+++++	(+)	++++
	5D1	-	(+)	-	-	+++ (+)	-
	13B11	-	-	-	-	-	+++ (+)

20

B ヒトIFNA4		ヒトMAB競合剤					
		19D11	25C3	26B9	31B4	5D1	13B11
hmMAB Bの結合 の競合	19D11	+++++	-	++++	+++ (+)	-	-
	25C3	-	++++	-	-	(+)	-
	31B4	+++++	-	+++++	+++++	-	+++
	5D1	-	(+)	-	-	+++ (+)	-
	13B11	-	-	-	-	-	+ (+)

C ヒトIFNA14		ヒトMAB競合剤					
		19D11	25C3	26B9	31B4	5D1	13B11
hmMAB Bの結合 の競合	19D11	+++++	-	++++	+++ (+)	-	++
	25C3	(+)	+++++	(+)	-	+++	(+)
	31B4	+++++	-	+++++	+++++	++	++ (+)
	5D1	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	(+)
	13B11	+++ (+)	-	+++ (+)	+++	-	++++

30

表6：本発明の例示的抗体の交差競合実験の結果。ヒトMAB(hMAB)を、マウスFcを有するMAB(hmMAB)を加える前に、それぞれの抗原により被覆されるプレートに大過剰で加えた。

40

【0277】

そのそれぞれの抗原に対するMABの結合領域を、例えば、PepStar(商標)分析によってマッピングすることができる。したがって、重複する20merのペプチド(15アミノ酸の重複)が、目的とするIFN-サブタイプ(例えば、IFNA2、IFNA4およびIFNA14、すべての知られている変異体を含む)を網羅するために設計される。これらのペプチドおよび(陽性コントロールとしての)全長抗原をマイクロアレイにスポットし、このペプチドマイクロアレイを一次抗体とインキュベーションし、その後、一次抗体のFc部分に対して向けられる蛍光標識された二次抗体とインキュベーションする。立体障害によって引き起こされる偽陰性を避けるために、最適化された親水性リ

50

ンカー部分がガラス表面と抗原因来ペプチド配列との間に挿入される。

【0278】

そのようなペプチドマッピングが、ヒトIFNA2、それぞれのヒトIFNAWの18merペプチドのペプチドアレイの上で、本発明の例示的抗体の19D11および26B9について行われている。アッセイの結果が図27に示される。例示的抗体19D11はIFNA2のペプチド19(SAAWDETL LDKFYTELYQ、配列番号99)およびペプチド32(RITLYLKEKKYSPCAWEV、配列番号100)に特異的に結合する(図27B)。抗体26B9はIFNA2のペプチド22(YTELYQLNDLEACVIQG、配列番号101)に特異的に結合し(図27C)、かつ、IFNAWのペプチド23(TGLHQQLQHLETCLLQVV、配列番号102)に特異的に結合する(図27D)。

10

【0279】

実施例6：LIPSアッセイによるIFNAサブタイプに対するMAB結合の決定

ELISAアッセイに加えて、種々のIFNAサブタイプに対するMABの結合をLIPSアッセイによって求めた。IFNA5-、IFNA6-およびIFNA8-Gaussia融合タンパク質を、下記の表8に示されるプライマーを使用して、本出願人の国際出願公開WO2013/098419における158頁の実施例10および165頁~167頁の実施例15に記載されるように(それらの開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる)、GaussialシフェラーゼとN末端でそれぞれが融合されるIFNA5、IFNA6およびIFNA8をクローン化し、それらをHEK293細胞の一過性トランスフェクションによって個々に発現させること(2日後での上清の採取)によって産生させた。MAB(4μg/ml)を、MultiScreen HTS Filter Plate(Millipore)のウエルにおいて緩衝液A(50mM Tris(pH7.5)、100mM NaCl、5mM MgCl2、1% Triton X-100)で希釈し、等量のプロテインAアガロースビーズ(Exalpha)と1時間、回転式振とう機の上でインキュベーションした。IFNA5-またはIFNA6-またはIFNA8-Gaussia融合タンパク質の2つの体積(100万LU)を加え、プレートを1時間インキュベーションした。プレートを緩衝液Aにより5回洗浄し、さらに2回、PBSにより洗浄し、その後、基質(Gaussia Luciferase Flash Assay Kit、Pierce)を加えた。ルミネセンス(CPS)を、EnSpire(Perkin Elmer)を使用して読み取った(図11B、図12A~図12Cおよび図13を参照のこと)。非関連の抗原に結合するヒト抗体(ヒトMAB)が陰性コントロールとして使用されている。

20

30

【0280】

図11および図12に示される結果から認めることができるように、例示的MABの13B11は、IFNA2、4、5、6、10および14に結合し、しかし、IFNA1/13には結合しないか、または弱く結合し、IFNA8には結合しない。さらに、本明細書中に記載される実験において提供される結果、例えば、実施例2および実施例3において提供される結果は、例示的MABの13B11が、IFNA2、4、5、14を中和し、しかし、IFNA6、8およびIFNA21を中和しないことを示す。実施例2、実施例3および実施例6に記載される実験によって提供されるような本発明の例示的抗体の結合特性および中和特性に関するすべての結果が下記の表7にまとめられる。

40

【表 7】

抗原	19D11		25C3		26B9		31B4		5D1		13B11	
	B	N	B	N	B	N	B	N	B	N	B	N
IFNA1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+++	+++
IFNA2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
IFNA4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
IFNA5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
IFNA6	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+
IFNA7	nd	+++	nd	+++	nd	+++	nd	+++	nd	+++	nd	+++
IFNA8	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-
IFNA10	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
IFNA14	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++	+++
IFNA16	+++	+++	+++	+	+++	-	+++	-	+++	+++	+++	+++
IFNA17	nd	+++	nd	+++	nd	+++	nd	+++	nd	+++	nd	+++
IFNA21	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
IFNW	-	-	nd	-	+++	+++	nd	+++	nd	-	nd	-

10

20

表 7：本明細書中に記載される ELISA アッセイ、LIPS アッセイまたは中和アッセイで得られるような本発明の例示的抗体による種々の IFN サブタイプの結合（B）および中和（N）。本発明の例示的なヒト抗 IFN - 抗体の 19D11 はすべての IFNA サブタイプを中和し、IFNW を中和しない。例示的抗体 26B9 は、IFNW と、IFNA16 を除くすべての IFNA サブタイプとを中和する。+ / ++ / +++ = 結合、それぞれの中和；- = 結合 / 中和の欠如。nd = 測定されず；B = 結合、これは、市販の組換えタンパク質を用いた ELISA によって、または、自社製造された IFN - Gaussian ルシフェラーゼ融合タンパク質を用いた LIPS によって求められる；N = 中和、これは、ISRE - ルシフェラーゼレポーターアッセイによって、または、ホスホ - STAT1 アッセイによって求められる。

30

【0281】

ELISA アッセイ、LIPS アッセイおよび中和アッセイにおける本発明の例示的抗体による種々の IFNA サブタイプの結合および中和に関する以前の実験は、類似した結果を与えた。

40

【表 8 - 1】

遺伝子	AA	プライマー名	配列および配列番号
IFNA1	24-189	IFNA1F	TTTGGATCCTATGTGATCTCCCTGAGACCCACAGCCTGGA 配列番号:45
		IFNA1R	TTTGCGGCCGCGACCAGATGTTATTCCTTCCTCCTTAATCTTTC 配列番号:46
IFNA2	24-188	IFNA2F	TTTGGGATCCTCTGTGATCTGCCTCAAACCCACA 配列番号:47
		IFNA2R	TTTGCGGCCGCTTACTTCTTAACTTTCTTGCA 配列番号:48
IFNA4	24-189	IFNA4F	TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGG 配列番号:49
		IFNA4R	TTTGCGGCCGCTCAATCCTTCCTCCTTAATCTTTTTGCAAGTTGTG TTGAAAAC 配列番号:50
IFNA5	22-189	IFNA5F	TTTGGATCCTACTGGGCTGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGAG 配列番号:51
		IFNA5R	TTTGCGGCCGCTCATTCCTTCCTCCTTAATCTTCTTGCAAGTTGTG C 配列番号:52
IFNA6	21-189	IFNA6F	TTTGGATCCTATCTCTGGACTGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCT GGGTC 配列番号:53
		IFNA6R	TTTGCGGCCGCTTATTCCTTCCTCCTTAACCTTCTTGCAAGTTTTC 配列番号:54
IFNA7	24-189	IFNA7F	TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGC 配列番号:55
		IFNA7R	TTTGCGGCCGCGAACCAGTTTTCAATCCTTCCTCCTTAATCCTTTT TT 配列番号:56
IFNA8	23-189	IFNA8F	TTTGGGATCCTCTGTGATCTGCCTCAGACTCACA 配列番号:57
		IFNA8R	TTTGCGGCCGCTCATTCCTTACTCTTCAATCTT 配列番号:58
IFNA10	24-189	IFNA17F	TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGGG 配列番号:59
		IFNA4R	TTTGCGGCCGCTCAATCCTTCCTCCTTAATCTTTTTGCAAGTTGTG TTGAAAAC 配列番号:50
IFNA14	24-189	IFNA14F	TTTGGATCCTATGTAATCTGTCTCAAACCCACAGCCTGAA 配列番号:60
		IFNA14R	TTTGCGGCCGCTCAATCCTTCCTCCTTAATCTTTTTGCAAGTTGTG T 配列番号:61
IFNA16	24-189	IFNA16F	TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACT 配列番号:62
		IFNA16R	TTTGCGGCCGCTCAATCCTTCCTTCTTAATCC 配列番号:63
IFNA17	24-189	IFNA17F	TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCTGGG 配列番号:59
		IFNA17R	TTTGCGGCCGCGTTGAACCAGTTTTCAATCCTTCCTCCTTAATA 配列番号:64
IFNA21	24-189	IFNA21F	TTTGGATCCTATGTGATCTGCCTCAGACCCACAGCCT 配列番号:65
		IFNA21R	TTTGCGGCCGCTCATTCCTTCCTCCTTAATCTTCTTGAAAAA 配列番号:66

10

20

30

40

【表 8 - 2】

IFNB	22- 187	IFNB1F	TTTGGATCCTAATGAGCTACAACCTTGCTTGGATTCCCTAC 配列番号:67
		IFNB1R	TTTGCGGCCGCTCAGTTTCGGAGGTAACCTGTAAGTCT 配列番号:68
IFNG	24- 166	IFNGF	TTTGGATCCTACAGGACCCATATGTAAAAGAAGCAGAAAAC 配列番号:69
		IFNGR	TTTGCGGCCGCCATTACTGGGATGCTCTTCGACCT 配列番号:70

10

表 8 : G a u s s i a - ルシフェラーゼ - I F N 融合構築物をクローン化するために使用されるすべての I F N タンパク質および使用されたプライマー配列の概略

【0282】

G a u s s i a ルシフェラーゼに対する融合でのヒト I F N サブタイプのクローニングシグナルペプチドを伴わない、I F N A 1、I F N A 6、I F N A 7、I F N A 8、I F N A 10、I F N A 14、I F N A 16、I F N A 17、I F N A 21、I F N W、I F N B、I F N G、I F N E および I F N K のコード配列を、ホタルルシフェラーゼに代わってプラスミドに置き換えられる生来的に分泌される G a u s s i a ルシフェラーゼ (G l u c) の下流側において改変 p P K - C M V - F 4 融合ベクター (P r o m o C e l l G m b H、H e i d e l b e r g、ドイツ) にクローン化した。

20

【0283】

実施例 7 : I S R E ルシフェラーゼレポーター中和アッセイによる、例示的なヒト由来 I F N A m A b の I C 5 0 分析

I S R E - ホタルルシフェラーゼレポーター構築物およびウミシイタケルシフェラーゼ構築物 (C a t . N o . C C S - 0 0 8 L、Q u i a g e n、H i l d e n、ドイツ) を一過性に発現する H E K 2 9 3 T M S R 細胞 (C a t . N o . R 7 9 5 0 7、I n v i t r o g e n、C a r l s b a d、C A、米国) を示されるように、ヒト由来の I F N A m A b の 2 6 B 9 (図 8 A ~ 図 8 E)、2 5 C 3 (図 9 A ~ 図 9 E) または 1 9 D 1 1 (図 1 0 A ~ 図 1 0 E) の存在下、2 n g / m l の r h I F N A 2、r h I F N A 4、r h I F N A 1 4 により、または、ヒト I N F - G a u s s i a ルシフェラーゼ融合タンパク質 (I F N A 5、I F N A 8) を一過性に発現する H E K 2 9 3 T 細胞の上清により刺激した。24時間の刺激の後、二重ルシフェラーゼレポーターアッセイを製造者の説明書 (P r o m e g a、M a d i s o n、W I、米国) に従って行った。

30

【0284】

確認実験では、上記で記載されるように I S R E - ホタルルシフェラーゼレポーター構築物およびウミシイタケルシフェラーゼ構築物を一過性に発現する H E K 2 9 3 T M S R 細胞を示されるように、ヒト由来の I F N A m A b の 2 6 B 9 (図 8 F ~ 図 8 R) または 1 9 D 1 1 (図 1 0 F ~ 図 1 0 Q) の存在下、1 0 n g / m l の r h I F N A 1、2 n g / m l の r h I F N A 2、r h I F N A 4、r h I F N A 5、r h I F N A 6、r h I F N A 8、r h I F N A 1 0、r h I F N A 1 4、r h I F N A 1 7、r h I F N A 2 1、1 . 3 n g / m l の r h I F N A 1 6 により刺激した。24時間の刺激の後、二重ルシフェラーゼレポーターアッセイを製造者の説明書 (P r o m e g a、M a d i s o n、W I、米国) に従って行った。同じ実験構成がさらに、ヒト由来 m A b の 8 H 1 (図 2 0)、1 2 H 5 (図 2 1) および 5 0 E 1 1 (図 2 2) の I C 5 0 分析を行うために使用されている。アッセイの結果が上記の表 4 にまとめられる。

40

【0285】

実施例 8 : 表面プラズモン共鳴 (S P R) 技術を使用する抗体親和性測定

本発明の抗体の親和性決定のために、S P R 測定が、国際出願公開 W O 2 0 1 3 / 0 9 8 4 1 9 の 1 6 3 頁 ~ 1 6 5 頁での実施例 1 4 (その開示内容は参照によって本明細書中に組み込まれる) に記載されるような類似した実験構成において本発明の目的とする分子

50

を使用して、ProteOn (商標) XPR36装置を製造者(BIO-RAD; Hercules, CA、米国)の説明書に従って使用して行われる。代替として、または、加えて、類似する分析が、Biacore SPR装置を製造者の説明書に従って使用して行われる。

【0286】

本発明の例示的抗体の19D11および26B9に対して行われるSPR測定についての結果が図26に示され、1:1の結合速度論が、IFNA2b、IFNA4、IFNA14に対してこれらの抗体について認められ、抗体26B9に関してはIFNWに対してもまた認められる。ヒトIFNA4およびIFNA14に対する親和性が、IFN2bについてはサブピコモル濃度範囲およびサブナノモル濃度範囲にある。26B9はまた、サブピコモル濃度の親和性でヒトIFNWと結合する。

10

【0287】

実施例9: 化学発光細胞結合アッセイ

インターフェロン-Gaussialシフェラーゼ

30,000個のHEK293T MSR細胞を白色ハーフエリア96ウエル組織培養プレート(Cat.No.3688、Corning Inc.)に播種した。翌日、ヒトIFN-Gaussialシフェラーゼ融合タンパク質を一過性に発現するHEK293T細胞の上清を、抗IFNA mAb、コントロールIgG、または、過剰濃度の標識されていない組換えIFNA2と混合し、37で1時間プレインキュベーションした。プレインキュベーション後、その混合物を使用して、HEK293T MSR細胞を37

で40分間刺激した。結合すると、細胞をPBSにより3回洗浄し、Gaussialシフェラーゼアッセイを、Gaussia Flash Assay Kitを製造者の説明書に従って使用して発色させた(Cat.No.16159、Thermo Fisher Scientific)。

20

【0288】

膜貫通抗体に対する結合

30,000個のHEK293T MSR細胞を白色ハーフエリア96ウエル組織培養プレート(Cat.No.3688、Corning Inc.)に播種した。播種期間中に、細胞を、Fugene HD(Cat.No.E2311、Promega、Madison, WI、米国)を使用して、抗IFN mAbの26B9の膜貫通型(26B9-TM)をコードするcDNAの100ngによりトランスフェクションした。表面の抗体(26B9-TM)発現をトランスフェクション後48時間で、細胞に基づくELISAで分析した(図24A)。トランスフェクション後48時間で、ヒトIFNW-Gaussialシフェラーゼ融合タンパク質(g1 IFNW)を一過性に発現するHEK293T細胞の上清を使用して、事前にトランスフェクションされたHEK293T MSR細胞を37で40分間刺激した。代替として、g1 IFNWの上清を抗IFN mAbまたはコントロールIgGと混合し、37で1時間プレインキュベーションした。プレインキュベーション後、混合物を使用して、26B9-TMを一過性に発現するHEK293T MSR細胞を37で40分間刺激した。結合すると、細胞をPBSにより3回洗浄し、Gaussialシフェラーゼアッセイを、Gaussia Flash Assay Kitを製造者の説明書に従って使用して発色させた(Cat.No.16159、Thermo Fisher Scientific)。これにより、g1 IFNWが、26B9-TMを発現する細胞に特異的に結合することが示された(図24B)。

30

40

【0289】

抗IFNW抗体の交差競合アッセイ

上記実験構成はまた、本発明の例示的抗体の26B9、31B4および8H1との間での交差競合を試験するために使用されている(図25を参照のこと)。HEK293T MSR細胞を、26B9-TMをコードするcDNAによりリバーストランスフェクションした。トランスフェクション後48時間で、g1 IFNWを、可溶性抗IFNW抗体

50

の26B9、31B4、8H1、またはコントロールIgG(huIgG)と混合し、1時間ブレインキュベーションした。インキュベーション後、混合物を、トランスフェクションされた細胞に加え、結合を化学発光細胞結合アッセイで分析した。26B9-TMに対するg1IFNWの結合が、可溶性26B9による、また、クローン的に関連した31B4抗体による用量依存的な競合を受ける。対照的に、結合は、コントロールIgGによって、また、例示的な抗IFNW抗体8H1によって影響されない。これらの結果は、例示的抗体の26B9および31B4が、類似するエピトープを共有し、一方、8H1は、異なったエピトープに結合するようであることを示している。

【図1-1】

A 5D1(可変重鎖配列VH) - 配列番号2
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 SVQLVQAGAEVYKAPGESLRSLCKVSGYTFYSYWISWVRQIPGKGLEWVMVKIDPRDSYTIYNPSFQG
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 HVSISVDRSITTYLQWSSLQASDTAIYYCVHYLTQSLVDYFDHWGQGITLVAVSS

5D1(可変カッパ鎖配列VL) - 配列番号4
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 DIQMTQSPSSLSASVGDSDVITTCRASQSVSNYFH#YRQKPGKAPELLIYSASNLQT
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 GVPSRFTGSGSGTTECTLTITSLQPDFDFATYYCQQTHGYPTTFGGQTKLDVR

B 13B11(可変重鎖配列VH) - 配列番号10
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 DVQLLQSGGGLIQPGSLRSLCAASGFTFKDYAMS#WRQAPGKGLEWVSVISRSGNIVDYVDSVKG
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 RFTVSRDNSNNTLFLQMDGLRADDTAIYYCAKPKDMIVVVPAGFDSWGQGITLVSVSS

13B11(可変カッパ鎖配列VL) - 配列番号12
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 DIQMTQFPSTLSASVGDSDVITTCRASQSIWAWLWYQKPGKAPKLLIYKGSRLN
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 GVPSRFTGSGSGTTECTLTITSLQPDFDFATYYCQQYKWTTFGGQTKVEIK

C 19D11(可変重鎖配列VH) - 配列番号18
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 FVQILFSGAEVYKAPGESLRSLCKVSGYTFYSYPIWVRQAPGKGLEWVMVKRILPALGVNTYQNFGR
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 RITITADKSPPLTAYLELSSLRFDATVYYCASPSADIIPSILGTTLEAFWGGQGITLVTVSS

19D11(可変カッパ鎖配列VL) - 配列番号20
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 EIVLTQSPGTLISLSPGEGATLSCRASQVNSRHYLWYQKPGQSPRLLIYGGSSRAT
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 GVPDRFSGSGSGTDFSLTISRLTEFDFAVFYCQSYHSPPVYTFGGQTKVEIK

Fig. 1

【図1-2】

D 25C3(可変重鎖配列VH) - 配列番号22
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 EMQLMESGGGLVQIPGGSLRSLSCVASGFTEKSFAMSNVVRQAPGKGLEWVWASVGSQGGSKYIAPSVK
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 RFSISGRDNNNTLYVQMNLSLGVEDTAFYYCVKETDAVATMDALDMWGQGITLVIIVTS

25C3(可変カッパ鎖配列VL) - 配列番号24
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 DIRVTQSPSSLSASVGDSDVITTCQTSQSVNIYLNWYQKPGKGFQLLISAASTLQS
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 GVPSRFTGSGSGTDFILTITSLQPEDSASYCQQYITPTTFGGQTKVEIK

E 26B9(可変重鎖配列VH) - 配列番号30
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 QILLQESGPGLVKPTETLSLTCVSGDSISSDSHYWAWLRQPPKPGKEWICSVYFSSMTHYNPSLKS
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 RVSIQVDKPKNQFSLKVTQSVIVADTATYYCARQALARVGMNWDFWGGQGITLVTVSS

26B9(可変カッパ鎖配列VL) - 配列番号32
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 DIIMTQSPDLSLVSLGEGVTINCKSSQSVFTSSNKSCLA#YQKPGKSPKLLIYWASTRQS
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 GVPDRFSGSGSGTDFSLTITSLQAEVAVFYCQQCQTSPTTFGGGTRLEIK

F 31B4(可変重鎖配列VH) - 配列番号38
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 QIQLQESGPGLVKPTETLSLTCVSGDSISQSSHYWAWLRQPPKPGKEWICSVYFSSMTHYNPSLKS
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 RVSIQVDKPKNQFSLKVTQSVIVADTATYYCARQALARVGMNWDFWGGQGITLVTVSS

31B4(可変カッパ鎖配列VL) - 配列番号40
 FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---
 DIIMTQSPDLSLVSLGEGVTINCKSSQSVFTSSNKSCLA#YQKPGKSPKLLIYWASTRQS
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 GVPDRFSGSGSGTDFSLTITSLQAEVAVFYCQQCHASPTTFGGGTRLEIK

Fig. 1 (続き)

【 図 1 - 3 】

G 8H1(可変重鎖配列VH)ー配列番号76
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGQTFT**SDDIN**NVVRQAPGQGLEWMM**WRNPNTQDTGYAOKFHG**
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 RLTLTSSNSIS¹TSYLELSGLRSEDTAVYICAR**AGTSTLTGHYFALGV**WGQGT²TVIVSS

8H1(可変カッパ鎖配列VL)ー配列番号78
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 DIQVLTQSPSSLSASVGRVTITIC**QATQDISKYL**NWYQOKPGKVPKLLI**YETS**NLEV
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 GVPSTRFSGSGSGTHFTLTITISSLQAEDFATYYC**QQYENFPFT**FGGGTKVEIK

H 12H5(可変重鎖配列VH)ー配列番号84
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 QVQLIQSGPEVKKPGASVKVSCKASENTFD**THYIN**NVVRQAPGGLTWLG**WLNPTTGTGTFPQKFKG**
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 RVILTS¹DTSLNTAYMEVSR²LTSEDTAVYFCAR**VLLKLSDEYNYGFDV**WGQGT³TVIVSS

12H5(可変カッパ鎖配列VL)ー配列番号86
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 DIQVLTQSPSSLSASIGDRVTITIC**RASQNILTFIN**WYQHKPGKAPKLLI**YAASV**LQN
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 EVPSRFSGSGSGTDFTLTITSLQPD¹DFGTYIC**QQTYLTPQCS**FGGGTKVEIK

I 50E11(可変重鎖配列VH)ー配列番号92
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 QVQLVQSGAEMKKPGSSVKVSKDFGGTFS**VYGVN**NVVRQAPGQGLEWMM**GLIPVIGPANYAQR**FQG
 FR3-----CDR3-FR4-----
 RITITADESTAYMELSSLRFD¹DTAIYCV**RDNEY**WGQGT²LVTVSS

50E11(可変カッパ鎖配列VL)ー配列番号94
 FR1-----CDR1-FR2-----CDR2-----
 EMVLTQSPATLSLSPGERATL**SRASQTVSTFLA**WYQOKPGQVPRLLV**YDISS**RAN
 FR3-----CDR3-----FR4-----
 GTPARFSGGSGSGTDFTLTITSSLELEDFAVYIC**QWRSNWPPSLT**FGGGTKVEIK

Fig. 1 (続き)

【 図 2 - 1 】

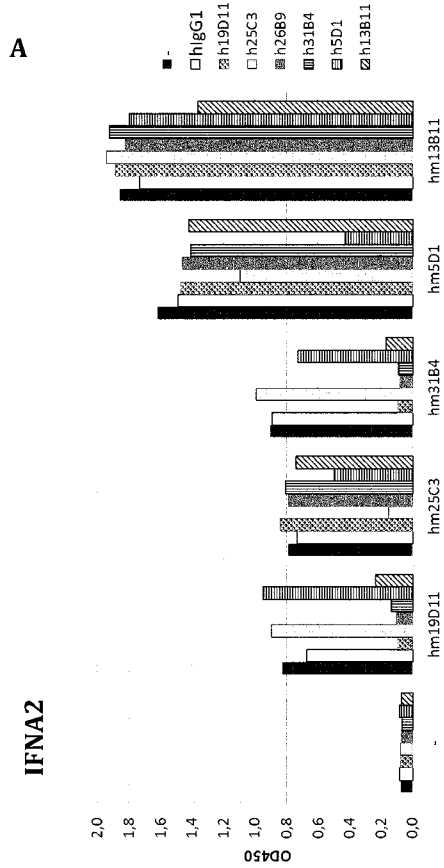


Fig. 2

【 図 2 - 2 】

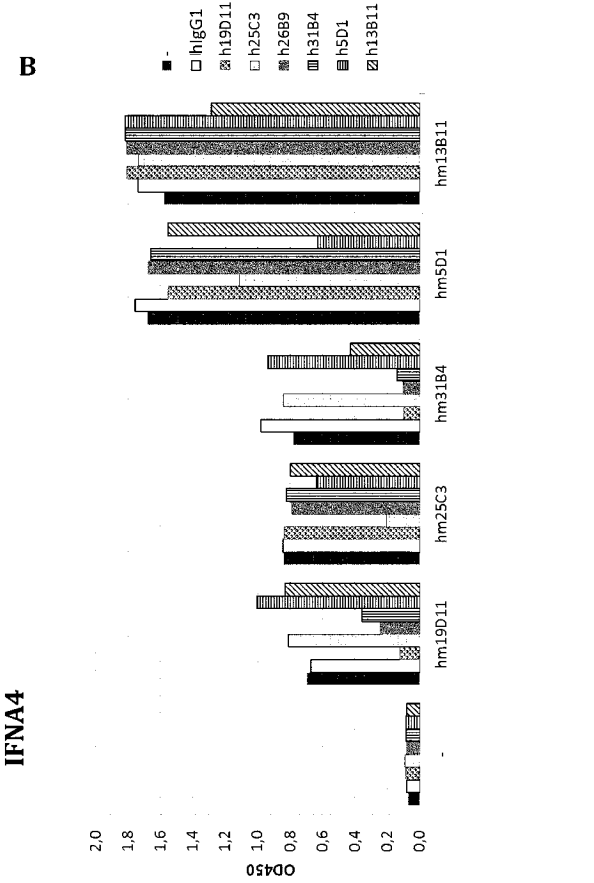


Fig. 2 (続き)

【 図 2 - 3 】

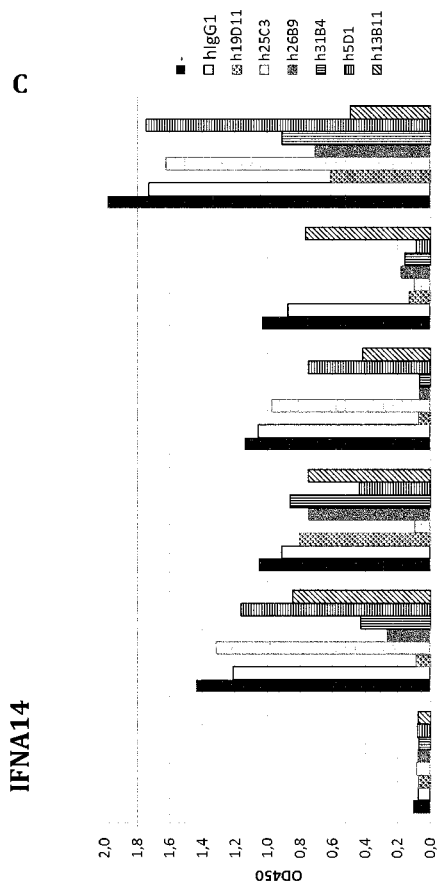


Fig. 2 (続き)

【 図 5 - 2 】

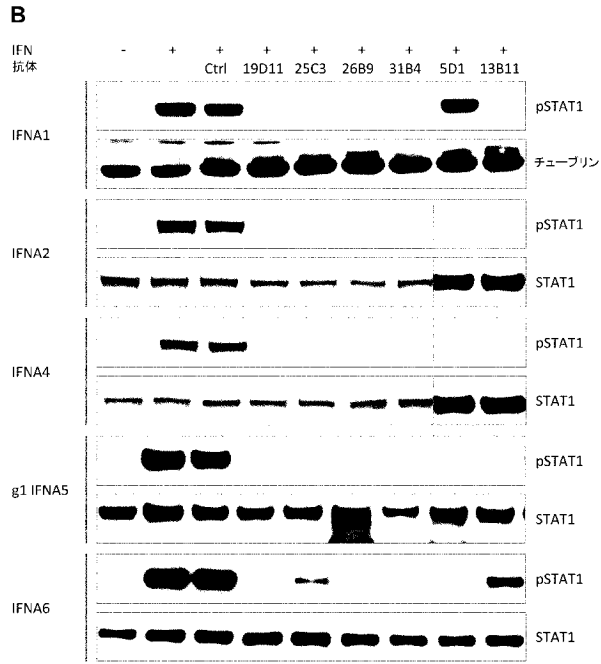


Fig. 5 (続き)

【 図 5 - 3 】

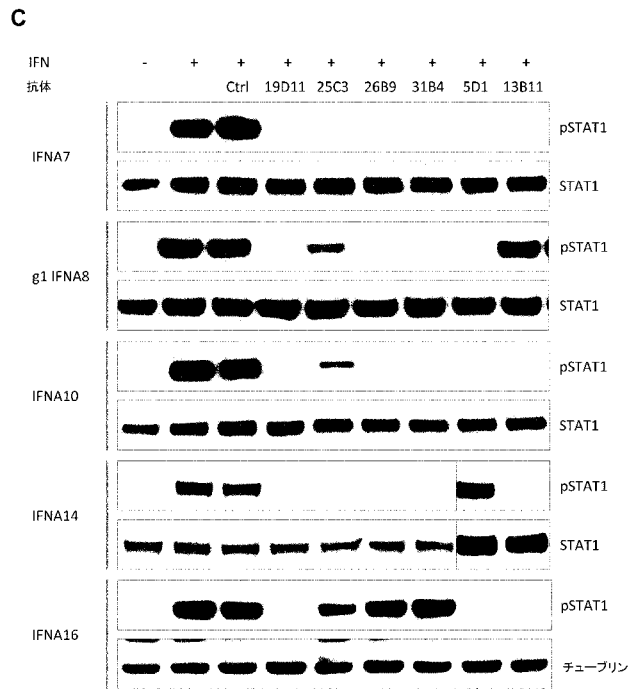


Fig. 5 (続き)

【 図 5 - 4 】

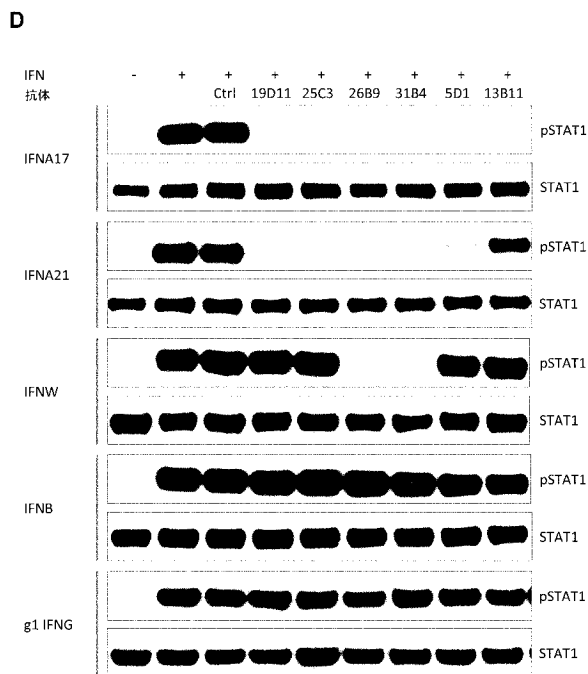


Fig. 5 (続き)

【 図 6 】

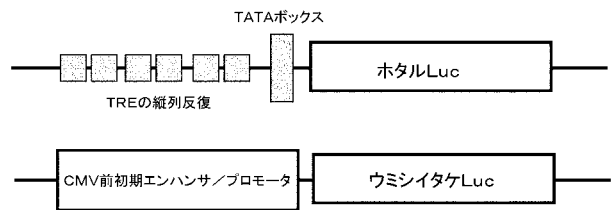


Fig. 6

【 図 7 - 1 】

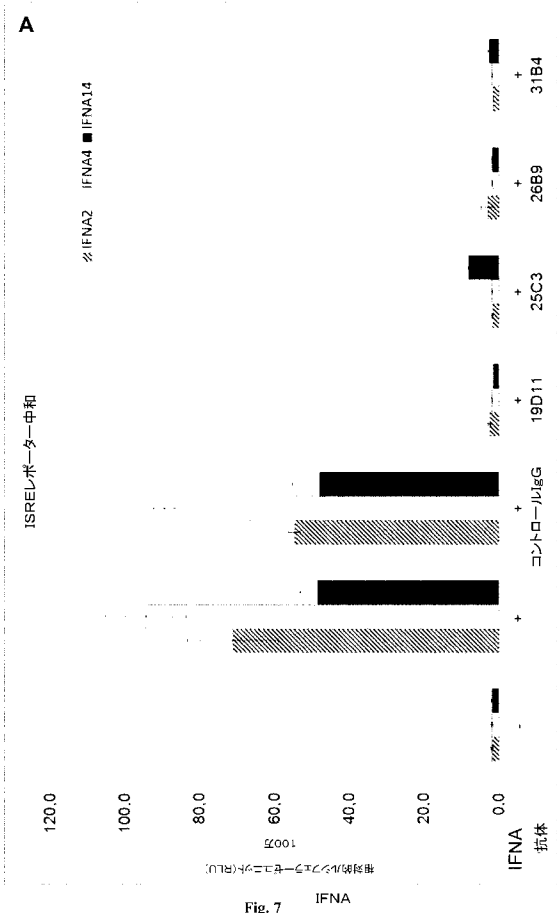


Fig. 7

【 図 7 - 2 】

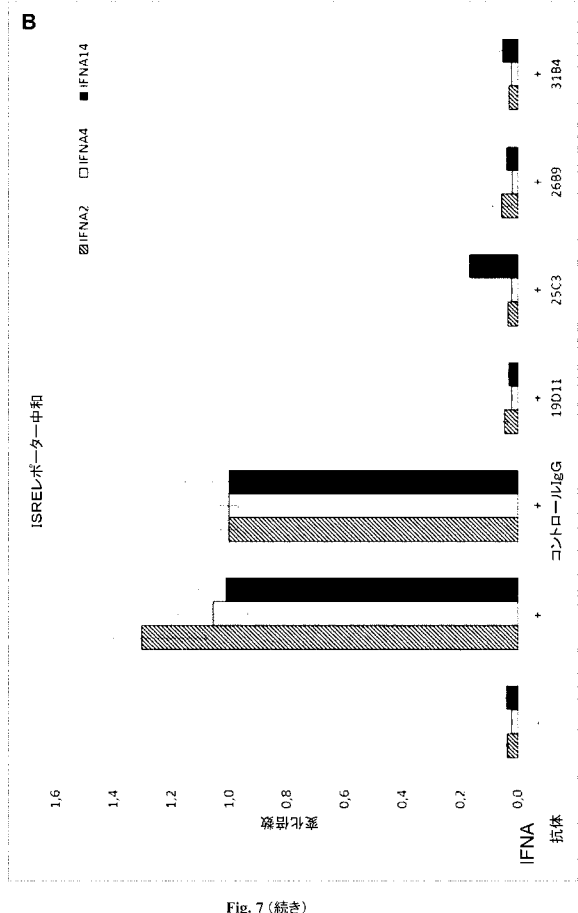


Fig. 7 (続き)

【 図 7 - 3 】

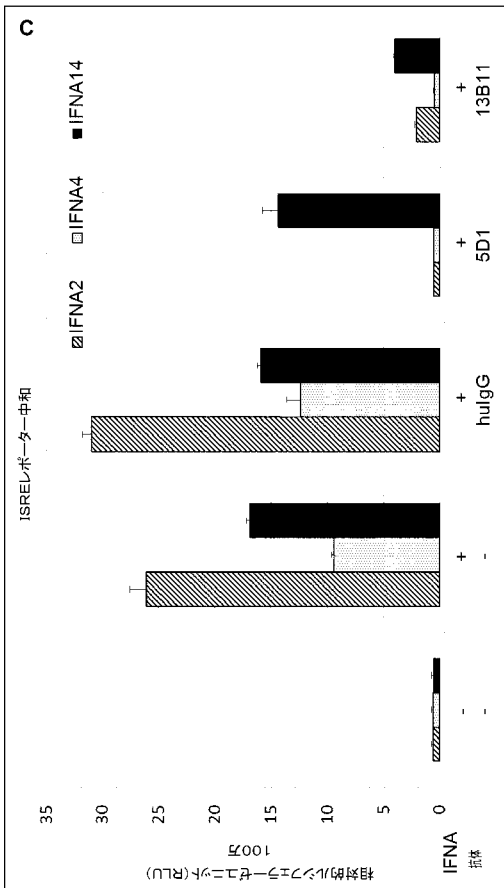


Fig. 7 (続き)

【 図 7 - 4 】

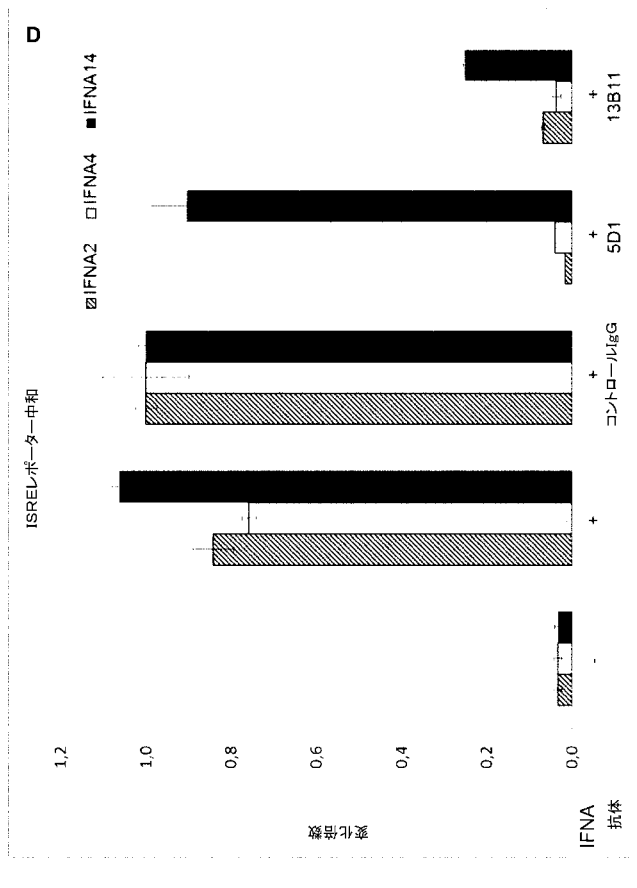


Fig. 7 (続き)

【 図 7 - 5 】

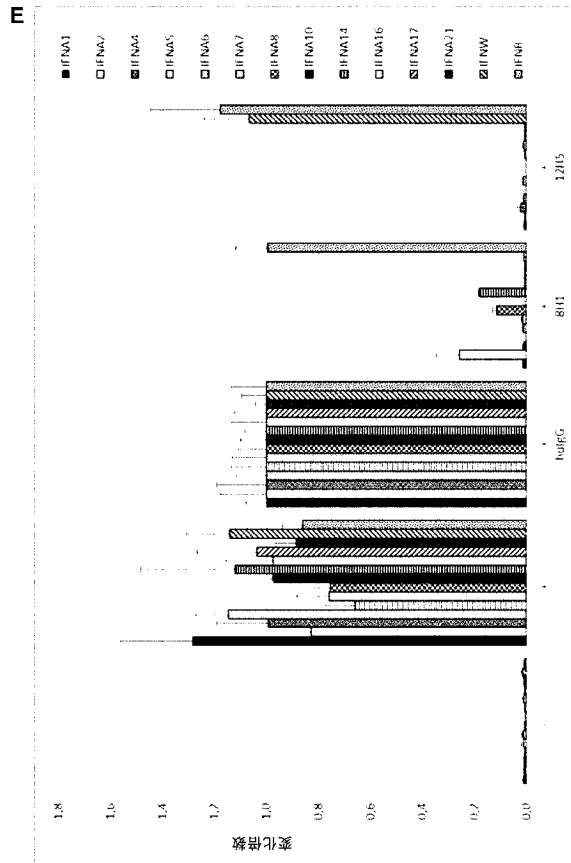


Fig. 7 (続き)

【 図 8 - 1 】

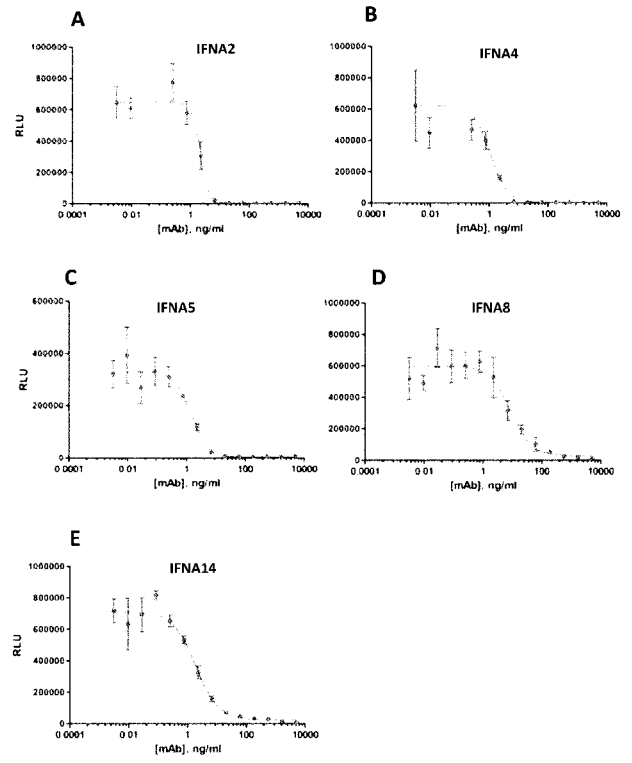


Fig. 8

【 図 8 - 2 】

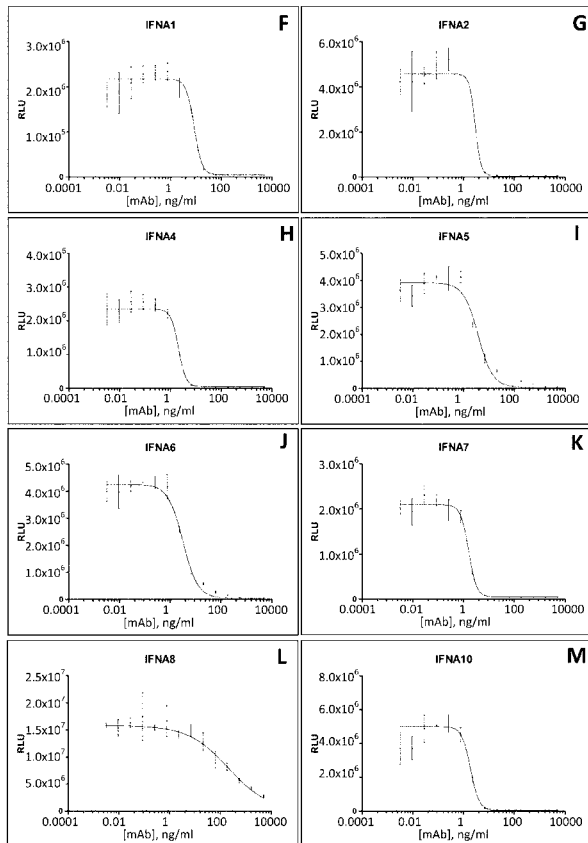


Fig. 8 (続き)

【 図 8 - 3 】

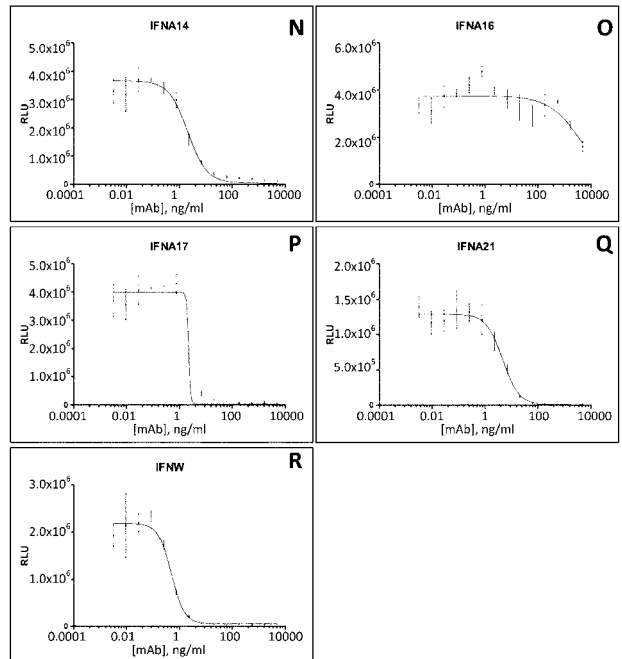


Fig. 8 (続き)

【 図 9 】

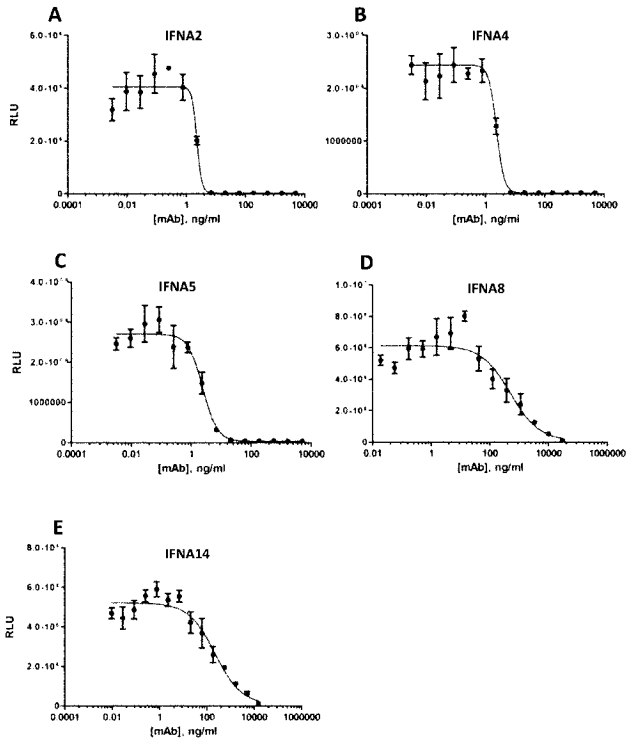


Fig. 9

【 図 10 - 1 】

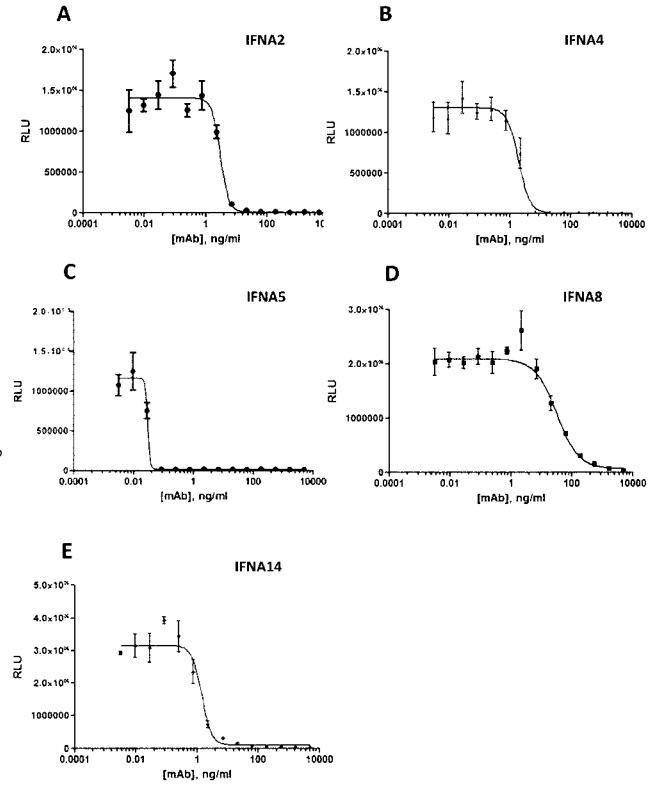


Fig. 10

【 図 10 - 2 】

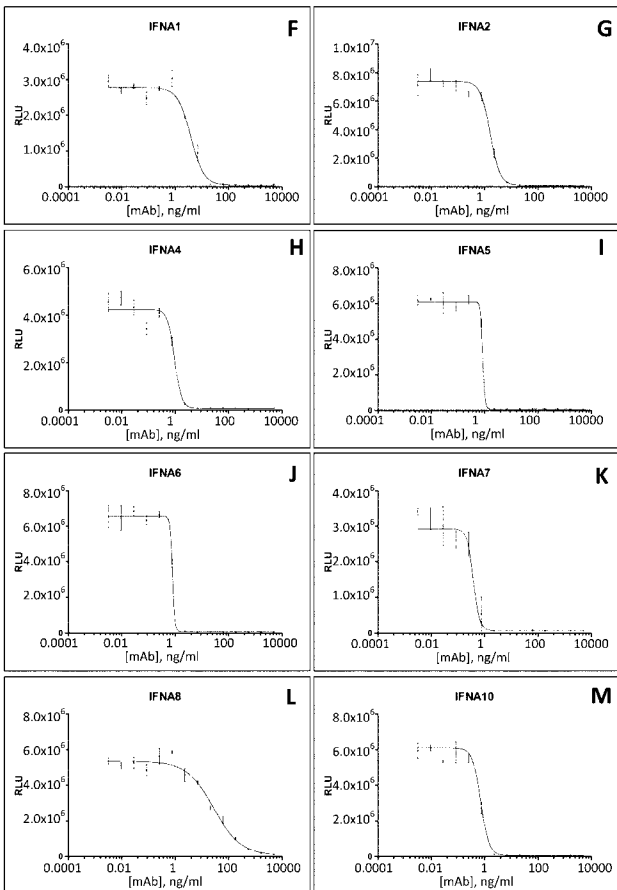


Fig. 10 (続き)

【 図 10 - 3 】

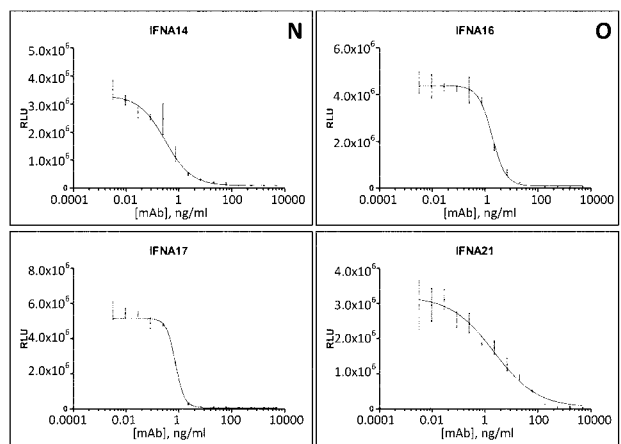
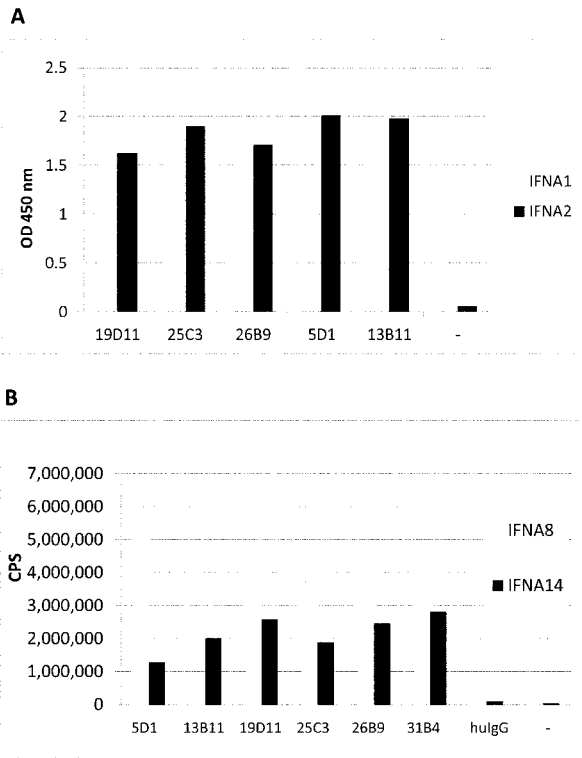


Fig. 10 (続き)

【 図 1 1 - 1 】



【 図 1 1 - 2 】

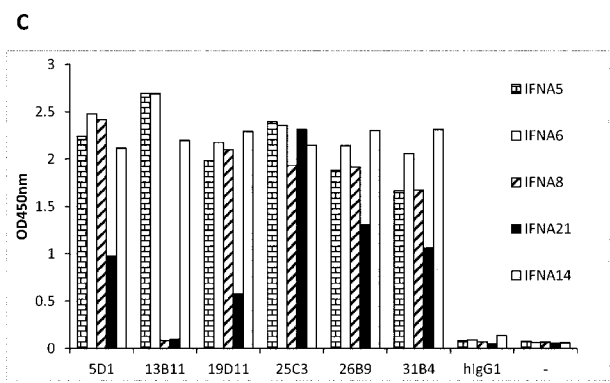


Fig. 11 (続き)

Fig. 11

【 図 1 2 】

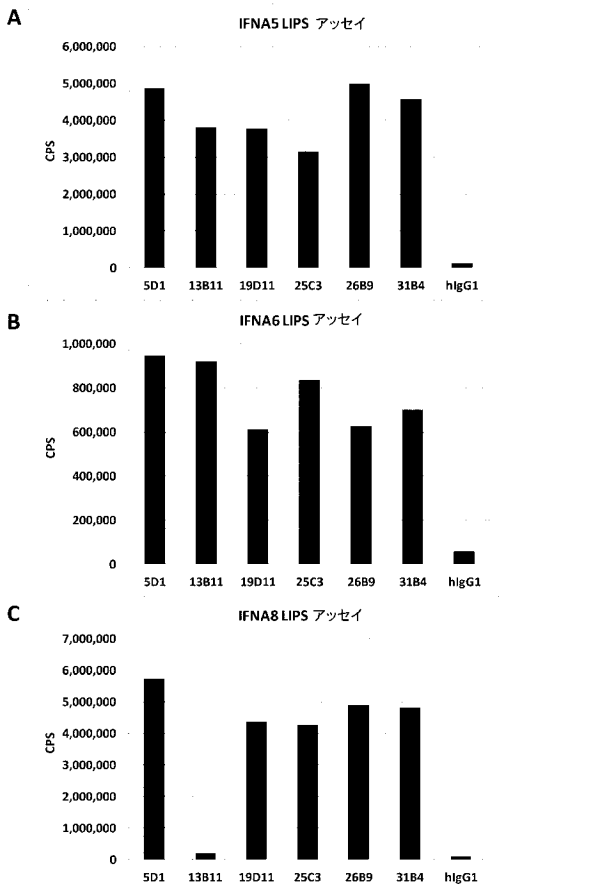


Fig. 12

【 図 1 3 】

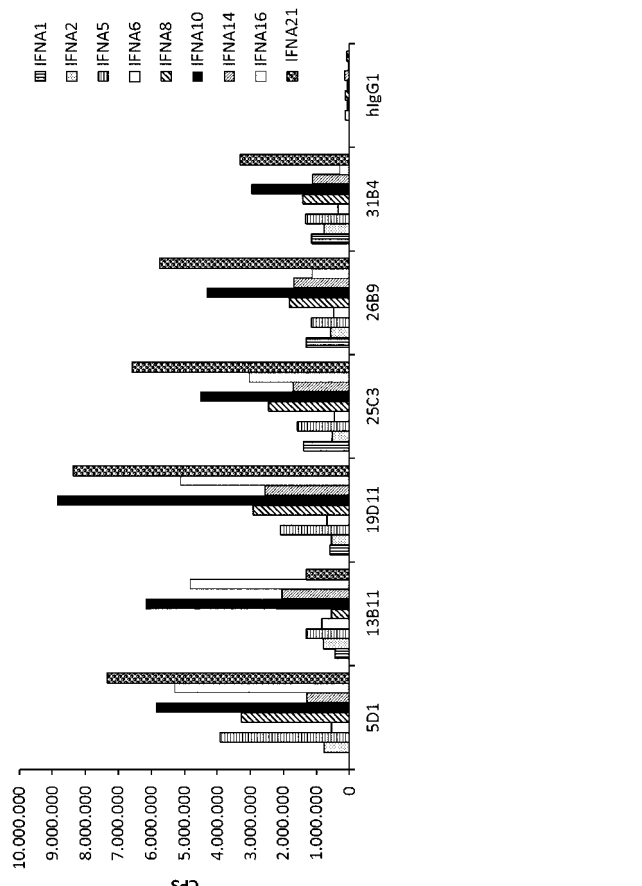


Fig. 13

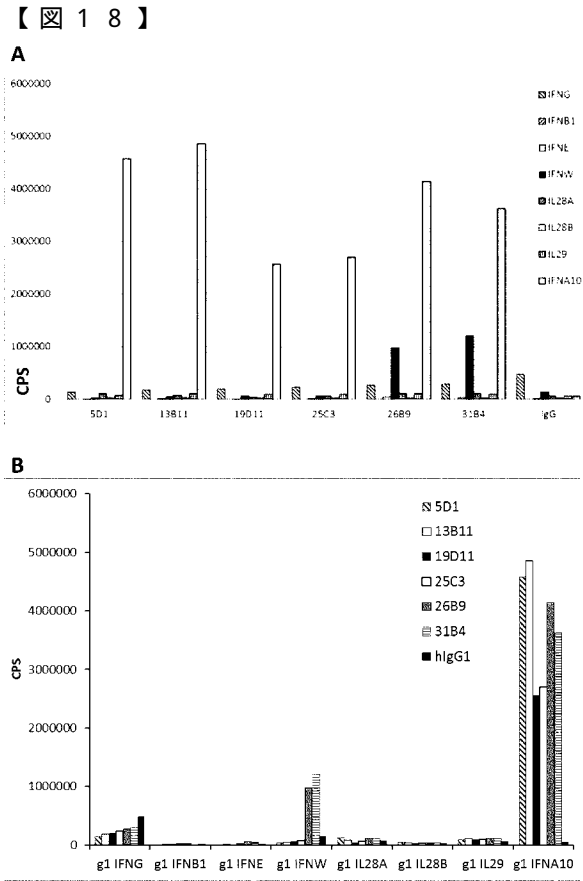


Fig. 18

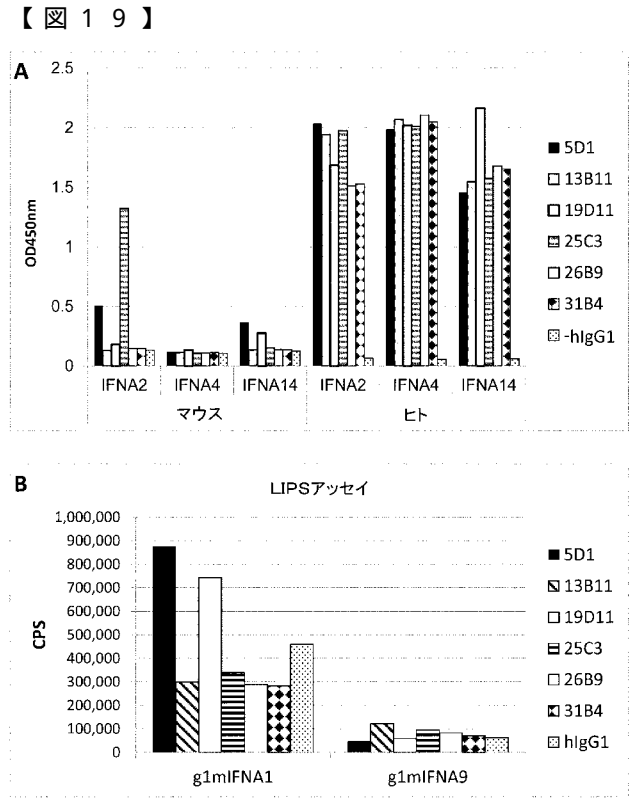


Fig. 19

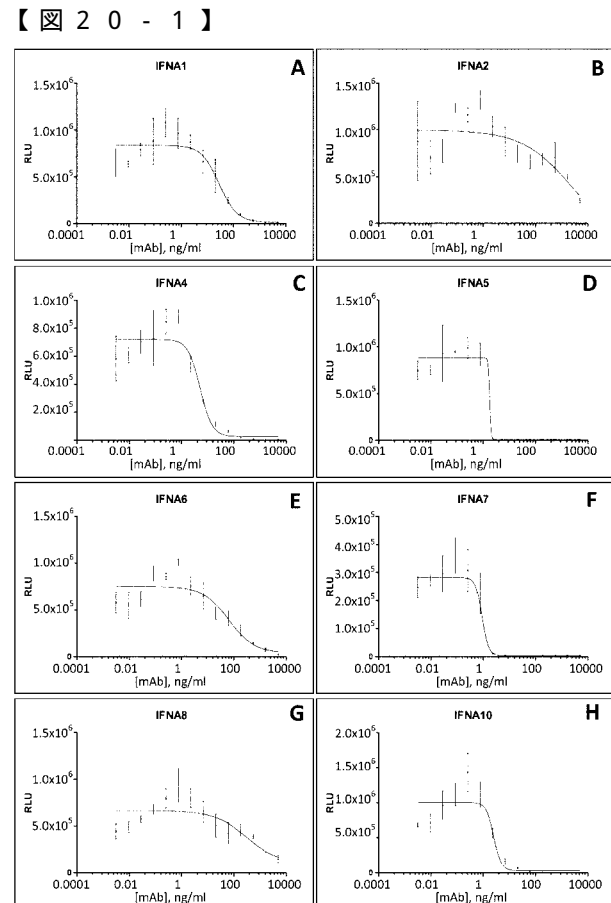


Fig. 20

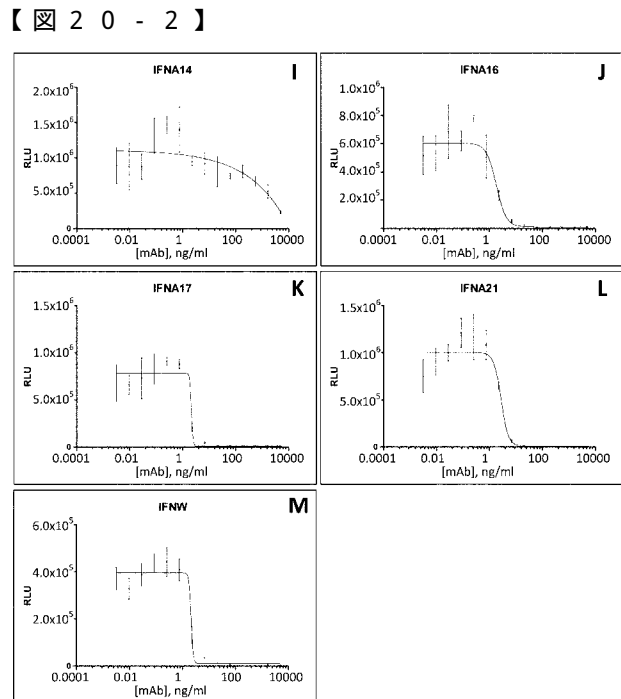


Fig. 20 (続き)

【 図 2 1 - 1 】

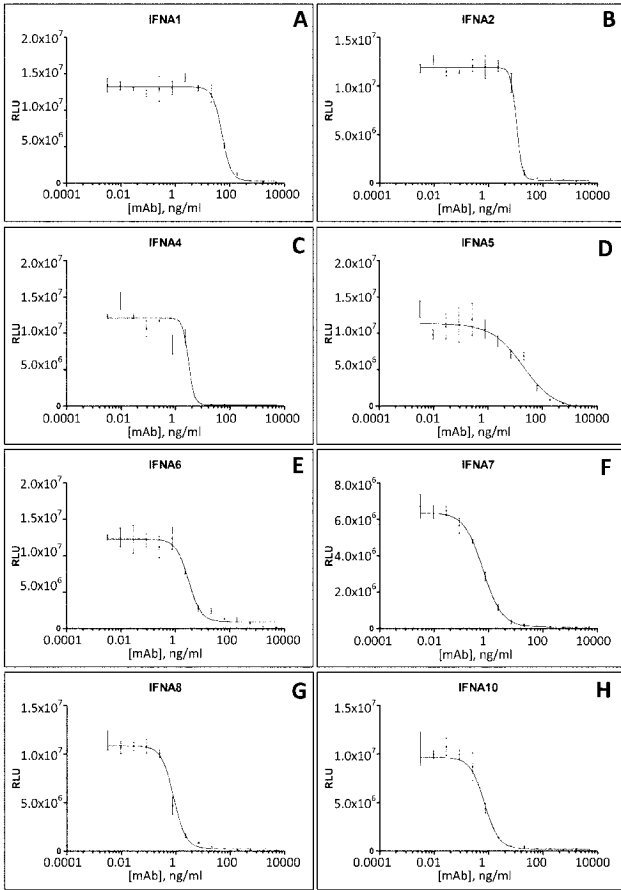


Fig. 21

【 図 2 1 - 2 】

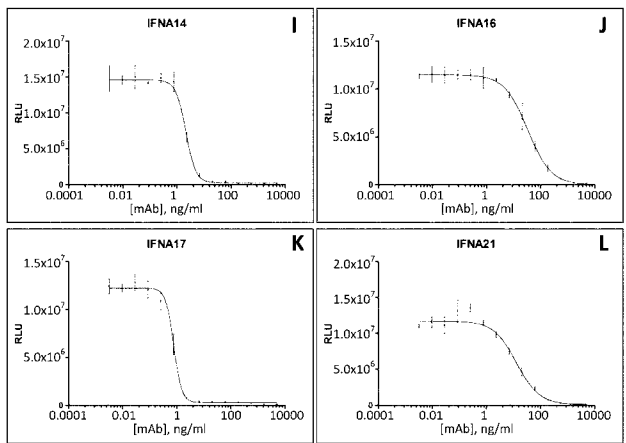


Fig. 21 (続き)

【 図 2 2 - 1 】

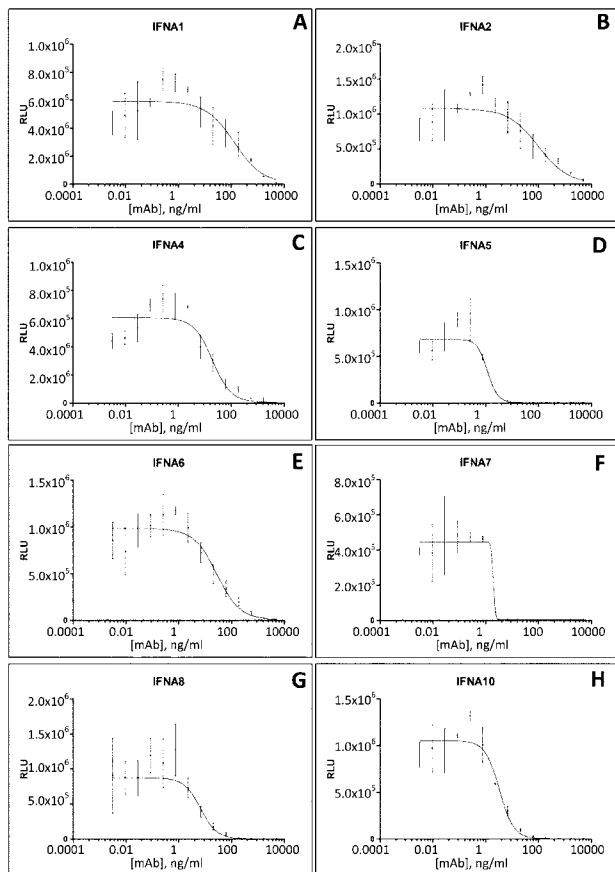


Fig. 22

【 図 2 2 - 2 】

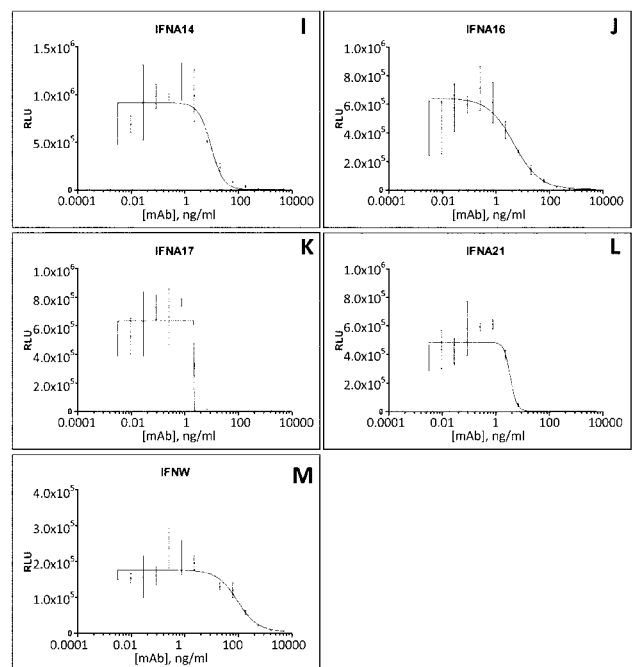
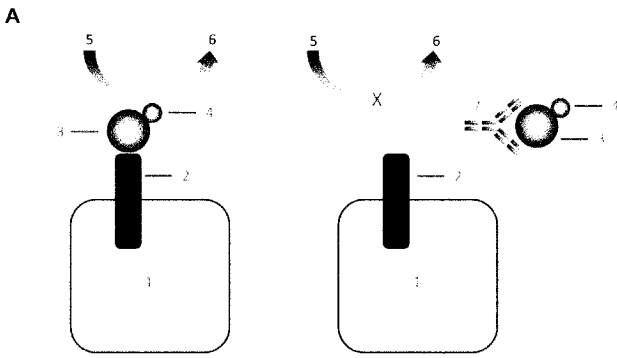


Fig. 22 (続き)

【図 23 - 1】



B

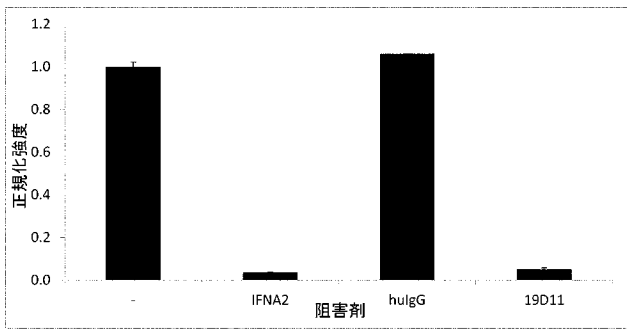
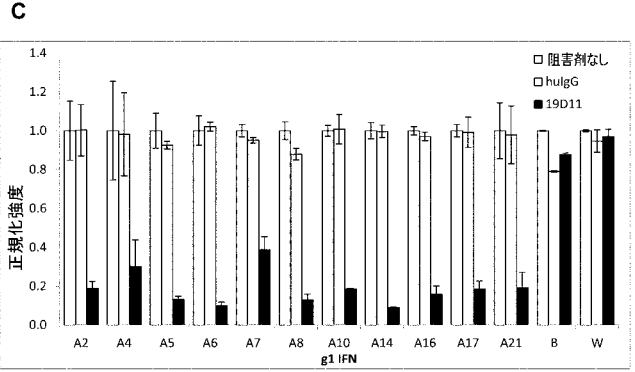


Fig. 23

【図 23 - 2】



D

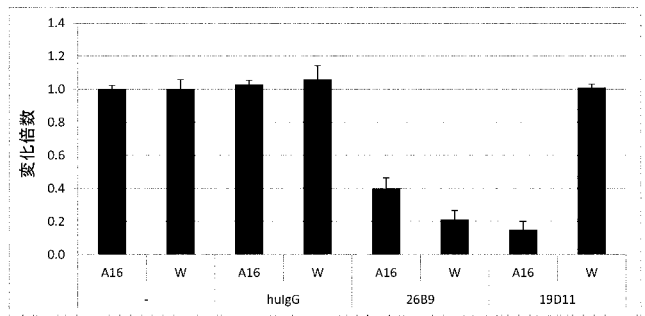
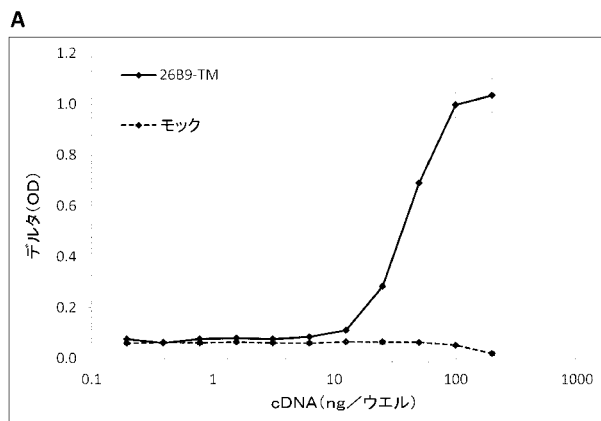


Fig. 23 (続き)

【図 24】



B

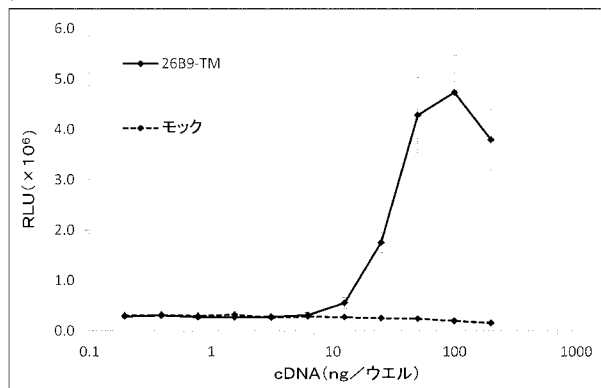


Fig. 24

【図 25】

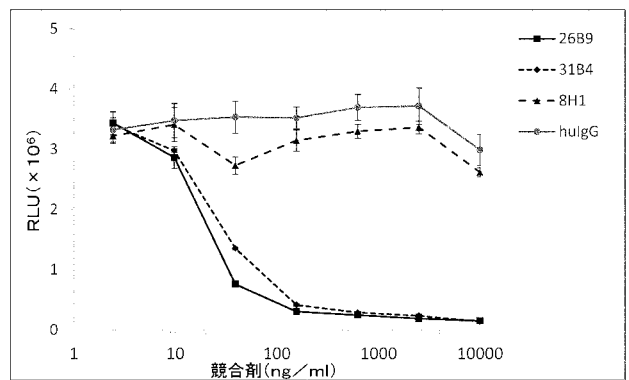


Fig. 25

【 26 - 1 】

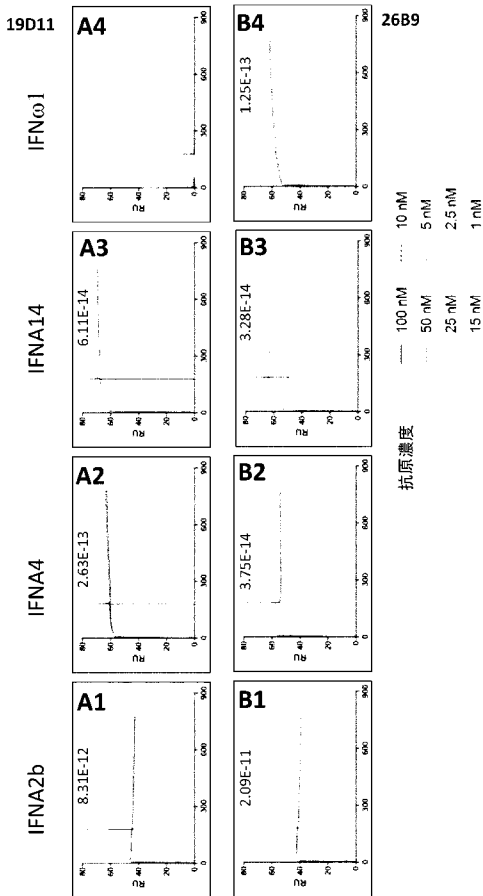


Fig. 26

【 26 - 3 】

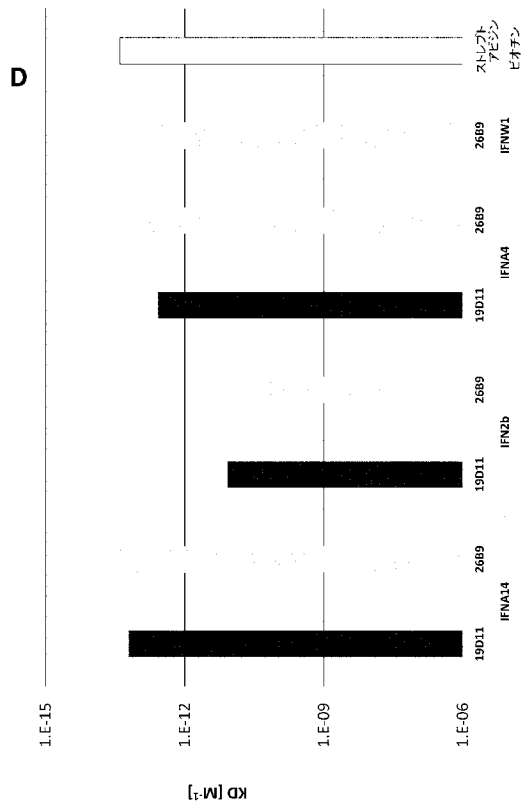


Fig. 26 (続き)

【 26 - 2 】

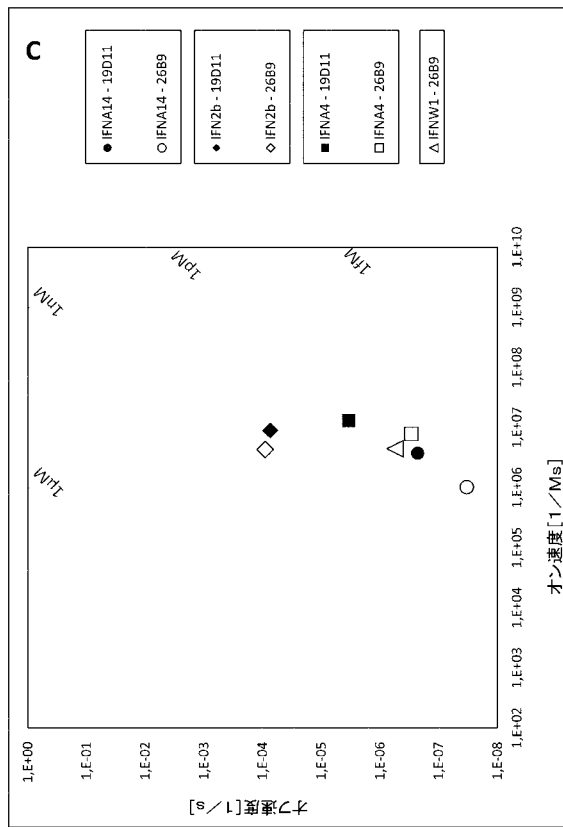


Fig. 26 (続き)

【 27 - 1 】

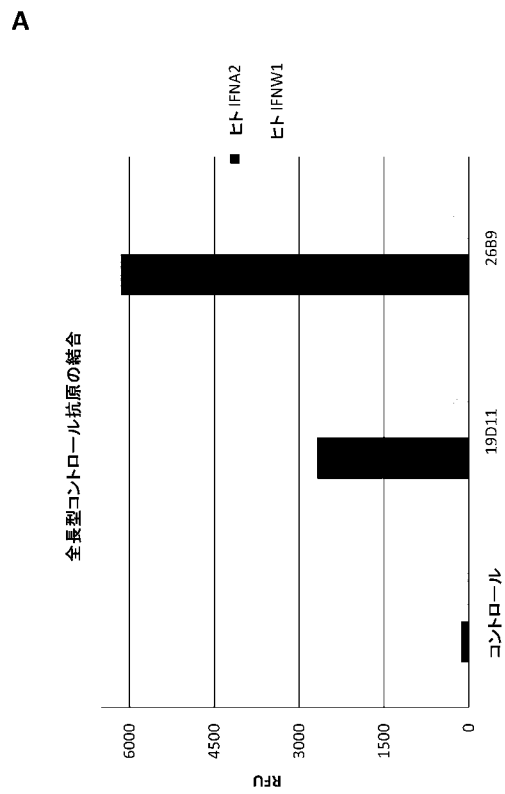


Fig. 27

【 図 27 - 2 】

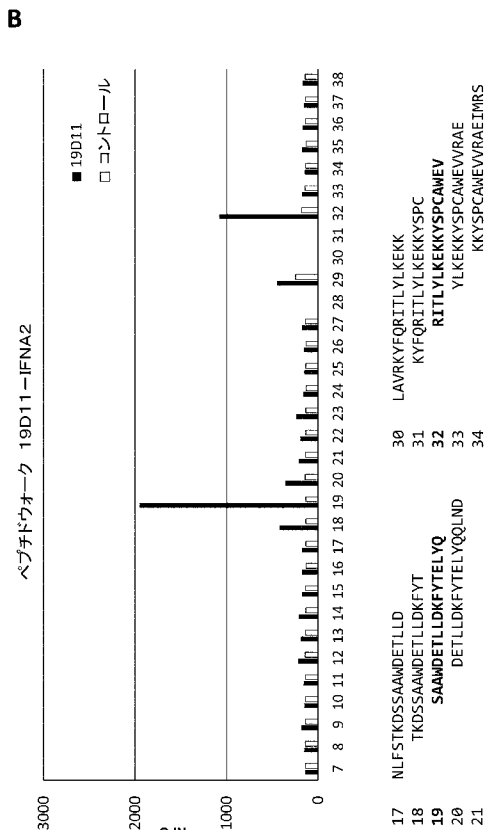


Fig. 27 (続き)

【 図 27 - 3 】

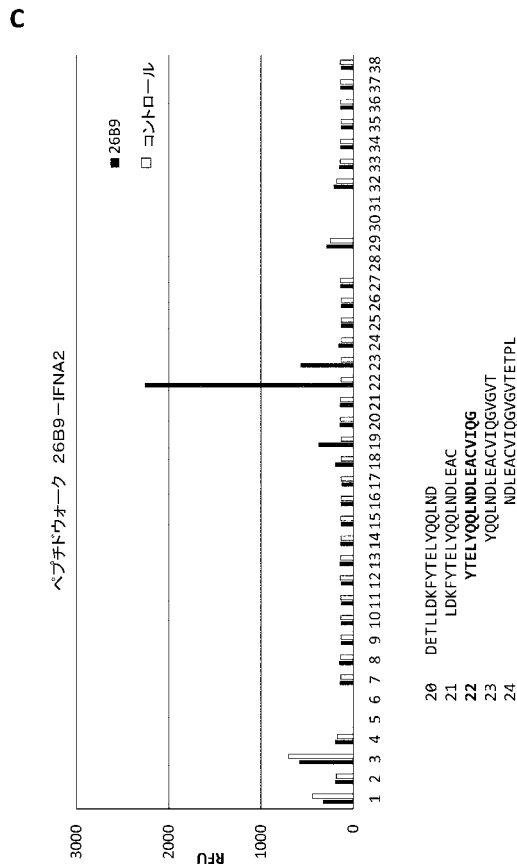


Fig. 27 (続き)

【 図 27 - 4 】

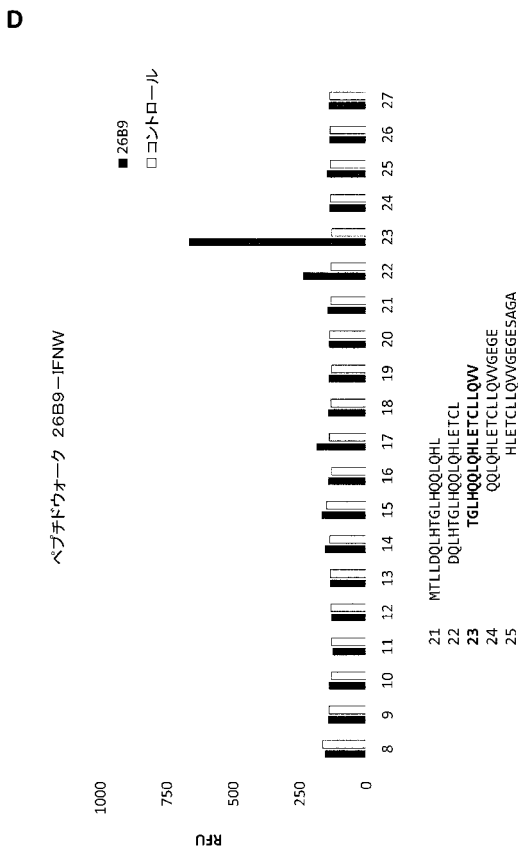


Fig. 27 (続き)

【 図 28 - 1 】

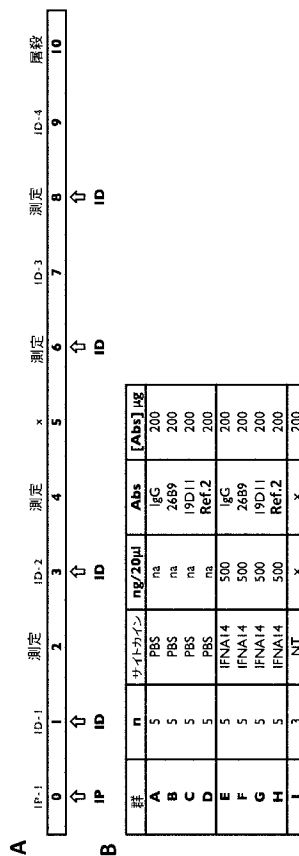


Fig. 28

【 図 28 - 2 】

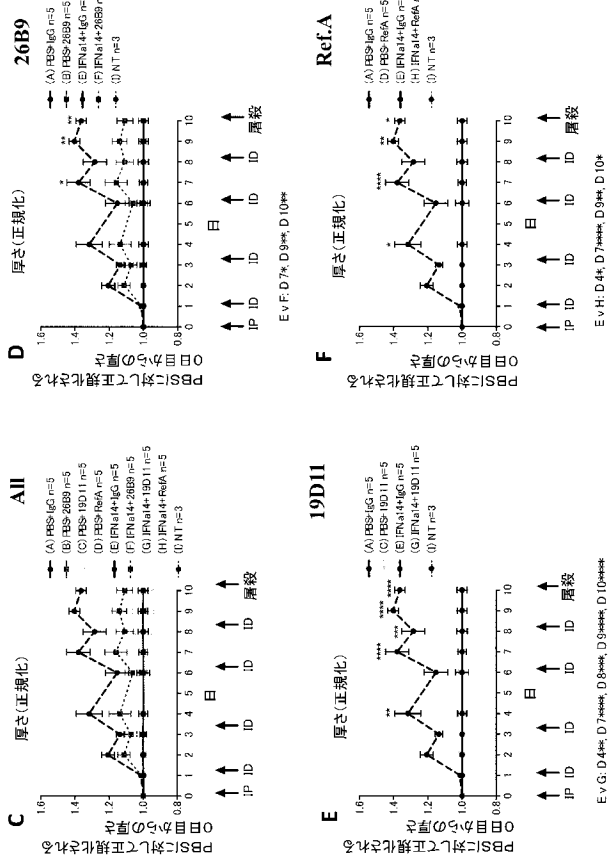


Fig. 28 (続き)

【 図 29 - 2 】

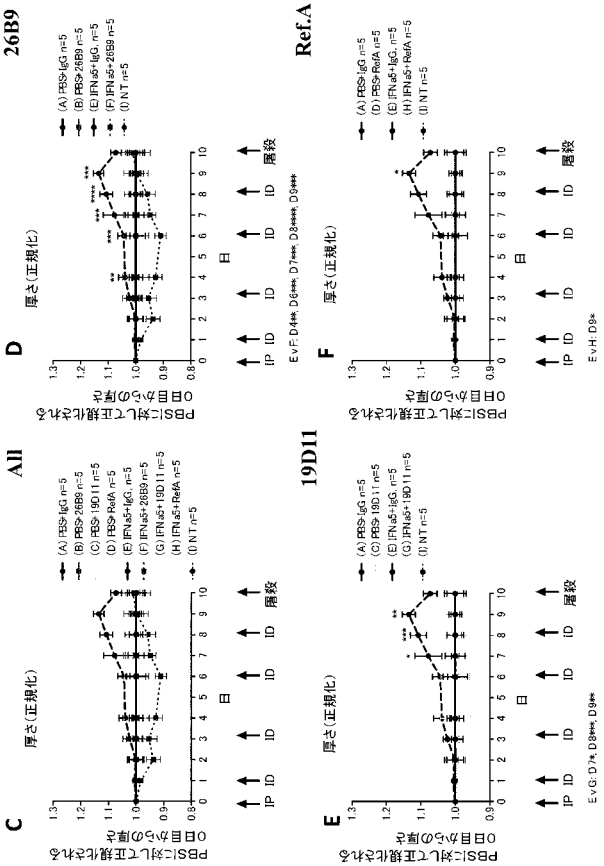


Fig. 29 (続き)

【 図 29 - 1 】

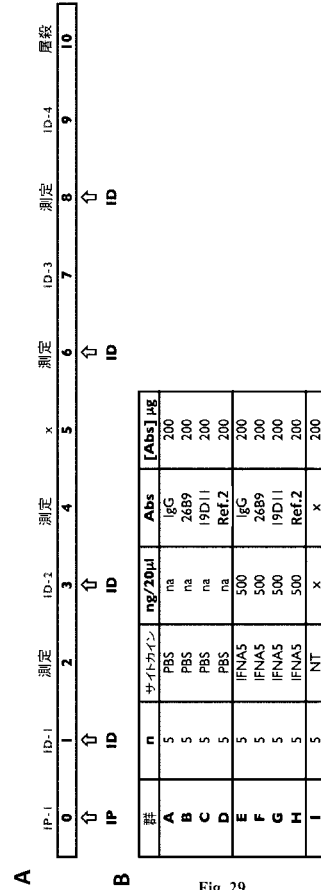


Fig. 29

【 図 30 - 1 】

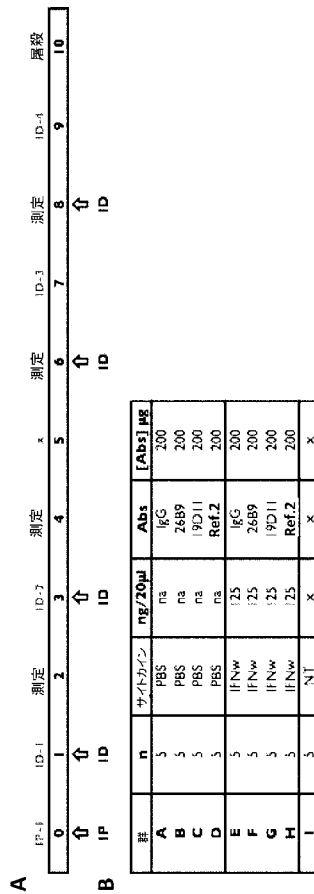


Fig. 30

【 図 30 - 2 】

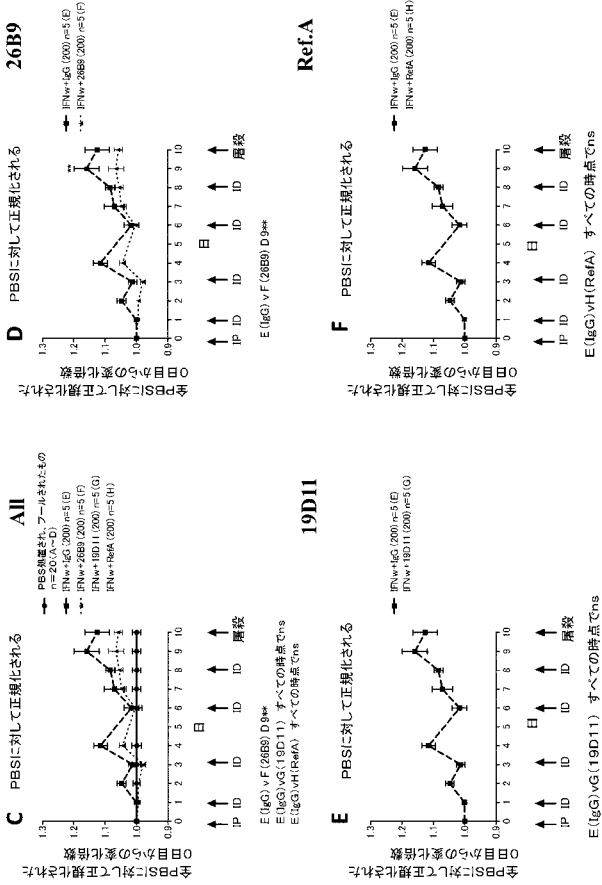
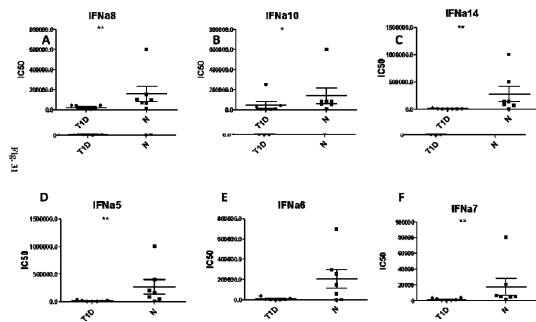


Fig. 30 (続き)



【 図 31 - 1 】

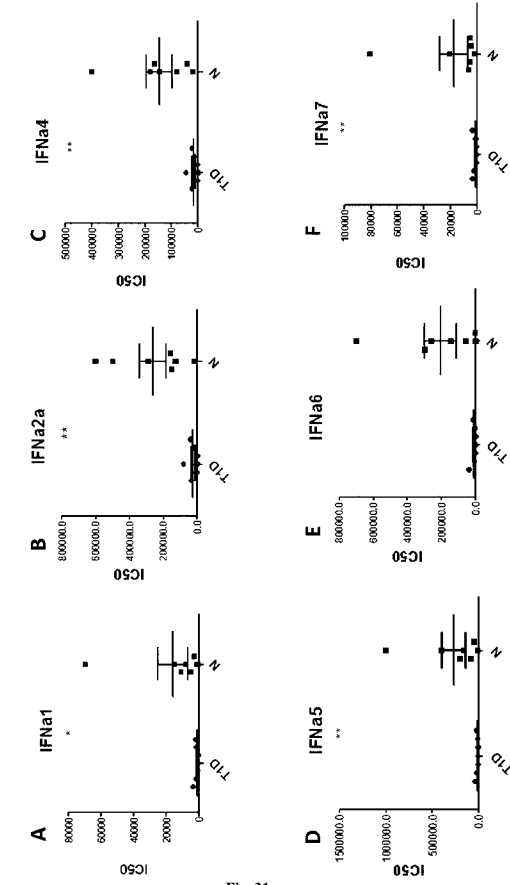


Fig. 31

【 図 31 - 2 】

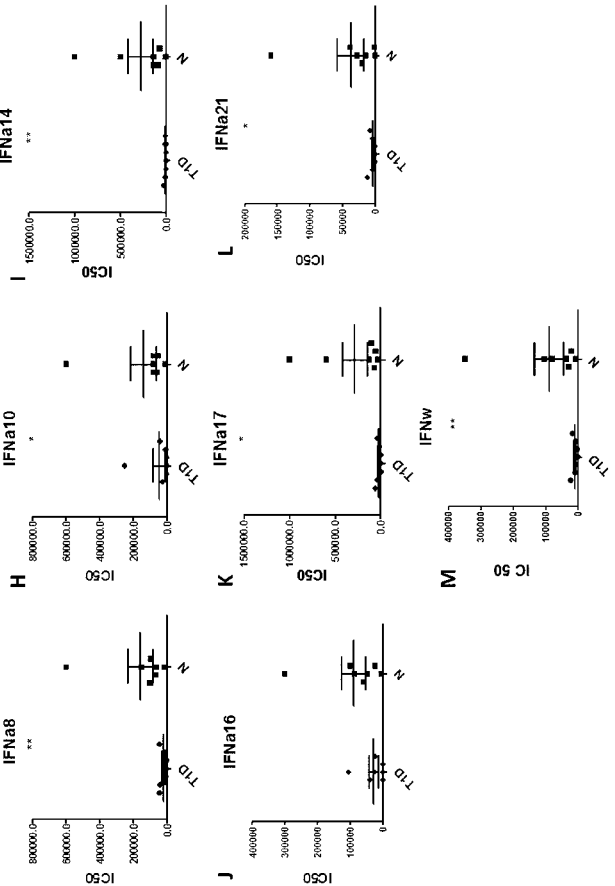
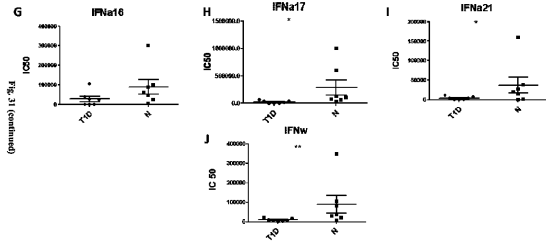


Fig. 31 (続き)



【 ☒ 3 2 - 1 】

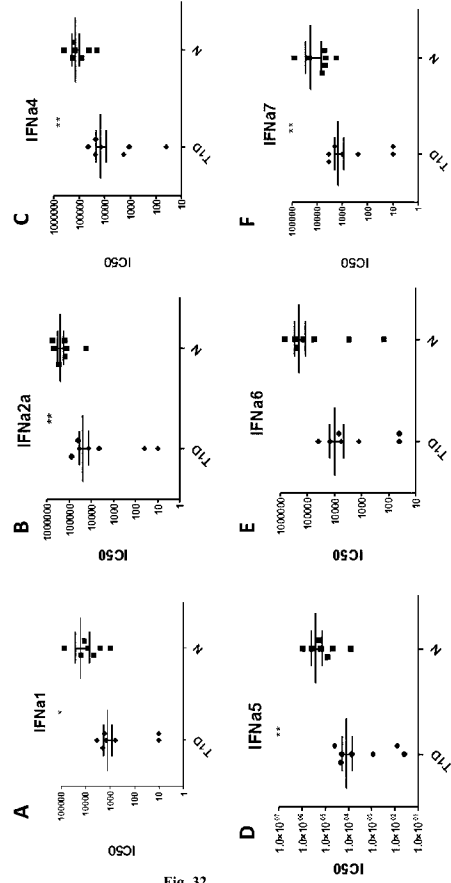


Fig. 32

【 ☒ 3 2 - 2 】

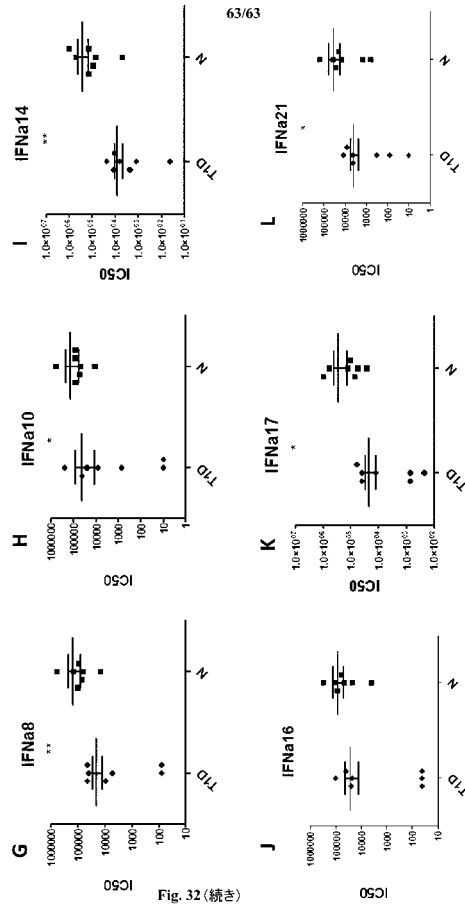


Fig. 32 (続き)

【配列表】

2016531090000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2014/064167

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:
- a. (means)
- on paper
- in electronic form
- b. (time)
- in the international application as filed
- together with the international application in electronic form
- subsequently to this Authority for the purpose of search
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2014/064167

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/24 G01N33/564 G01N33/68 A61K51/10 A61K39/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K G01N A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2005/059106 A2 (MEDAREX INC [US]; WITTE ALISON [US]; WILLIAMS DENISE [US]; CARDARELLI) 30 June 2005 (2005-06-30) examples 1-3; table 1 -----	1-23
X	WO 02/066649 A2 (GENENTECH INC [US]; CHUNTARAPAI ANAN [US]; KIM JIN K [US]; PRESTA LEON) 29 August 2002 (2002-08-29) table 2 -----	1-23
A	MEAGER ANTHONY ET AL: "Anti-interferon autoantibodies in autoimmune polyendocrinopathy syndrome type 1", ANTI-INTERFERON AUTOANTIBODIES IN AUTOIMMUNE POLYENDOCRINOPATHY SYNDROME TYPE 1,, vol. 3, no. 7, 9 May 2012 (2012-05-09), pages 1152-1164, XP002675599, ----- -/--	1-23
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier application or patent but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *&* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 19 December 2014		Date of mailing of the international search report 09/01/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Turri, Matteo

4

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2014/064167

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2006/086586 A2 (BAYLOR RES INST [US]; BANCHEREAU JACQUES [US]; PRILLIMAN KILEY [US]; P) 17 August 2006 (2006-08-17) -----	1-23
A	NOLTE K-U ET AL: "EPITOPES RECOGNIZED BY NEUTRALIZING THERAPY-INDUCED HUMAN ANTI-INTERFERON-ALPHA ANTIBODIES ARE LOCALIZED WITHIN THE N-TERMINAL FUNCTIONAL DOMAIN OF RECOMBINANT INTERFERON-ALPHA2", EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, WILEY - V C H VERLAG GMBH & CO. KGAA, DE, vol. 26, no. 9, 1 January 1996 (1996-01-01), pages 2155-2159, XP009053227, ISSN: 0014-2980, DOI: 10.1002/EJI.1830260929 -----	1-23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2014/064167

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date		
WO 2005059106 A2	30-06-2005	AU 2004299833 A1	30-06-2005		
		AU 2009206187 A1	27-08-2009		
		CA 2546054 A1	30-06-2005		
		CN 1889978 A	03-01-2007		
		CN 102344491 A	08-02-2012		
		DK 1711207 T3	11-03-2013		
		EP 1711207 A2	18-10-2006		
		EP 2418220 A2	15-02-2012		
		ES 2399050 T3	25-03-2013		
		HK 1095765 A1	23-08-2013		
		IL 175586 A	28-11-2013		
		JP 5047626 B2	10-10-2012		
		JP 2007513633 A	31-05-2007		
		JP 2011097943 A	19-05-2011		
		KR 20070011243 A	24-01-2007		
		KR 20110140137 A	30-12-2011		
		NZ 547157 A	31-07-2009		
		PT 1711207 E	13-02-2013		
		SI 1711207 T1	31-07-2013		
		US 2007014724 A1	18-01-2007		
		US 2009324605 A1	31-12-2009		
		US 2011300145 A1	08-12-2011		
		US 2013254912 A1	26-09-2013		
		US 2014199328 A1	17-07-2014		
		WO 2005059106 A2	30-06-2005		
		WO 02066649 A2	29-08-2002	AT 534739 T	15-12-2011
				AU 2002306432 B2	14-09-2006
				AU 2006252117 A1	11-01-2007
				AU 2011200707 A1	10-03-2011
				CA 2437161 A1	29-08-2002
				CN 1492930 A	28-04-2004
				CN 101857636 A	13-10-2010
				CN 102993303 A	27-03-2013
DK 1362105 T3	12-03-2012				
DK 2065467 T3	25-11-2013				
EP 1362105 A2	19-11-2003				
EP 2065467 A2	03-06-2009				
EP 2292301 A2	09-03-2011				
EP 2301629 A2	30-03-2011				
EP 2305714 A2	06-04-2011				
ES 2378062 T3	04-04-2012				
ES 2436787 T3	07-01-2014				
ES 2461148 T3	16-05-2014				
HK 1149567 A1	12-07-2013				
HK 1153967 A1	24-10-2014				
IL 157170 A	30-11-2010				
JP 4384853 B2	16-12-2009				
JP 5349018 B2	20-11-2013				
JP 2004533217 A	04-11-2004				
JP 2009131257 A	18-06-2009				
JP 2012245008 A	13-12-2012				
KR 20030081461 A	17-10-2003				
KR 20090107095 A	12-10-2009				
KR 20100095641 A	31-08-2010				
KR 20110066232 A	16-06-2011				
KR 20120137512 A	21-12-2012				
MX PA03007529 A	11-12-2003				

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2014/064167

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		NZ 527338 A	31-08-2006
		PT 1362105 E	28-02-2012
		PT 2065467 E	23-01-2014
		RU 2314317 C2	10-01-2008
		SI 1362105 T1	30-03-2012
		SI 2065467 T1	31-01-2014
		US 2003166228 A1	04-09-2003
		US 2007048311 A1	01-03-2007
		US 2007059309 A1	15-03-2007
		US 2011206663 A1	25-08-2011
		US 2011268727 A1	03-11-2011
		US 2012244148 A1	27-09-2012
		US 2013084295 A1	04-04-2013
		US 2013309236 A1	21-11-2013
		WO 02066649 A2	29-08-2002

WO 2006086586	A2	17-08-2006	
		AU 2006213800 A1	17-08-2006
		BR PI0607490 A2	08-09-2009
		CA 2597265 A1	17-08-2006
		CN 101155831 A	02-04-2008
		EP 1851248 A2	07-11-2007
		JP 2008529529 A	07-08-2008
		JP 2014111644 A	19-06-2014
		KR 20070107753 A	07-11-2007
		US 2008160030 A1	03-07-2008
		US 2012020963 A1	26-01-2012
		WO 2006086586 A2	17-08-2006

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	F
A 6 1 P 37/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	U
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/00	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
G 0 1 N 33/531 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	P
	G 0 1 N 33/531	A
	G 0 1 N 33/53	M
	G 0 1 N 33/53	Y

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, T M), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, R S, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, H R, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG , NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

- (72)発明者 ハイデイ, エイドリアン
イギリス、オーピントン ケント BR 6 9 DR、1 3 ゴッディントン レーン
- (72)発明者 キサンド, カイ
エストニア共和国、EE - 5 0 4 1 2 タルツ、ツトビストリート 9
- (72)発明者 クローン, カイ
フィンランド共和国、FI - 3 6 4 5 0 サルメンタカ、サルメンターンティエー 7 5 1
- (72)発明者 マカグノ, アンナリサ
スイス国、CH - 8 9 5 2 シュリーレン、ステインヴィーゼンストラッセ 2 2
- (72)発明者 マイヤー, ステフェン
ドイツ連邦共和国、8 1 4 7 6 ミュンヘン、フィルヒナーストラッセ 1 3
- (72)発明者 ピーターソン, パート
エストニア共和国、EE - 1 0 9 1 2 タリン、スピラ 2 7 A - L
- (72)発明者 ロート, マイク
ドイツ連邦共和国、8 2 1 5 2 クライリング、エリセンストラッセ 4
- (72)発明者 ブライク, フィリップ
ドイツ連邦共和国、8 2 2 3 9 アリング、キルヒストラッセ 1 4
- (72)発明者 ウッドワード, マーティン
イギリス、ロンドン E 1 5 3 QL、ストラトフォード、1 0 8 ポートウエイ
- Fターム(参考) 4B064 AG27 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AA01X AA57X AA88X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA25 CA44
CA46
4C085 AA13 AA14 BB17 EE01
4H045 AA11 AA30 BA70 BA71 BA72 CA40 DA15 DA75 DA76 EA20
EA50 FA74

专利名称(译)	人抗-IFN-α抗体		
公开(公告)号	JP2016531090A	公开(公告)日	2016-10-06
申请号	JP2016522619	申请日	2014-07-03
[标]申请(专利权)人(译)	免疫治疗AG 因美诺克股份公司		
申请(专利权)人(译)	Imunokyu AG		
[标]发明人	ハクシエダエフワイ ヘイデイエイドリアン キサンドカイ クローンカイ マカグノアンナリサ マイヤーステフェン ピーターソンパート ロートマイク ブライクフィリップ ウッドワードマーティン		
发明人	ハク,シエダ エフ ワイ ヘイデイ,エイドリアン キサンド,カイ クローン,カイ マカグノ,アンナリサ マイヤー,ステフェン ピーターソン,パート ロート,マイク ブライク,フィリップ ウッドワード,マーティン		
IPC分类号	C07K16/24 C12N15/09 C12P21/08 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K39/395 A61P37/00 A61P29/00 A61P35/00 A61P3/10 G01N33/53 G01N33/531		
CPC分类号	A61K47/6845 A61P3/10 A61P29/00 A61P35/00 A61P37/00 C07K16/249 C07K2317/21 C07K2317/33 C07K2317/55 C07K2317/76 C07K2317/92 G01N33/564 G01N33/6866 G01N2333/56 C07K2317/34		
FI分类号	C07K16/24.ZNA C12N15/00.A C12P21/08 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K39/395.F A61K39/395.U A61P37/00 A61P29/00 A61P35/00 A61P3/10 G01N33/53.P G01N33/531.A G01N33/53. M G01N33/53.Y		
F-TERM分类号	4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065 /AA88X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA25 4B065 /CA44 4B065/CA46 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB17 4C085/EE01 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA70 4H045/BA71 4H045/BA72 4H045/CA40 4H045/DA15 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045 /EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	萩野 干治		
优先权	2013174995 2013-07-03 EP		
外部链接	Espacenet		
摘要(译)			

提供了人源的新型IFN- α 结合分子，特别是人源的抗IFN- α 抗体，及其IFN- α 结合片段，衍生物和变体。另外，描述了用于诊断和治疗的药物组合物，试剂盒和方法。

5 D1 - V _h	Gaagtgcacctgggtgcaggccggggcagaggtgaaagcgcceggggagctctctg aggatctcctglaaggtgctctggatcacacctttaca agttatctggatcagtt gg gtgcgcagatctccgggaaagccttgaatggatggc aaatctgactccaga gactctatacaactctacaaccogctcctccaagc caagctctccactcagtt gacaagctccatcacactgctcaacctgcaatggagcagcctggagcctcggac accgcatctattatctgtgtgaga catatactctacaagctattggtgactac tttgaccac tggggcagggaacgcctggctgcagctctcctct 配列番号: 1	10
5 D1 - V _h	EVCLVQGAENVKAPGESLRISKVSYFTT SYWIS WVRQIFGRLEWV KIDPR DSYTYNPSFG IVSTSVDKSTFVYLQSSDCAEDDAIYVCR HYVGLVDY FDHWSQCTTAVSS 配列番号: 2	
5 D1 - V _L カッパ型	gacattcagatgaccagctccatctcctcctgtctgcatctgtgggagacagt gtccatccctcttgc gggcaagtcagagcgttccaactctccat ctggat cgacagaagccgggaaagccctgaaactcctgatctat ctggaaccaatttg caaac tgggtccctcagaactcactggcagtggtctctggacagatgcaact ctccatccacagctctgcagcctgagatcttcgcaacttactct caacag actcaagttaccgctcaact ttggccaagggacccaagctggagctcaga 配列番号: 3	20
5 D1 - V _L カッパ型	DIQNIQSPSSLASVGDSEVITIC RAQSVSNVFM VRGRPKAPELLIY SASNI QT AVESRRTGSGSTECTITISLQEDDEATTY CGHYD YFFVIGSTKLDVR 配列番号: 4	
5 D1 - C _H	gcctccaccaaggcccatcggctctccctcctggcaacctcctccaagacc tctggggcaacagggccctgggctgctggccaagactactcctccgaaccg gtgacggtgtctgtggaactcagagccctgacacagcagcgtgcaacctctccg gctgtctactaagctcctcaggactctactcctcaagcagctggtgacccgccc tccagcagcttgggcaaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccagc aacccaaggtggacaagaagttgagcccaatctctgtgacaaaactccaca tgcaccagctgcccagcactgaaactcctgggggaaagtcagctctcctctc ccccaaaaccacaagaccctctgatctcccgaccctgaggtcaactgc gtgggtggagcgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtg gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaagccggggaggagcagtaaac agcaagctaacgctgtggtagcgtctcaacgctctgcaacaggaactggtgaa ggcaaggagtcaaaagtgcaaggtctccaacaagccctccagccccatcgag aaaacctctccaagccaaagggcagcccgagaaaccaaggtgtacacctg ccccatcccggaatgagctgaccaagaaccaggtaagcctgacctgcttggc aaagctctatcccaagcagactcgcctggagtgagagacaatgggcaagc gagaaacaactacaagaccagcctcccgctgcagactccgaaggtctcctctc ctatacagaagctcacctggacaagagcaggtggcagcaggggaagctctc ctatgctcctgatgcatgagcctctgcaacaacctacacgcaagagagcctc tccctgtctccgggtaaatga 配列番号: 5	30 40