

(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2017-502664

(P2017-502664A)

(43) 公表日 平成29年1月26日(2017.1.26)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 A	4B064
C07K 16/30 (2006.01)	C07K 16/30 ZNA	4B065
C12N 1/15 (2006.01)	C12N 1/15	4C084
C12N 1/19 (2006.01)	C12N 1/19	4C085
C12N 1/21 (2006.01)	C12N 1/21	4C087
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 110 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2016-540651 (P2016-540651)
 (86) (22) 出願日 平成26年12月17日 (2014.12.17)
 (85) 翻訳文提出日 平成28年8月15日 (2016.8.15)
 (86) 国際出願番号 PCT/NL2014/050873
 (87) 国際公開番号 W02015/093949
 (87) 国際公開日 平成27年6月25日 (2015.6.25)
 (31) 優先権主張番号 13197882.7
 (32) 優先日 平成25年12月17日 (2013.12.17)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 512011185
 アイム・セラピューティクス・ベー・フェー
 オランダ・NL-1105・ペーアー・アムステルダム・ザイドースト・マイベルグ
 ドレーフ・59
 (74) 代理人 100108453
 弁理士 村山 靖彦
 (74) 代理人 100110364
 弁理士 実広 信哉
 (74) 代理人 100133400
 弁理士 阿部 達彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に対抗するための手段及び方法

(57) 【要約】

本発明は、AML細胞の細胞表面成分と結合可能であるヒトAML特異的結合化合物を提供する。AMLに対する結合化合物の治療的使用もまた提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

急性骨髄性白血病(AML)細胞の細胞表面成分と結合可能であり、抗体依存性細胞介在性細胞毒性(ADCC)、補体依存性細胞毒性(CDC)、アポトーシス、又はマクロファージ若しくは樹状細胞による食作用とは本質的に独立に、AML細胞の増殖を減少させることが可能である、単離、合成又は組換えヒト抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項 2】

AML細胞に特異的な細胞表面成分と結合可能である、請求項1に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項 3】

抗体依存性細胞介在性細胞毒性(ADCC)、補体依存性細胞毒性(CDC)、アポトーシス、又はマクロファージ若しくは樹状細胞による食作用とは本質的に独立に、原発AML芽細胞死を誘導可能である、請求項1又は2に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項 4】

インビトロで3日以内にAML細胞の増殖を減少させることが可能である、請求項1から3のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項 5】

前記AML細胞が、M5、M0、M1、M2、M3及びM4からなる群から選択されるフレンチ-アメリカン-ブリティッシュ(FAB)分類に属する、請求項1から4のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項 6】

前記AML細胞が、FAB分類M5又はM1又はM0又はM4、好ましくはM5に属する、請求項1から5のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項 7】

少なくとも2つ、好ましくは少なくとも3つ、より好ましくは少なくとも4つのFAB分類の異なるAML細胞の細胞表面成分と結合可能である、請求項1から6のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項 8】

snRNP200と結合可能である、請求項1から7のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項 9】

前記抗体が、IgGアイソタイプ、好ましくはIgG1又はIgG3のものである、請求項1から8のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項 10】

配列番号27～39からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する重鎖CDR3配列、並びに、配列番号66～78からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する軽鎖CDR3配列を少なくとも含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項 11】

- 配列番号1～13からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号14～26からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号27～39からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号40～52からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号53～65からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号66～78からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する

10

20

30

40

50

配列を含む軽鎖CDR3配列

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項12】

配列番号79～91からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する可変重鎖配列を含む、請求項10又は11に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項13】

配列番号92～104からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する可変軽鎖配列を含む、請求項10から12のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物。

10

【請求項14】

別の化合物とカップリングしている、請求項1から13のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項15】

前記他の化合物が、検出可能な標識、化学療法薬、毒性部分、免疫調節分子、別のAML特異的結合化合物、又は放射性化合物である、請求項14に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物。

【請求項16】

請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の少なくとも1つのCDR配列をコードする、少なくとも15ヌクレオチドの長さを有する単離、合成又は組換え核酸分子、又はその機能的等価物。

20

【請求項17】

請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の可変重鎖配列及び/又は可変軽鎖配列を少なくともコードする、請求項16に記載の核酸分子又は機能的等価物。

【請求項18】

配列番号105～182からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む、請求項16又は17に記載の核酸分子又は機能的等価物。

【請求項19】

配列番号183～195からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列、並びに/又は、配列番号196～208からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む、請求項16から18のいずれか一項に記載の核酸分子又は機能的等価物。

30

【請求項20】

請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物をコードする、核酸分子又はその機能的等価物。

【請求項21】

cDNA、ペプチド核酸(PNA)、ロックド核酸(LNA)、又はDNA/RNAヘリックスを含む、請求項16から20のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項22】

請求項16から21のいずれか一項に記載の核酸分子又は機能的等価物を含むベクター。

40

【請求項23】

請求項16から21のいずれか一項に記載の核酸分子若しくは機能的等価物又は請求項22に記載のベクターを含む、単離又は組換え細胞、又は非ヒト動物。

【請求項24】

請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物、又は請求項16から21のいずれか一項に記載の核酸分子又は機能的等価物、又は請求項22に記載のベクター、又は請求項23に記載の細胞を含む組成物。

【請求項25】

薬学的に許容される担体、希釈剤又は賦形剤を含む医薬組成物である、請求項24に記載

50

の組成物。

【請求項 26】

少なくとも2つの請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体、機能的部分又は機能的等価物を含む、請求項25に記載の組成物。

【請求項 27】

医薬又は予防剤としての使用のための、請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物、又は請求項16から21のいずれか一項に記載の核酸分子又は機能的等価物、又は請求項22に記載のベクター、又は請求項23に記載の細胞。

【請求項 28】

骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患を少なくとも部分的に治療又は予防するための方法における使用のための、請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物、又は請求項16から21のいずれか一項に記載の核酸分子又は機能的等価物、又は請求項22に記載のベクター、又は請求項23に記載の細胞。

10

【請求項 29】

骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患の診断における使用のための、請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物、又は請求項16から21のいずれか一項に記載の核酸分子又は機能的等価物、又は請求項22に記載のベクター、又は請求項23に記載の細胞。

【請求項 30】

前記骨髄増殖性疾患が急性骨髄性白血病(AML)である、請求項28又は29に規定の使用のための、抗体若しくは機能的部分若しくは機能的等価物又は核酸分子若しくは機能的等価物又はベクター又は細胞。

20

【請求項 31】

前記リンパ球増殖性疾患が、リンパ腫、B非ホジキンリンパ腫又は多発性骨髄腫である、請求項28又は29に記載の使用のための抗体若しくは機能的部分若しくは機能的等価物又は核酸分子若しくは機能的等価物又はベクター又は細胞。

【請求項 32】

試料が骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞を含むかどうかを決定するための、請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体若しくは機能的部分若しくは機能的等価物、又は請求項16から21のいずれか一項に記載の核酸分子若しくは機能的等価物、又は請求項22に記載のベクター、又は請求項23に記載の細胞の使用。

30

【請求項 33】

請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を産生するための方法であって、細胞に、請求項16から22のいずれか一項に記載の核酸分子若しくは機能的等価物又はベクターを提供する工程、及び前記細胞に前記核酸分子若しくは機能的等価物又はベクターを翻訳させ、それにより請求項1から15のいずれか一項に記載の前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を産生する工程を含み、好ましくは、請求項1から15のいずれか一項に記載の前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を回収、精製及び/又は単離する工程を更に含む方法。

【請求項 34】

請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を使用して、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞を検出するための方法。

40

【請求項 35】

骨髄細胞又はリンパ球細胞が骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞であるかどうかを決定するための方法であって、snRNP200が前記細胞の表面上に存在するかどうかを決定する工程を含み、前記細胞の表面上のsnRNP200の存在が、前記細胞が骨髄増殖性又はリンパ球増殖性であることを示す、方法。

【請求項 36】

骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞を同定するための方法であって、前記細胞の表面上のsnRNP200の存在を検出する工程を含む方法。

50

【請求項 37】

骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞が試料中に存在するかどうかを決定するための方法であって、

- 前記試料を請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物と接触させる工程、及び
- 前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を、存在する場合は、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞と結合させる工程、及び
- 骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞が前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物に結合しているかどうかを決定し、それにより、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞が前記試料中に存在するかどうかを決定する工程を含む方法。

10

【請求項 38】

前記骨髄増殖細胞がAML細胞である、請求項32に記載の使用又は請求項33から37のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

前記リンパ球増殖細胞が、リンパ腫、B非ホジキンリンパ腫又は多発性骨髄腫細胞である、請求項32に記載の使用又は請求項33から37のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 40】

骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患を少なくとも部分的に治療及び/又は予防するための方法であって、それを必要とする個体に、治療有効量の請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体若しくは機能的部分若しくは機能的等価物、又は請求項16から21のいずれか一項に記載の核酸分子若しくはその機能的等価物、又は請求項22に記載のベクター、又は請求項23に記載の細胞、又は請求項24から26のいずれか一項に記載の組成物を投与する工程を含む方法。

20

【請求項 41】

個体が骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患しているかどうかを決定するための方法であって、

- 前記個体からの試料を請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物と接触させる工程、及び
- 前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を、存在する場合は、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞と結合させる工程、及び
- 骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞が前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物に結合しているかどうかを決定し、それにより、前記個体が骨髄増殖性疾患又はリンパ球増殖性疾患に罹患しているかどうかを決定する工程を含む方法。

30

【請求項 42】

個体が骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患しているかどうかを決定するための方法であって、前記個体からの試料がsnRNP200に特異的な抗体を含むかどうかを決定する工程を含む方法。

【請求項 43】

- 前記個体からの試料をsnRNP200又はそのエピトープと接触させる工程、
- 前記snRNP200又はエピトープを、存在する場合は、前記試料からのsnRNP200特異的抗体と結合させる工程、及び
- 前記snRNP200又はエピトープがsnRNP200特異的抗体に結合しているかどうかを決定する工程を含む、

40

前記snRNP200又はエピトープのsnRNP200特異的抗体に対する結合は、前記個体が骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患していることを示す、請求項42に記載の方法。

【請求項 44】

50

個体の骨髄細胞含有試料又はリンパ球細胞含有試料を分類するための方法であって、snRNP200が前記試料中の細胞の表面上に存在するかどうかを決定する工程を含む方法。

【請求項 4 5】

骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患している患者が、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患している患者の平均集団と比較して、請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体、機能的部分又は機能的等価物での治療による好ましい結果を得る可能性を向上させるかどうかを決定するための方法であって、snRNP200が前記患者の骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞の表面上に存在するかどうかを決定する工程を含む方法。

【請求項 4 6】

- 前記個体からの骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞含有試料を、snRNP200に特異的な抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物と接触させる工程、

- 前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を、前記試料の骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞と結合させる工程、及び

- 前記snRNP200特異的抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物が、前記試料の骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞に結合しているかどうかを決定する工程を含み、

前記snRNP200特異的抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の、前記試料の骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞に対する結合は、前記患者が、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患している患者の平均集団と比較して、請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体、機能的部分又は機能的等価物での治療による好ましい結果を得る可能性を向上させることを示す、請求項45に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記骨髄増殖性疾患がAMLであり、前記骨髄増殖細胞がAML細胞である、請求項40から46のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記リンパ球増殖性疾患が、リンパ腫、B非ホジキンリンパ腫又は多発性骨髄腫であり、前記リンパ球増殖細胞が、リンパ腫、B非ホジキンリンパ腫又は多発性骨髄腫細胞である、請求項40から46のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 9】

抗体が、AT12-023、AT13-031、AT13-037、AT13-024、AT12-025及びAT12-019、並びにこれらの機能的部分及び機能的等価物からなる群から選択される、請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体、又は請求項27から31のいずれか一項に記載の使用のための抗体、又は請求項32に記載の使用、又は請求項33から48のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 0】

骨髄増殖性疾患又はリンパ球増殖性疾患に罹患している患者が、抗体AT12-023、AT13-031及び/又はAT13-037、又はその機能的部分若しくは機能的等価物での治療のための候補であるかどうかを決定するための方法であって、snRNP200が前記患者の骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞の表面上に存在するかどうかを決定する工程を含む方法。

【請求項 5 1】

AML患者が移植片対白血病反応を有するかどうかを決定するための、請求項1から15のいずれか一項に記載の抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生物学、免疫学、医学及び癌治療、特に骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に対する治療の分野に関する。より具体的には、本発明は、急性骨髄性白血病細胞に対する抗体に関する。

【背景技術】

【0002】

急性骨髄性白血病(AML)は高リスク悪性疾患であり、60歳未満の患者における5年生存率

10

20

30

40

50

は40～50%である。65歳を超える患者については結果が更に悪く、患者の20%未満しか長期寛解が得られない。急性白血病の治療には、同種幹細胞移植が適用されることが多い。それは最初は、さもないと致命的な骨髄破壊的化学療法から患者を救うよう設計されたが、後に、アロ反応性免疫反応関連合併症(移植片対宿主病、GvHD)を併発することが見出された。再注入前の移植片のT細胞除去はGvHDを回避するが、T細胞除去移植片レシピエントが、一卵性双生児ドナー移植レシピエントと同様にはるかに高い確率で再発を生じるといふ観察によって、同種SCTの成功は、抗白血病性免疫反応[移植片対白血病(GvL)]の誘導に依存することがますます明らかとなった。これは、細胞毒性を減少させ、老齢の患者及び重度の前治療をされた患者を含むより大きな患者群において同種SCTを可能にするための、骨髄破壊的条件づけなしに同種幹細胞移植を適用する方略[減弱強度幹細胞移植(reduced intensity stem cell transplantation)、RIST]の開発へと導いた。RISTにおける前処置療法は、レシピエントの適応免疫系を弱体化させ、レシピエントの骨髄の完全な破壊なしに移植片拒絶を防止し、それにより初期SCT毒性を減少させることを目的とする。移植後、ドナー幹細胞を徐々にレシピエントの幹細胞に置き換え、SCT後3カ月以内に完全なドナーキメリズムが通常は達成される。同種SCTが相当数の患者で治癒的であり、SCTレシピエントの支持療法が大きく進歩したとはいえ、依然として患者の15～30%が、移植関連合併症、たとえばGvHD、及び(SCT後の免疫回復が遅い結果として、又は、GvHDの免疫抑制療法の合併症として生じる)感染合併症の結果として死亡する。

10

【0003】

したがって、SCTが潜在的に治癒的であるとはいえ、強力な移植片対白血病(GvL)反応が誘導されるときには、その治療の成功は、高い罹患率及び死亡率を引き起こすGvHDをもたらす抗宿主免疫反応により限定される。

20

【0004】

SCT患者の約70%が、SCT後の一時点で、標的器官、たとえば皮膚、肝臓、腸及び肺でのGvHDを発症する。GvHDは、コルチコステロイドを含む局所性又は全身性免疫抑制療法で治療される。相当数のGvHD患者が、ステロイド療法に反応性でなく、これらの患者の約半数は、代替的な(そしてその一部は依然として実験的な)手段、たとえば間葉間質細胞(MSC:mesenchymal stromal cell)移植又はT細胞制御療法、たとえば抗腫瘍壊死因子(抗TNF、インフリキシマブ)にも反応性が弱い。大がかりで長期的な免疫抑制療法は望ましくない。なぜならそれは、治療的な抗白血病性反応の発達を妨げるからである。実際に、AMLが再発する一方で、患者が依然として免疫抑制療法を受けているときには、第1段階は、迅速に免疫抑制薬を減らすことである。これは、治癒的GvL反応を誘導しようが、多くの場合GvHDのリスクがある。免疫抑制薬の減少に反応しない、免疫抑制療法を受けている再発患者、又は、再発する前に免疫抑制薬の投与をすでに段階的に停止したが、GvHDを発症していなかった再発患者において、化学療法による腫瘍量減少と、それに続く漸増用量のドナーリンパ球注入(DLI:donor-lymphocyte infusions)が、疾患の長期寛解をもたらす。強力なGvLの存在を実証する診断検査が存在しないことが、原発又は再発AMLにおいて同種SCTがGvL反応を誘導する頻度を正確に推定することを困難にする一方で、いくつかの研究は、相当数の患者におけるかかる反応の誘導の説得的な証拠を提供した。たとえば、Schmidらは、化学療法後の第2寛解期にある、疾患を再発したAML患者の小集団の50%における、DLIによる強力なGvL反応を実証した(Schmidら、2007)。Schlenkらは、原発AMLにおける同種SCTの付加的価値を、同胞からの同種SCTを受けた、高リスクAMLに罹患した患者における、好適な同胞ドナーがいなかった患者と比較した5年無病生存率の倍加とともに説得的に示した(Schlenkら、2008)。したがって、GvL反応は、多くの場合、GvHDのリスクの上で生じるのであり、移植片からのT細胞除去がGvHD発症率を減少させたが、疾患再発率を増加させたという観察は、両方が、レシピエント抗原に対するT細胞依存性免疫反応により主に媒介されることを示唆した。

30

40

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

50

【特許文献 1】WO 2009/051974
 【特許文献 2】WO 2012/098407
 【特許文献 3】WO 2013/071068
 【特許文献 4】WO 2010/102244
 【特許文献 5】WO 2010/087994
 【特許文献 6】WO 2008/147196
 【特許文献 7】WO 2013/081463
 【特許文献 8】WO 2011/008092
 【特許文献 9】WO 2007/067046
 【非特許文献】

10

【0006】

【非特許文献 1】Chen, Y.ら、(1999) J. Mol Biol 293:865 ~ 881頁
 【非特許文献 2】Kwakkenbosら、Nat Med 2010
 【非特許文献 3】Diehlら、J Immunol 2008

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

同種幹細胞移植後にGvHD発症率が高く、患者の15~30%の死亡をもたらすとともに、ある患者について好適なドナーが常に利用可能とは限らないことを鑑みると、代替的治療アプローチが必要とされる。本発明の一目的は、AMLに対抗する及び/又はそれを予防するための代替的手段及び方法を提供することである。

20

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明は、無傷AML細胞と結合可能である、患者由来のAML特異的ヒト抗体を提供する。重要なことに、この抗体は、同種SCTを受けて完全寛解にあり、抗体がAMLに対して有効であることを示すヒトAML患者に由来する。実際に、本実施例において、本発明による抗体が、無傷AML細胞と結合可能であることを実証した。したがって、本発明によるAML特異的ヒト抗体は、抗AML療法における使用に特に好適である。たとえば、本発明による抗体は、毒性部分を備える。投与後、AML細胞は結合及び/又はインターナライズされ、毒性部分はAML細胞に対してその毒性効果を及ぼすと考えられる。或いは、いくつかの実施形態において、任意選択で免疫調節化合物に結合している、本発明による抗体を使用して、抗体依存性細胞介在性細胞毒性(ADCC)又は補体依存性細胞毒性(CDC)が誘導される。ヒト抗体、又はヒト抗体の機能的部分若しくは機能的等価物が得られることにより、ヒトにおける副作用の可能性が減少し、これは重要な利点である。したがって、本発明により提供される抗体により、既存のAML治療に加えて、又は代替案として使用できる、新規AML治療オプションが利用可能となった。

30

【0009】

本発明の重要な一実施形態は、AML細胞の増殖を減少させることが可能であるヒトAML特異的抗体を提供する。AML患者に対するかかる抗体の投与は、追加の(毒性)部分を抗体に付加する必要なしに、AML細胞に対抗すると考えられる。特に好ましい一実施形態は、抗体依存性細胞介在性細胞毒性(ADCC)、補体依存性細胞毒性(CDC)、アポトーシス又は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ若しくは樹状細胞による食作用とは独立に、AML細胞の増殖を減少させることが可能であるヒトAML特異的抗体を提供する。好ましくは、かかる抗体は、任意の他の免疫細胞、又は補体又はアポトーシスとは(本質的に)独立に、AML細胞の増殖を減少させることが可能である。実施例に示すとおり、かかる抗体は、AML細胞増殖を直接的に減少させるか、若しくは阻害することが可能であり、又は、免疫細胞、たとえばNK細胞若しくはマクロファージの非存在下及び補体の非存在下で、AML細胞を殺すことも可能である。この実施形態は、マクロファージによる腫瘍細胞の食作用を可能にするためにCD47特異的抗体が使用される先行技術のアプローチ、たとえばMajetiら、2009及びWillinghamら、2012に記載のものとは対照的である。WO 2009/051974は、インビト

40

50

口でウサギ補体の存在下でAML細胞に対するCDCを誘導可能である、C型レクチン様分子-1 (CLL-1) 特異的抗体の使用を記載する。しかしながら、Bakkerら、2004は、CLL-1を介した抗体依存性細胞介在性細胞毒性又は補体依存性細胞毒性が、有効な標的化機序だとは考えず、AMLに対する使用のために毒素がコンジュゲートされたCLL-1抗体を提案する。WO 2012/098407は、AML細胞死を誘導するNK細胞をリクルートすることにより、AML細胞に対する抗体依存性細胞介在性細胞毒性を誘導するための、IL1RAPに特異的な抗体の使用を開示する。したがって、上述の先行技術は、他の免疫細胞を活性化させるための抗体の使用に焦点を当て、これは、免疫低下個体、たとえば同種SCTの有無にかかわらず化学療法を受けたAML患者において、所望の結果を提供できない。

【0010】

WO 2013/071068は、ヒト抗体遺伝子を発現するトランスジェニックトランス染色体マウスにおいて産生させた抗CXCR4抗体を記載する。得られた抗体は、広範な造血細胞と結合し、インビトロでAML細胞株の増殖を阻害可能である。これらの抗CXCR4抗体は、様々なAML細胞株のアポトーシスを誘導する。

【0011】

AMLに対する抗CD33モノクローナル抗体療法もまた、記述されてきた(Waltherら、2012)。たとえば、薬物コンジュゲートとカップリングしているCD33特異的抗体が記載されている。

【0012】

WO 2010/102244は、AML細胞のアポトーシスを誘導可能であるヒト化抗EphA3抗体を記載している。更に、Biernackiら、2010及びWuら、2000は、細胞内抗原、たとえばRAB38、TBCE、DUSP12及びRAFTKに特異的な、AML患者から得られる抗体を記載している。

【0013】

結論として、複数の刊行物が、細胞内抗原と結合するAML抗体を記載している。かかる抗体は、AML細胞が無傷のときには、かかる細胞内標的に到達しえないがゆえに、インビボで生きた無傷AML細胞と戦うための第1の選択肢ではない。他の刊行物は、広範な造血細胞と結合する抗体、たとえばCD33、CXCR4、CD47又はCLL-1に至るまでを記載している。広範な(造血)細胞と結合する抗体には、深刻な副作用のリスクが伴う。

【0014】

当技術分野において記述されている複数の抗体が、食作用、ADCC又はCDCを誘導することにより作用し、AML細胞に対抗するために、他の免疫細胞又は補体成分が必要なことを意味する。したがって、かかる抗体の使用は、免疫低下個体においては限定される。更に、記載された抗体のいくつかはヒトではなく、高い副作用のリスクを伴う。他の刊行物(たとえばWO 2013/071068及びWO 2010/102244)は、AML細胞のアポトーシスを誘導する抗体を記載している。

【0015】

上述の刊行物とは対照的に、本発明者らは、異なるアプローチをとった。とりわけAML細胞上に存在する成分に対する人工生成抗体の代わりに、本発明者らは、同種SCTを受けた後に強力な移植片対白血病反応を開始した一方で、完全寛解を維持したヒトAML患者から抗体を単離した。これらの抗体は、無傷AML細胞に特異的に結合可能である。したがって、人工開発抗体を使用する代わりに、本発明者らは、同種SCTを受けた後にヒトAML患者において誘発された天然免疫防御を見事に利用した。自然界に見出される体液性反応は、インビボで有効な抗体を生成するB細胞の非常に適切な選択及び増殖をもたらす。したがって、本発明による抗体、又はそれらの機能的部分若しくは機能的誘導体は、AML患者においてAML細胞に結合するのに特に好適である。抗体が、細胞内抗原の代わりに無傷AML細胞に特異的であるという事実は、それらをAML治療に特に好適なものとする。

【0016】

上述のとおり、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物は、毒性部分とカップリングできる。かかる毒性部分は、次にインビボでAML細胞に対する抗体の結合を通じて、AML細胞に向けられる。本発明の一実施形態は、無傷AML細胞と結合可能であり、

10

20

30

40

50

AML細胞の増殖を減少させることが可能である、ヒト抗体、又はそれらの機能的部分若しくは機能的等価物を提供する。かかる抗体は、(毒性部分の使用は依然として、追加の抗AML効果を提供するために有用でありうるとはいえ)抗体を追加の毒性成分とカップリングさせる必要性を回避する。特に好ましい一実施形態において、無傷AML細胞と結合可能であり、抗体依存性細胞介在性細胞毒性(ADCC)、補体依存性細胞毒性(CDC)又は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ若しくは樹状細胞による食作用とは独立に、AML細胞の増殖を減少させることが可能である、本発明によるヒト抗体、又はそれらの機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。好ましくは、かかる抗体は、他の免疫細胞又は補体成分とは独立、又は本質的に独立に、AML細胞の増殖を減少させることが可能である。強力な抗AML活性を有するかかる抗体の使用が、とりわけ免疫低下個体において好ましい。したがって、本発明の好ましい一態様は、急性骨髄性白血病(AML)細胞の細胞表面成分と結合可能であり、抗体依存性細胞介在性細胞毒性(ADCC)、補体依存性細胞毒性(CDC)又は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ若しくは樹状細胞による食作用とは独立、又は本質的に独立に、AML細胞の増殖を減少させることが可能である、単離、合成又は組換えヒト抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を提供する。好ましくは、かかる抗体は、任意の他の免疫細胞又は補体とは(本質的に)独立に、AML細胞の増殖を減少させることが可能である。実施例に示すとおり、少なくとも抗体AT12-023、AT12-025及びAT13-024が、これらの特性を有する。したがって、これらは、本発明による好ましい抗体である。

10

【0017】

20

更に好ましい一実施形態において、無傷AML細胞と結合可能であり、アポトーシスとは独立に、AML細胞の増殖を減少させることが可能である、本発明によるヒト抗体、又はそれらの機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。実施例に示すとおり、少なくとも抗体AT12-023、AT13-031及びAT13-037が、この特性を有する。これは、これらの抗体がアポトーシス阻害剤、たとえば汎カスパーゼ阻害剤Q-VD-OPh又はZ-VAD-fmkの存在下でAML細胞死を誘導できるという事実、及び、これらの抗体のほとんど(抗体AT13-031を除く)が4でそれらの細胞毒性特性を維持するという事実から明らかである。本発明によれば、抗体、たとえばAT12-023、AT13-031及びAT13-037は、ネクローシス(たとえばオンコースス又はネクロプトーシス)を介してそれらのAML標的細胞を殺す。これは、本発明によるネクローシス誘導抗体が、アポトーシス誘導抗体よりも患者の免疫反応を増強するという、現在知られているアポトーシス誘導抗体に対する利点を提供する。これは、ネクローシスが、個体の免疫系に対するより多くの細胞含有物の曝露を引き起こすという事実による。したがって、更に、急性骨髄性白血病(AML)細胞の細胞表面成分と結合可能であり、アポトーシスとは独立、又は本質的に独立に、AML細胞の増殖を減少させることが可能である、単離、合成又は組換えヒト抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。

30

【0018】

更に好ましい一実施形態において、アポトーシス並びに上述の免疫細胞及び補体の両方と独立に、AML細胞の増殖を減少させることが可能である、本発明によるヒト抗体、又はそれらの機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。したがって、更に、急性骨髄性白血病(AML)細胞の細胞表面成分と結合可能であり、抗体依存性細胞介在性細胞毒性(ADCC)、補体依存性細胞毒性(CDC)、アポトーシス、又はマクロファージ若しくは樹状細胞による食作用とは本質的に独立に、AML細胞の増殖を減少させることが可能である、単離、合成又は組換えヒト抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。

40

【0019】

本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物は、好ましくは、無傷AML細胞と結合可能である。好ましくは、かかる抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物は、AML細胞に特異的な細胞表面成分と結合可能である。これは、典型的には、非造血細胞又は非悪性造血細胞、たとえば肝細胞、結腸細胞、線維芽細胞、内皮細胞、健常末梢血単核細胞(PBMC)及び健常骨髄細胞が、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の

50

AML細胞に対する結合親和性と比較して、認識されないか、又は有意に低い程度にしか認識されないことを意味する。これは、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の、非造血細胞又は非悪性造血細胞に対する結合が、典型的には、無関係の対照抗体のこれら細胞に対する結合と同じ範囲であることを意味する(対照抗体は前記細胞に特異的でない)。しかしながら、他のタイプの悪性造血細胞に対する一定の反応性は、「AML特異的」という用語の範囲内に収まる。たとえば、抗体AT13-031及びAT12-023が、患者由来B非ホジキンリンパ腫細胞と結合可能であることが、Table 4(表5)及び図6に示される。したがって、B非ホジキンリンパ腫に対する医薬又は予防剤の調製のための、抗体AT13-031又は抗体AT12-023、又は任意のこれらの抗体の機能的部分若しくは機能的誘導体の使用もまた、少なくとも部分的にB非ホジキンリンパ腫を治療又は予防するための方法における使用のための、抗体AT13-031又は抗体AT12-023、又は任意のこれらの抗体の機能的部分若しくは機能的誘導体とともに提供される。同様に、抗体AT13-024、AT13-031及びAT12-019は、リンパ腫及び/又は多発性骨髄腫細胞株と結合可能である[Table 4(表5)]。したがって、リンパ腫及び/又は骨髄腫に対する医薬又は予防剤の調製のための、抗体AT13-024又は抗体AT13-031又は抗体AT12-019、又は任意のこれらの抗体の機能的部分若しくは機能的誘導体の使用もまた、少なくとも部分的にリンパ腫及び/又は骨髄腫を治療又は予防するための方法における使用のための、抗体AT13-024又は抗体AT13-031又は抗体AT12-019、又は任意のこれらの抗体の機能的部分若しくは機能的誘導体とともに提供される。

10

20

30

40

50

【0020】

本明細書において使用される「AML細胞」という用語は、天然AML細胞、たとえばAML患者に存在する原発AML芽細胞を、AML細胞株、たとえばTHP-1、Mono-Mac 6及びMoIm13とともに包含する。

【0021】

本明細書において使用される「抗体」という用語は、軽鎖可変領域(VL)と対になり、標的エピトープに特異的な、少なくとも重鎖可変領域(VH)を含む免疫グロブリンタンパク質を指す。

【0022】

「抗体の機能的部分」は、必ずしも量においてではなく、種類において前記抗体と共有される少なくとも1つの特性を有する部分として本明細書に定義される。前記機能的部分は、必ずしも同じ程度にではないとはいえ、前記抗体と同じ抗原と結合可能である。一実施形態において、抗体の機能的部分は、少なくとも重鎖可変ドメイン(VH)を含む。抗体の機能的部分の非限定的な例は、単ドメイン抗体、単鎖抗体、ナノボディ、ユニボディ、単鎖可変フラグメント(scFv)、Fabフラグメント及びF(ab')₂フラグメントである。

【0023】

「抗体の機能的等価物」は、抗体の少なくとも1つのCDR配列、好ましくは重鎖CDR3配列を含む、人工結合化合物として本明細書に定義される。前記機能的等価物には、好ましくは、抗体の重鎖CDR3配列が、前記抗体の軽鎖CDR3配列とともに含まれる。より好ましくは、前記機能的等価物には、抗体の重鎖CDR1、CDR2及びCDR3配列が、前記抗体の軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3配列とともに含まれる。抗体の機能的等価物は、たとえば、得られる化合物の少なくとも抗原結合特性が、必ずしも量においてではなく、種類において本質的に同じように抗体を改変することにより生成される。これは、多くの方法で、たとえば、抗体の機能全体に本質的に影響しないように、アミノ酸残基が一般に類似した特性(サイズ、疎水性等)を有する別の残基により置換される、保存アミノ酸置換を通じてなされる。

【0024】

当業者によりよく知られているとおり、抗体の重鎖は、免疫グロブリン分子を構成する2つのタイプの鎖の大きい方である。重鎖は、定常ドメイン及び可変ドメインを含み、この可変ドメインが抗原結合に関与する。抗体の軽鎖は、免疫グロブリン分子を構成する2つのタイプの鎖の小さい方である。軽鎖は、定常ドメイン及び可変ドメインを含む。可変ドメインは、常にではないが多くの場合、重鎖の可変ドメインとともに抗原結合に関与する。

【0025】

相補性決定領域(CDR)は、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインに存在する超可変領域である。抗体全体の場合、重鎖のCDR1~3及び連結された軽鎖のCDR1~3が共に、抗原結合部位を形成する。

【0026】

本明細書において使用される「本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物」はまた、「本発明による結合化合物」とも呼ばれる。

【0027】

「AML細胞の細胞表面成分」という用語は、AML細胞の細胞表面において若しくは細胞表面上に少なくとも部分的に存在する任意の成分、又はAML細胞表面に結合された成分を意味する。AML細胞の細胞表面成分の非限定的な例は、膜(貫通)タンパク質、糖タンパク質、及びそれらに結合された任意の化合物である。

10

【0028】

「に特異的」及び「に特異的に結合可能」という用語は、本明細書において互換的に使用され、抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物と、そのエピトープとの間の相互作用を指す。これは、前記抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物が、他の抗原又はアミノ酸配列よりも前記エピトープと優先的に結合することを意味する。したがって、抗体、機能的部分又は等価物が、他の抗原又はアミノ酸配列と非特異的に結合するとはいえ、前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の、そのエピトープに対する結合親和性は、前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の、他の抗原又はアミノ酸配列に対する非特異的結合親和性よりも有意に高い。

20

【0029】

AML細胞の特定のエピトープと結合可能である、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物はまた、AML細胞の前記エピトープが他の細胞(たとえば、他の白血病細胞、骨髄腫細胞又はリンパ腫細胞)上にも存在する場合は、他の非AML細胞にも特異的でありうる。その場合、本明細書においてAML細胞に特異的と呼ばれる抗体はまた、同じエピトープを含む前記他の細胞にも特異的である。好ましくは、本明細書に提供されるヒトAML抗体並びにそれらの機能的部分及び機能的等価物は、非造血細胞及び非悪性造血細胞には有意に結合しない。

【0030】

「結合親和性」は、抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の単一の結合部位とその結合パートナー(たとえば、抗原)との間の非共有結合性相互作用の総和の強さを指す。特に指示のない限り、本明細書において使用される「結合親和性」は、結合ペアのメンバー(たとえば抗体及び抗原)間の1:1相互作用を反映する固有結合親和性を指す。親和性は、一般に、平衡解離定数(K_D)により表すことができ、 k_a の k_d に対する比として算出される。たとえば、Chen, Y.ら、(1999) J. Mol Biol 293:865~881頁を参照のこと。親和性は、当技術分野において知られている常法、たとえば表面プラズモン共鳴(SPR)アッセイ、たとえばBiaCore又はTechnologies BV社(Hengelo、オランダ)製IBIS-iSPR機器又は液相アッセイ、たとえばKinexaにより測定できる。好ましくは、本発明による抗体は、AML細胞の細胞表面において又は細胞表面上で、最大で100nM、より好ましくは最大で50nM、より好ましくは最大で25nM、より好ましくは最大で10nM、より好ましくは最大で5nM、より好ましくは最大で2nM、より好ましくは最大で1nM、より好ましくは最大で0.5nM、より好ましくは最大で0.3nM、より好ましくは最大で0.1nMの、解離定数(K_D)により特徴づけられるエピトープに対する結合親和性を有する。

30

40

【0031】

アミノ酸若しくは核酸配列の同一性のパーセンテージ、又は「%配列同一性」という用語は、2つの配列をアラインし、必要に応じて最大のパーセント同一性を達成するためにギャップを導入した後に、基準配列の残基と同一である、候補アミノ酸又は核酸配列における残基のパーセンテージとして本明細書に定義される。アラインメントのための方法及びコンピュータプログラムは、当技術分野においてよく知られており、たとえば「Align

50

2」である。

【0032】

特に好ましい一実施形態において、原発AML芽細胞死を誘導可能である、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。原発AML芽細胞は、市販の細胞株とは対照的に、AML患者に直接由来するので、かかるAML芽細胞に対する抗体の活性が、インビボの状況をより一層示すものである。実施例に示すとおり、少なくとも抗体AT13-024及びAT12-025が、この特性を有する。したがって、これらの抗体が好ましい。特に好ましい一実施形態において、抗体依存性細胞介在性細胞毒性(ADCC)、補体依存性細胞毒性(CDC)、アポトーシス、及び/又はマクロファージ若しくは樹状細胞による食作用とは独立、又は本質的に独立に、原発AML芽細胞死を誘導可能である、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。好ましくは、かかる結合化合物は、他の免疫細胞、又は補体又はアポトーシスとは本質的に独立に、AML芽細胞死を誘導可能である。抗体AT13-024及びAT12-025もまた、この好ましい特性を有する。

10

【0033】

本明細書において使用される「ADCC、CDC又は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ若しくは樹状細胞による食作用とは本質的に独立に」という用語は、ADCC、CDC又は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ若しくは樹状細胞による食作用が、本発明による結合化合物により誘導される抗AML効果に必要なことを意味するが、とはいえ、インビボの状況において、ADCC、CDC又は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ若しくは樹状細胞による食作用もまた生じてよい。したがって、この実施形態において、ADCC、CDC又は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ若しくは樹状細胞による食作用は排除されていないが、本質的でもない。同様に、「他の免疫細胞又は補体成分とは本質的に独立に」という用語は、本発明による結合化合物が、原則的に、他の免疫細胞又は補体成分の存在なしに抗AML効果を及ぼすことが可能であることを意味するが、とはいえ、インビボの状況において、他の免疫細胞又は補体成分もまた、抗AML活性を有していてもよい。「アポトーシスとは本質的に独立に」という用語は、抗AML効果が、アポトーシス以外の機序を介して本発明による結合化合物によりもたらされることを意味する。好ましくは、前記抗AML効果は、ネクローシスを介してもたらされる。

20

【0034】

更に好ましい一実施形態において、インビトロで7日以内、好ましくは5日以内、より好ましくは3日以内、より一層好ましくは1日以内でAML細胞の増殖を減少させることが可能である、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。これは、迅速な治療効果を示す。

30

【0035】

本発明は、無傷AML細胞と結合可能である、単離、合成及び組換えヒト抗体、又はそれらの機能的部分若しくは機能的等価物を提供する。前記AML細胞は、好ましくは、M5、M0、M1、M2、M3及びM4からなる群から選択されるフレンチ-アメリカン-ブリティッシュ(FAB)分類に属する。より好ましくは、前記AML細胞は、FAB分類M5又はM1又はM0又はM4、好ましくはM5に属する。これらは、AML患者に一般に見出されるFAB分類である。

【0036】

更に好ましい一実施形態において、少なくとも2つ、好ましくは少なくとも3つ、より好ましくは少なくとも4つの異なるFAB分類の、異なるAML細胞と結合可能である、単離、合成及び組換えヒト抗体、又はそれらの機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。かかる抗体は、異なるFAB分類を有する異なるAML患者に有用であり、結果として、これらの抗体は広範に適用可能である。Table 3(表4)に示すとおり、抗体AT12-025は、少なくとも2つのFAB分類(M5+M1)のAML細胞と結合可能である。したがって、これは、本発明による好ましい抗体である。抗体AT13-024、AT12-019、AT13-023、及びAT13-022は、少なくとも3つのFAB分類(M5+M0+M1)のAML細胞と結合可能である。抗体AT13-031もまた、少なくとも3つのFAB分類(M5+M1+M4)のAML細胞と結合可能である。したがって、これらの抗体はより一層好ましい。更に、抗体AT12-023は、少なくとも4つのFAB分類(M5+M0+M1+M4)のAML細胞と

40

50

結合可能である。したがって、この抗体は、より一層広範に適用可能であり、したがって、特に好ましい。

【0037】

特に好ましい一実施形態において、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物が提供され、前記抗体は、IgGアイソタイプ、好ましくはIgG1又はIgG3のものである。これは、ヒトにおける医療用途に有益である。

【0038】

Table 1A(表1)及びTable 1B(表2)、並びに図1は、抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015及びAT14-016の可変重鎖及び軽鎖配列の概要を、個別のCDR配列とともに提供する。これらは、3人のヒトAML患者から得られる、本発明による好ましい抗体である。本明細書において使用される「AT12-023」、「AT12-025」、「AT13-024」、「AT12-019」、「AT13-022」、「AT13-023」、「AT13-031」、「AT12-020」、「AT13-033」、「AT13-034」、「AT13-035」、「AT13-036」、「AT13-037」、「AT14-013」、「AT14-014」、「AT14-015」及び「AT14-016」という用語は、Table 1A(表1)及びTable 1B(表2)並びに図1に示される、これら抗体の少なくとも重鎖及び軽鎖CDR1~3領域、好ましくは可変重鎖系列及び軽鎖系列を有するすべての抗体並びに機能的部分及び機能的等価物、たとえば単離及び/又は精製抗体又は組換え産生抗体を包含する。

10

【0039】

本明細書において使用される任意の「Table 1」への参照は、Table 1A(表1)及び/又はTable 1B(表2)への参照を含む。

20

【0040】

Table 1(表1及び表2)及び図1に示す抗体に基づいて、AML細胞に特異的なTable 1(表1及び表2)及び図1に示す抗体の少なくとも1つのCDR配列を含む抗体又はその機能的部分若しくは機能的等価物を製造することが可能である。したがって、提供されるのは、Table 1(表1及び表2)に示す抗体の少なくとも1つのCDR配列を含む単離、組換え及び/又は合成抗体又はその機能的部分若しくは機能的等価物である。前記CDR配列は、好ましくは、本発明による抗体のCDR3配列である。好ましくは、Table 1(表1及び表2)又は図1に示す同じ抗体の重鎖及び軽鎖の、少なくとも2つのCDR、より好ましくは少なくとも3つのCDRを含む結合化合物が提供される。したがって、好ましくは、抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015又はAT14-016の重鎖及び軽鎖の少なくとも2つ又は3つのCDRが、本発明による1つの結合化合物に共に存在する。好ましくは、本発明による結合化合物は、Table 1(表1及び表2)又は図1に示す同じ抗体のすべての3つの重鎖CDR及びすべての3つの軽鎖CDRを含む。任意選択で、前記CDR配列のうちの少なくとも1つが最適化され、それにより、好ましくは結合効率、選択性、又は安定性を改善するために、変異結合化合物を生成する。これは、たとえば、変異誘発処置によりなされ、その後、得られた化合物の安定性及び/又は結合効率が好ましくは試験され、改善されたAML特異的結合化合物が選択される。当業者は、本発明による少なくとも1つの改変CDR配列を含む変異体を生成することが十分可能である。たとえば、保存アミノ酸置換が適用される。保存アミノ酸置換の例には、1つの疎水性残基、たとえばイソロイシン、バリン、ロイシン又はメチオニンの、別の疎水性残基との置換、及び、1つの極性残基の別の極性残基との置換、たとえばアルギニンのリジンとの置換、グルタミン酸のアスパラギン酸との置換、又はグルタミンのアスパラギンとの置換が含まれる。好ましくは、Table 1(表1及び表2)又は図1に示すCDR配列と少なくとも80%同一であるCDR配列を含む抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物が提供され、その結果、Table 1(表1及び表2)又は図1に示すAML特異的抗体の好ましいAML結合及び/又はAML殺細胞特性は維持されるか、又は更に改善される。したがって、Table 1(表1及び表2)又は図1に示すCDR配列と少なくとも80%同一のアミノ酸配列を含む変異結合化合物もまた、本発明の範囲内である。好ましくは、前記結合化合物

30

40

50

物は、Table 1(表1及び表2)又は図1に示す同じ抗体の重鎖及び軽鎖CDR1~3配列と少なくとも80%同一の重鎖及び軽鎖CDR1~3配列を含む。好ましくは、CDR配列は、本発明による抗体の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる。

【0041】

結合効率又は安定性を改善するためにCDR配列を最適化することに加えて、フレームワーク領域のうち少なくとも1つにおける少なくとも1つの配列を最適化できる。これは、好ましくは、結合効率又は安定性を改善するためになされる。フレームワーク配列は、たとえば、かかるフレームワーク配列をコードする核酸分子に変異導入することにより最適化され、その後、得られた抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の特性が好ましくは試験される。こうして、改善された結合化合物を得ることが可能である。好ましい一実施形態において、ヒト生殖系列配列を、本発明による抗体におけるフレームワーク領域のために使用する。ヒト生殖系列配列の使用は、前記抗体の免疫原性のリスクを最小化する。なぜなら、これら配列は、フレームワーク領域が由来する個体に固有であり、別のヒト個体に適用されたときに免疫原性反応を引き起こしうる体細胞変異を含有する可能性がより低いからである。したがって、更に、フレームワーク領域に少なくとも1つの非自然変異を含む、本発明による合成又は組換え抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。加えて、又は代わりに、定常領域に少なくとも1つの非自然変異を含む、本発明による合成又は組換え抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。「非自然変異」により、得られたアミノ酸配列が自然界において生じないことが意味される。代わりに、それは人工的に製造された。一実施形態において、抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT13-022、AT12-020、AT14-014、AT14-015又はAT14-016のIgG3 Fc領域は、少なくとも部分的にIgG1 Fc領域により置き換えられる。これは、典型的には、得られる免疫グロブリンの安定性及び半減期を増加させる。

10

20

【0042】

本発明による結合化合物は、好ましくは、ヒト可変領域を含む。より好ましくは、前記結合化合物は、ヒト定常領域及びヒト可変領域を含む。最も好ましくは、前記結合化合物は、ヒト抗体である。ヒトAML特異的抗体の使用は、非ヒト抗体の使用に対して有利である。ヒト疾患の診断及び/又は治療のための非ヒト抗体のインビボでの使用は、数多くの要因により妨げられる。特に、ヒトの身体は、非ヒト抗体を外來性のものとして認識するのであり、これは、非ヒト抗体に対する免疫原性反応をもたらす、有害な副作用及び/又は循環からの抗体の急速なクリアランスをもたらすと考えられる。ヒト抗体は、ヒト個体に投与されるとき、副作用の可能性を減少させ、多くの場合、非ヒト抗体と比較して低減したクリアランスゆえに、循環においてより長い半減期をもたらす。別の一実施形態において、本発明による結合化合物は、ヒト化抗体である。別の一実施形態において、本発明による結合化合物は、キメラ抗体である。キメラ抗体において、目的の配列、たとえば目的の追加の結合部位が、本発明による結合化合物内に含まれる。

30

【0043】

更に、本発明による結合化合物は、好ましくは、モノクローナル抗体である。モノクローナル抗体は、単一の分子種からなる抗体である。モノクローナル抗体は、モノクローナル抗体産生細胞又は組換えDNA技術により大量に製造できる。

40

【0044】

したがって、当技術分野において知られている技術、たとえば変異誘発を使用して、Table 1(表1及び表2)及び図1に示す好ましい抗体に基づく変異結合化合物もまた生成できる。典型的には、80から99%の間の配列変異が、一定の抗原特異性を維持しながら許容される。したがって、少なくともTable 1(表1及び表2)又は図1の任意の抗体のCDR配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む本発明による結合化合物もまた、本明細書において提供される。抗体の抗原特異性は、典型的には、CDR3配列により支配されるので、本発明による変異抗体は、好ましくは、Table 1(表1及び表2)又は図1に示す重鎖CDR3配列と少なくとも80%の配列同一性を有する重鎖CDR3配列を少なくとも含む。前記変異抗体は

50

、好ましくは、AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015及びAT14-016からなる群から選択される同じ抗体の重鎖及び軽鎖CDR3配列と少なくとも80%の配列同一性を有する重鎖CDR3配列及び軽鎖CDR3配列を含む。

【0045】

したがって、更に、配列番号27～39及び217～220からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する重鎖CDR3配列、並びに、配列番号66～78及び229～232からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する軽鎖CDR3配列を少なくとも含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。これらは、Table 1(表1及び表2)及び図1に示す抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015及びAT14-016のCDR3配列である。好ましくは、前記配列同一性は、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。前述のとおり、本発明による結合化合物は、好ましくは、Table 1(表1及び表2)又は図1から選択される、同じ抗体の重鎖及び軽鎖CDR3配列と少なくとも80%の配列同一性を有する重鎖及び軽鎖CDR3配列を含む。

【0046】

典型的には、所定のCDR配列の少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、本発明による結合化合物は、好ましくは、最大で3つ、好ましくは最大で2つ、より好ましくは最大で1つのアミノ酸が、AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015及びAT14-016からなる群から選択される同じ抗体からの重鎖及び軽鎖CDR3配列と異なる、重鎖及び軽鎖CDR3配列を含有する。

【0047】

本発明は、

- 配列番号1～13及び209～212からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、並びに/又は
 - 配列番号14～26及び213～216からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、並びに/又は
 - 配列番号27～39及び217～220からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、並びに/又は
 - 配列番号40～52及び221～224からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、並びに/又は
 - 配列番号53～65及び225～228からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、並びに/又は
 - 配列番号66～78及び229～232からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、
- を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。これらは、Table 1A(表1)及びTable 1B(表2)並びに図1に示す抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015及びAT14-016の重鎖及び軽鎖CDR配列である。

【0048】

上述の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列は、好ましくは、Table 1(表1及び表2)又は図1から選

扱われる同じ抗体に由来する。好ましくは、前記抗体又は機能的部分若しくは等価物は、上述のCDR配列(配列番号1~78及び209~232)と少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%同一である、重鎖CDR1、CDR2及びCDR3配列並びに軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3配列を含む。

【0049】

好ましい一実施形態において、抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015及びAT14-016からなる群から選択される、同じ抗体の重鎖CDR1及びCDR2及びCDR3配列は、軽鎖CDR1及びCDR2及びCDR3配列とともに、本発明による所定の結合化合物に存在する。

【0050】

本発明による好ましい抗体は、抗体AT12-023である。この抗体は、実施例並びに図7及び図8に示すとおり、AML細胞株THP-1の細胞と効率的に結合し、それを殺すことが可能であるゆえ好ましい。したがって、この抗体は、AML治療及び/又は診断に特に好適である。興味深いことに、AT12-023は、IgG3アイソタイプのものであり、潜在的な殺細胞特性で知られているVH配列のファミリーである、VH4-34ファミリーに属する(Bhatら、1997)。抗体AT12-023もまた、少なくとも4つの異なるFAB分類の原発AML芽細胞と効率的に結合可能である[Table 3(表4)]。抗体AT12-023の重鎖CDR1、CDR2及びCDR3配列、並びに軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3配列はそれぞれ、Table 1(表1及び表2)に示す配列番号1、14、27、40、53及び66である。したがって、本発明は、

- 配列番号1と少なくとも85%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号14と少なくとも85%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号27と少なくとも85%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号40と少なくとも85%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号53と少なくとも85%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号66と少なくとも85%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。好ましくは、前記配列同一性は、少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。本明細書に前述のとおり、記載のCDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、前記重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT12-023CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる、抗体AT12-023由来CDR配列を含有する。

【0051】

本発明による別の好ましい抗体は、抗体AT12-025である。この抗体は、実施例並びに図8及び図10に示すとおり、AML細胞株THP-1の細胞と、患者由来原発AML芽細胞と同様に、効率的に結合し、それらを殺すことが可能であるゆえ好ましい。したがって、この抗体は、AML治療及び/又は診断に特に好適である。興味深いことに、AT12-025は、IgG3アイソタイプのものであり、潜在的な殺細胞性で知られているVH配列のファミリーである、VH4-34ファミリーに属する(Bhatら、1997)。抗体AT12-025の重鎖CDR1、CDR2及びCDR3配列、並びに

軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3配列はそれぞれ、Table 1(表1及び表2)に示す配列番号2、15、28、41、54及び67である。したがって、本発明は、

- 配列番号2と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号15と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号28と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号41と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号54と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号67と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。上述のとおり、記載のAT12-025CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT12-025CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる、CDR配列を含有する。

【0052】

本発明による別の好ましい抗体は、抗体AT13-024である。この抗体は、実施例及び図10に示すとおり、患者由来原発AML芽細胞と効率的に結合し、それを殺すことが可能であるゆえ好ましい。したがって、この抗体は、AML治療及び/又は診断に特に好適である。興味深いことに、AT13-024は、IgG3アイソタイプのものであり、VH3-30ファミリーに属する。抗体AT13-024の重鎖CDR1、CDR2及びCDR3配列、並びに軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3配列はそれぞれ、Table 1(表1及び表2)に示す配列番号3、16、29、42、55及び68である。したがって、本発明は、

- 配列番号3と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号16と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号29と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号42と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号55と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号68と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。上述のとおり、記載のAT13-024CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT13-024CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる、CDR配列を含有する。

【0053】

本発明は、

- 配列番号4と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号17と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び

- 配列番号30と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号43と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号56と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号69と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。これらは、抗体AT12-019のCDR配列である。完全寛解にあるヒトAML患者に由来する抗体AT12-019は、無傷AML細胞と効率的に結合可能であり、これは、AT12-019由来CDR配列を含有する結合化合物を、AML治療及び/又は診断に特に好適なものとする。かかる結合化合物は、たとえば、抗体-薬物コンジュゲート(ADC:antibody-drug conjugate)として使用され、結果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ又は樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマーキングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。上述のとおり、記載のAT12-019CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT12-019CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる、CDR配列を含有する。

【0054】

本発明は、

- 配列番号5と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号18と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号31と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号44と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号57と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号70と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。これらは、抗体AT13-022のCDR配列である。興味深いことに、抗体AT13-022は、IgG3アイソタイプのものである。完全寛解にあるヒトAML患者に由来する抗体AT13-022は、無傷AML細胞と特異的に結合可能であり、これは、AT13-022由来CDR配列を含有する結合化合物を、AML治療及び/又は診断に特に好適なものとする。かかる結合化合物は、たとえば、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)として使用され、結果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ又は樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマーキングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。上述のとおり、記載のAT13-022CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、

上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT13-022CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる、CDR配列を含有する。

【0055】

本発明は、

- 配列番号6と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号19と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号32と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号45と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号58と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号71と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。これらは、抗体AT13-023のCDR配列である。これらは抗体AT13-023のCDR配列である。興味深いことに、AT13-023は、潜在的な殺細胞特性で知られているVH配列のファミリーである、VH4-34ファミリーに属する(Bhatら、1997)。完全寛解にあるヒトAML患者に由来する抗体AT13-023は、無傷AML細胞と特異的に結合可能であり、これは、AT13-023由来CDR配列を含有する結合化合物を、AML治療及び/又は診断に特に好適なものとする。かかる結合化合物は、たとえば、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)として使用され、結果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ又は樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマーキングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。上述のとおり、記載のAT13-023CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT13-023CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる、CDR配列を含有する。

【0056】

本発明は、

- 配列番号7と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号20と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号33と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号46と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号59と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号72と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。これらは、抗体AT13-031のCDR配列である。興味深いことに、AT13-031は、潜在的な殺細胞特性で知られているVH配列のファミリーである、VH4-34ファミリーに属する(Bhatら、1997)。完全寛解にあるヒトAML患者に由来する抗体AT13-031は、無傷AML細胞と特異的に結合可能である。更に、この抗体は、AML細胞株THP-1の細胞と効率的に結合し、それを殺すことが可能であるゆえ好ましい。したがって、AT13-031由来CDR配列を含有する結合化合物は、AML治療及び/又は診断に特に好適である。かかる結合化合物は、たとえば、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)として使用され、結果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ又は

樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマーキングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。上述のとおり、記載のAT13-031CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、

10

【0057】

本発明は、

- 配列番号8と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号21と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号34と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号47と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号60と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号73と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

20

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。これらは、抗体AT12-020のCDR配列である。興味深いことに、抗体AT12-020は、IgG3アイソタイプのものである。完全寛解にあるヒトAML患者に由来する抗体AT12-020は、無傷AML細胞と特異的に結合可能であり、これは、AT12-020由来CDR配列を含有する結合化合物を、AML治療及び/又は診断に特に好適なものとする。かかる結合化合物は、たとえば、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)として使用され、結果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ又は樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマーキングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。上述のとおり、記載のAT12-020CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、

30

40

【0058】

本発明は、

- 配列番号9と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号22と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号35と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号48と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号61と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号74と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。これらは、抗体AT13-033のCDR配列である。完全寛解にあるヒトAML患者に由来す

50

る抗体AT13-033は、無傷AML細胞と特異的に結合可能である。更にこの抗体は、AML細胞株THP-1の細胞と効率的に結合し、それを殺すことが可能であるゆえ好ましい。したがって、AT13-033由来CDR配列を含有する結合化合物は、AML治療及び/又は診断に特に好適である。かかる結合化合物は、たとえば、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)として使用され、結果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ又は樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマーキングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。上述のとおり、記載のAT13-033CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT13-033CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる、CDR配列を含有する。

10

20

30

40

50

【0059】

本発明は、

- 配列番号10と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号23と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号36と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号49と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号62と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号75と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。これらは、抗体AT13-034のCDR配列である。完全寛解にあるヒトAML患者に由来する抗体AT13-034は、無傷AML細胞と特異的に結合可能であり、これは、AT13-034由来CDR配列を含有する結合化合物を、AML治療及び/又は診断に特に好適なものとする。かかる結合化合物は、たとえば、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)として使用され、結果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ又は樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマーキングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。上述のとおり、記載のAT13-034CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT13-034CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる、CDR配列を含有する。

【0060】

本発明は、

- 配列番号11と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び

- 配列番号24と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
 - 配列番号37と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
 - 配列番号50と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
 - 配列番号63と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
 - 配列番号76と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、
 を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供
 する。これらは、抗体AT13-035のCDR配列である。完全寛解にあるヒトAML患者に由来す
 る抗体AT13-035は、無傷AML細胞と特異的に結合可能である。更にこの抗体は、AML細胞株
 THP-1の細胞と効率的に結合し、それを殺すことが可能であるゆえ好ましい。したがって
 、AT13-035由来CDR配列を含有する結合化合物は、AML治療及び/又は診断に特に好適であ
 る。かかる結合化合物は、たとえば、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)として使用され、結
 果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導
 することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨髄
 細胞、たとえばマクロファージ又は樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマー
 キングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。や
 はり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、
 より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なく
 とも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好まし
 くは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、
 より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なく
 とも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好まし
 くは100%である。上述のとおり、記載のAT13-035CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミ
 ノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しなが
 ら変化してもよい。したがって、上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT13-0
 35CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸
 が異なる、CDR配列を含有する。

10

20

40

50

【0061】

本発明は、

- 配列番号12と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
 - 配列番号25と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
 - 配列番号38と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
 - 配列番号51と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
 - 配列番号64と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
 - 配列番号77と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、
 を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提
 供する。これらは、抗体AT13-036のCDR配列である。完全寛解にあるヒトAML患者に由来す
 る抗体AT13-036は、無傷AML細胞と特異的に結合可能である。更にこの抗体は、AML細胞株
 THP-1の細胞と効率的に結合し、それを殺すことが可能であるゆえ好ましい。したがって
 、AT13-036由来CDR配列を含有する結合化合物は、AML治療及び/又は診断に特に好適であ
 る。かかる結合化合物は、たとえば、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)として使用され、結
 果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導
 することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨髄
 細胞、たとえばマクロファージ又は樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマー
 キングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。や
 はり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、
 より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なく
 とも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好まし
 くは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、
 より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なく
 とも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好まし
 くは100%である。

ある。上述のとおり、記載のAT13-036CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT13-036CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる、CDR配列を含有する。

【0062】

本発明は、

- 配列番号13と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号26と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号39と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号52と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号65と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号78と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。これらは、抗体AT13-037のCDR配列である。完全寛解にあるヒトAML患者に由来する抗体AT13-037は、無傷AML細胞と特異的に結合可能である。更に、この抗体は、実施例に示すとおり、AML細胞株THP-1の細胞と、患者由来原発AML芽細胞と同様に、効率的に結合し、それらを殺すことが可能であるゆえ好ましい。したがって、AT13-037由来CDR配列を含有する結合化合物は、AML治療及び/又は診断に特に好適である。かかる結合化合物は、たとえば、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)として使用され、結果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ又は樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマーキングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。上述のとおり、記載のAT13-037CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT13-037CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる、CDR配列を含有する。

【0063】

本発明は、

- 配列番号209と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号213と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号217と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号221と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号225と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号229と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。これらは、抗体AT14-013のCDR配列である。完全寛解にあるヒトAML患者に由来する抗体AT14-013は、少なくとも3つの異なるFAB分類の原発AML芽細胞と特異的に結合可能であり、これは、AT14-013由来CDR配列を含有する結合化合物を、AML治療及び/又は診断に特に好適なものとする。かかる結合化合物は、たとえば、好ましくはアポトーシスとは独立に、且つ/又は、ADCC、CDC又は、マクロファージ若しくは樹状細胞による食作用とは独立に、AML細胞の増殖を減少させるために使用される。好ましくは、前記結合化合物は

、AML細胞死を誘導するために使用される。いくつかの実施形態において、かかる結合化合物は、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)として使用され、結果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ又は樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマーキングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。上述のとおり、記載のAT14-013CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT14-013CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる、CDR配列を含有する。

10

【0064】

本発明は、

- 配列番号210と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号214と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号218と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号222と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号226と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号230と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。これらは、抗体AT14-014のCDR配列である。興味深いことに、抗体AT14-014は、IgG3アイソタイプのものである。完全寛解にあるヒトAML患者に由来する抗体AT14-014は、無傷AML細胞と特異的に結合可能であり、これは、AT14-014由来CDR配列を含有する結合化合物を、AML治療及び/又は診断に特に好適なものとする。かかる結合化合物は、たとえば、好ましくはアポトーシスとは独立に、且つ/又は、ADCC、CDC又は、マクロファージ若しくは樹状細胞による食作用とは独立に、AML細胞の増殖を減少させるために使用される。好ましくは、前記結合化合物は、AML細胞死を誘導するために使用される。いくつかの実施形態において、かかる結合化合物は、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)として使用され、結果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ又は樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマーキングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。上述のとおり、記載のAT14-014CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT14-014CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる、CDR配列を含有する。

20

30

40

【0065】

50

本発明は、

- 配列番号211と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号215と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号219と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号223と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号227と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号231と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。これらは、抗体AT14-015のCDR配列である。興味深いことに、抗体AT14-015は、IgG3アイソタイプのものである。完全寛解にあるヒトAML患者に由来する抗体AT14-015は、無傷AML細胞と特異的に結合可能であり、これは、AT14-015由来CDR配列を含有する結合化合物を、AML治療及び/又は診断に特に好適なものとする。かかる結合化合物は、たとえば、好ましくはアポトーシスとは独立に、且つ/又は、ADCC、CDC又は、マクロファージ若しくは樹状細胞による食作用とは独立に、AML細胞の増殖を減少させるために使用される。好ましくは、前記結合化合物は、AML細胞死を誘導するために使用される。いくつかの実施形態において、かかる結合化合物は、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)として使用され、結果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨髄細胞、たとえばマクロファージ又は樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマーキングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。上述のとおり、記載のAT14-015CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのアミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しながら変化してもよい。したがって、上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT14-015CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ酸が異なる、CDR配列を含有する。

【0066】

本発明は、

- 配列番号212と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR1配列、及び
- 配列番号216と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR2配列、及び
- 配列番号220と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む重鎖CDR3配列、及び
- 配列番号224と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR1配列、及び
- 配列番号228と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR2配列、及び
- 配列番号232と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む軽鎖CDR3配列、

を含む、単離、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物を更に提供する。これらは、抗体AT14-016のCDR配列である。興味深いことに、抗体AT14-016は、IgG3アイソタイプのものである。完全寛解にあるヒトAML患者に由来する抗体AT14-016は、無傷AML細胞と特異的に結合可能であり、これは、AT14-016由来CDR配列を含有する結合化合物を、AML治療及び/又は診断に特に好適なものとする。かかる結合化合物は、たとえば、好ましくはアポトーシスとは独立に、且つ/又は、ADCC、CDC又は、マクロファージ若しくは樹状細胞による食作用とは独立に、AML細胞の増殖を減少させるために使用される。好ましくは、前記結合化合物は、AML細胞死を誘導するために使用される。いくつかの実施形態において、かかる結合化合物は、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)として使用され、結果として毒性化合物がAML細胞へと向けられるか、又はそれは、CDC及び/又はADCCを誘導することにより使用される。代わりに、又は加えて、かかる結合化合物は、腫瘍関連骨

髄細胞、たとえばマクロファージ又は樹状細胞による特異的食作用のためにAML細胞をマ
ーキングするために使用でき、続いてこれら細胞は、AML特異的免疫反応を誘導できる。
やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%
、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なく
とも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましく
は少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より
好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97
%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%
である。上述のとおり、記載のAT14-016CDR配列における少なくとも1つ、2つ又は3つのア
ミノ酸残基が、(必ずしも量においてではなく、種類において)同種の結合活性を保持しな
がら変化してもよい。したがって、上述の重鎖及び軽鎖CDR1、2及び3配列は、記載のAT14
-016CDR配列と好ましくは3つ以下、好ましくは2つ以下、より好ましくは1つ以下のアミノ
酸が異なる、CDR配列を含有する。

10

【0067】

好ましくは、本発明による抗体は、Table 1(表1及び表2)若しくは図1に示す可変重鎖配
列及び/若しくは可変軽鎖配列、又はそれらと少なくとも80%の配列同一性を有する配列を
含む。Table 1(表1及び表2)に示すとおり、抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-01
9、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-03
6、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015及びAT14-016の可変重鎖配列はそれぞれ、
配列番号79~91及び233~236である。抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT
13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT
13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015及びAT14-016の可変軽鎖配列はそれぞれ、配列番
号92~104及び237~240である。したがって、更に、配列番号79~91及び233~236からな
る群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する可変重鎖配列並びに/又は
配列番号92~104及び237~240からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一
性を有する可変軽鎖配列、又はこれらの重鎖又は軽鎖配列のうちの任意の1つと少なくと
も85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは
少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好
ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%
、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なく
とも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましく
は少なくとも99%、より好ましくは100%同一である配列を含む、本発明による抗体又はそ
の機能的部分若しくは等価物が提供される。同一性が高いほど、抗体は図1に示す抗体と
より近似する。好ましくは、本発明による結合化合物は、図1に示す抗体のうちの任意の1
つの可変重鎖配列を、同じ抗体の可変軽鎖配列とともに、又は、それらと少なくとも80%
、好ましくは少なくとも85%、若しくは少なくとも86%、若しくは少なくとも87%、若しく
は少なくとも88%、若しくは少なくとも89%、若しくは少なくとも90%、若しくは91%、若し
くは少なくとも92%、若しくは少なくとも93%、若しくは少なくとも94%、若しくは少なく
とも95%、若しくは少なくとも96%、若しくは少なくとも97%、若しくは少なくとも98%、若
しくは少なくとも99%同一である重鎖及び軽鎖配列を含む。

20

30

40

【0068】

たとえば、抗体AT12-023は、Table 1(表1及び表2)に示す配列番号79の可変重鎖配列及
び配列番号92の可変軽鎖配列を有する。したがって、配列番号79と少なくとも80%、好ま
しくは少なくとも85%、又は少なくとも86%、又は少なくとも87%、又は少なくとも88%、又
は少なくとも89%、又は少なくとも90%、又は少なくとも91%、又は少なくとも92%、又は少
なくとも93%、又は少なくとも94%、又は少なくとも95%、又は少なくとも96%、又は少なく
とも97%、又は少なくとも98%、又は少なくとも99%、又は100%の配列同一性を有する可変
重鎖配列を有する本発明による結合化合物が、好ましくは提供される。好ましくは、前記
結合化合物はまた、配列番号92と少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、又は少なく
とも86%、又は少なくとも87%、又は少なくとも88%、又は少なくとも89%、又は少なくと
も

50

240の可変軽鎖配列を有する。したがって、更に、配列番号236と少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、又は少なくとも86%、又は少なくとも87%、又は少なくとも88%、又は少なくとも89%、又は少なくとも90%、又は少なくとも91%、又は少なくとも92%、又は少なくとも93%、又は少なくとも94%、又は少なくとも95%、又は少なくとも96%、又は少なくとも97%、又は少なくとも98%、又は少なくとも99%、又は100%の配列同一性を有する可変重鎖配列を有する本発明による結合化合物が提供される。好ましくは、前記結合化合物はまた、配列番号240と少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、又は少なくとも86%、又は少なくとも87%、又は少なくとも88%、又は少なくとも89%、又は少なくとも90%、又は少なくとも91%、又は少なくとも92%、又は少なくとも93%、又は少なくとも94%、又は少なくとも95%、又は少なくとも96%、又は少なくとも97%、又は少なくとも98%、又は少なくとも99%の配列同一性を有する可変軽鎖配列を含む。

10

20

30

40

50

【0085】

特に好ましい一実施形態において、snRNP200と結合可能である、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。snRNP200は、U5-snRNPとしても知られており、すべての真核細胞におけるスプライセオソームの一部であるタンパク質複合体である。通常は、snRNP200は、核内に位置する。しかしながら、本発明は、snRNP200がまた、AML細胞の表面上に存在するという驚くべき見通しを提供する。この抗原は、少なくとも抗体AT12-023、AT13-031及びAT13-037、並びにそれらの機能的部分及び機能的等価物により結合される。したがって、snRNP200は、抗AML療法にとって重要な標的であり、したがって、本発明によるsnRNP200特異的抗体は、これらの細胞に対抗するのに特に好適である。

【0086】

本発明は、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の少なくとも1つのCDR配列をコードする、少なくとも15ヌクレオチドの長さを有する単離、合成又は組換え核酸分子、又はその機能的等価物を更に提供する。好ましくは、本発明による核酸分子は、少なくとも30ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも50ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも75ヌクレオチドの長さを有する。本発明による核酸分子は、たとえば、本発明による抗体を産生可能であるB細胞から単離される。前記B細胞は、抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015、又はAT14-016を産生する。好ましい一実施形態において、本発明による抗体の重鎖CDR3配列及び軽鎖CDR3配列を少なくともコードする核酸分子が提供される。

【0087】

本明細書において使用される「本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の少なくとも1つのCDR配列をコードする、少なくとも15ヌクレオチドの長さを有する単離、合成又は組換え核酸分子、又はその機能的等価物」という用語は、本明細書において、「本発明による核酸分子又は機能的等価物」とも呼ばれる。

【0088】

本明細書において使用される本発明の核酸分子又は核酸配列は、好ましくは、ヌクレオチド、より好ましくはDNA、cDNA又はRNAの鎖を含む。他の実施形態において、本発明の核酸分子又は核酸配列は、他の種類の核酸構造、たとえばDNA/RNAヘリックス、ペプチド核酸(PNA)、ロックド核酸(LNA)及び/又はリボザイムを含む。かかる他の核酸構造は、核酸配列の機能的等価物と呼ばれる。したがって、「核酸分子の機能的等価物」という用語は、天然ヌクレオチドと同じ機能を示す非天然ヌクレオチド、修飾ヌクレオチド及び/又は非ヌクレオチドビルディングブロックを含む鎖を包含する。

【0089】

抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015及びAT14-016の重鎖及び軽鎖CDRをコードする核酸配列を、Table 1(表1及び表2)に示す。Table 1(表1及び表2)に示すCDR核酸配列とは異なるが、前記重鎖又は軽鎖CDRと同じ

アミノ酸をコードする核酸コドン有する、本発明による抗体の重鎖又は軽鎖CDRをコードする核酸分子もまた、本発明に包含される。かかる核酸分子は、たとえば、産生細胞、たとえばE.coli又はチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、NSO細胞(マウス骨髄腫)又は293(T)細胞にコドン最適化された核酸配列を含み、本発明による結合化合物の大規模生産を可能にする。抗体産生は、任意の組換え抗体産生系により実行できることに留意すべきである。ここで言及した4つの産生細胞系は、今日までに利用可能な多くの系のうちのごく少数の例にすぎない。本明細書において使用される「コドン」という用語は、特定のアミノ酸残基をコードするヌクレオチドのトリプレット(又はその機能的等価物)を意味する。「コドン最適化された」という用語は、元のヒト核酸配列からの1つ又は複数のコドンが、ある種の抗体産生系に好ましい1つ又は複数のコドンにより置き換えられることを意味する。これらの置換コドンは、好ましくは、置き換えられた元のヒトコドンと同じアミノ酸残基をコードする。或いは、1つ又は複数の置換コドンは、異なるアミノ酸残基をコードする。これは、好ましくは、保存アミノ酸置換をもたらすが、これが必要なわけではない。典型的には、定常領域及びフレームワーク領域において、1つ又は複数のアミノ酸置換が一般に許容される。CDR領域において、好ましくは、置き換えられた元のヒトコドンと同じアミノ酸残基をコードするコドンが使用される。

10

【0090】

更に、Table 1(表1及び表2)に示す抗体のCDR配列と同一ではないが、それに基づく重鎖又は軽鎖CDRをコードする核酸分子もまた、得られるCDRがTable 1(表1及び表2)に示すCDR配列と少なくとも80%の配列同一性を有する限り、本発明に包含される。

20

【0091】

したがって、更に、配列番号105~182及び241~264からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む、核酸分子又はその機能的等価物又はベクターが提供される。好ましくは、得られるCDRは、本発明による抗体の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0092】

本発明による好ましい核酸分子又は機能的等価物又はベクターは、

- 配列番号105~117及び241~244からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、並びに/又は
- 配列番号118~130及び245~248からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、並びに/又は
- 配列番号131~143及び249~252からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、並びに/又は
- 配列番号144~156及び253~256からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、並びに/又は
- 配列番号157~169及び257~260からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、並びに/又は
- 配列番号170~182及び261~264からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3

30

40

を含む。

【0093】

前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%配列、最も好ましくは100%である。本発明による核酸分子は、好ましくは、AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015及びAT14-016からなる群から選択される同じ抗体に由来する重鎖CDR1~3コード配列及び軽鎖CDR1~3コード配列、並びに、それらと少なくとも80%の配列同一性を有する重鎖CDR1~3コード配列及び軽鎖CDR1~3コード配列を含む。

【0094】

更に、

50

- 配列番号105と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び

- 配列番号118と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
- 配列番号131と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
- 配列番号144と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
- 配列番号157と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
- 配列番号170と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3

を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT12-023の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT12-023の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0095】

更に、

- 配列番号106と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び

- 配列番号119と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
- 配列番号132と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
- 配列番号145と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
- 配列番号158と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
- 配列番号171と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3

を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT12-025の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT12-025の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0096】

更に、

- 配列番号107と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び

- 配列番号120と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
- 配列番号133と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
- 配列番号146と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
- 配列番号159と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
- 配列番号172と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3

を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT13-024の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT13-024の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0097】

更に、

- 配列番号108と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び

- 配列番号121と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
- 配列番号134と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
- 配列番号147と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び

- 配列番号160と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
 - 配列番号173と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3
 を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT12-019の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT12-019の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0098】

更に、

- 配列番号109と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び
 - 配列番号122と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
 - 配列番号135と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
 - 配列番号148と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
 - 配列番号161と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
 - 配列番号174と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3
 を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT13-022の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT13-022の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0099】

更に、

- 配列番号110と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び
 - 配列番号123と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
 - 配列番号136と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
 - 配列番号149と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
 - 配列番号162と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
 - 配列番号175と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3
 を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT13-023の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT13-023の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0100】

更に、

- 配列番号111と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び
 - 配列番号124と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
 - 配列番号137と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
 - 配列番号150と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
 - 配列番号163と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
 - 配列番号176と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3
 を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT13-031の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも

10

20

30

40

50

も90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT13-031の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0101】

更に、

- 配列番号112と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び

- 配列番号125と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
- 配列番号138と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
- 配列番号151と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
- 配列番号164と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
- 配列番号177と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3

を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT12-020の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT12-020の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0102】

更に、

- 配列番号113と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び

- 配列番号126と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
- 配列番号139と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
- 配列番号152と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
- 配列番号165と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
- 配列番号178と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3

を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT13-033の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT13-033の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0103】

更に、

- 配列番号114と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び

- 配列番号127と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
- 配列番号140と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
- 配列番号153と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
- 配列番号166と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
- 配列番号179と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3

を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT13-034の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT13-034の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0104】

更に、

10

20

30

40

50

- 配列番号115と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び

- 配列番号128と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
- 配列番号141と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
- 配列番号154と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
- 配列番号167と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
- 配列番号180と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3

を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT13-035の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT13-035の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0105】

更に、

- 配列番号116と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び

- 配列番号129と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
- 配列番号142と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
- 配列番号155と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
- 配列番号168と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
- 配列番号181と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3

を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT13-036の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT13-036の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0106】

更に、

- 配列番号117と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び

- 配列番号130と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
- 配列番号143と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
- 配列番号156と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
- 配列番号169と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
- 配列番号182と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3

を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT13-037の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT13-037の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0107】

更に、

- 配列番号241と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び

- 配列番号245と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
- 配列番号249と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
- 配列番号253と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び

- 配列番号257と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
 - 配列番号261と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3
 を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT14-013の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT14-013の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0108】

更に、

- 配列番号242と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び
 - 配列番号246と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
 - 配列番号250と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
 - 配列番号254と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
 - 配列番号258と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
 - 配列番号262と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3
 を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT14-014の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT14-014の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0109】

更に、

- 配列番号243と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び
 - 配列番号247と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
 - 配列番号251と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
 - 配列番号255と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
 - 配列番号259と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
 - 配列番号263と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3
 を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT14-015の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT14-015の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0110】

更に、

- 配列番号244と少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードする重鎖CDR1、及び
 - 配列番号248と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR2、及び
 - 配列番号252と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする重鎖CDR3、及び
 - 配列番号256と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR1、及び
 - 配列番号260と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR2、及び
 - 配列番号264と少なくとも80%の配列同一性を有する配列をコードする軽鎖CDR3
 を含む、核酸分子又は機能的等価物又は1つ又は複数のベクターが提供される。記載の配列番号は、抗体AT14-016の重鎖及び軽鎖CDR1～3配列である。やはり、前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも

10

20

30

40

50

も90%、最も好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは100%である。好ましくは、得られるCDR配列は、抗体AT14-016の元のCDR配列と3つ以下、好ましくは2つ以下、好ましくは1つのアミノ酸のみが異なる。

【0111】

本発明による好ましい核酸分子又はベクターは、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の少なくとも可変重鎖配列及び/又は可変軽鎖配列をコードする。好ましくは、前記核酸分子又はベクターは、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の少なくとも可変重鎖配列及び可変軽鎖配列をコードする。一実施形態において、配列番号183~195及び265~268からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列、並びに/又は、配列番号196~208及び269~272からなる群から選択される配列と少なくとも80%の配列同一性を有する配列を含む、本発明による核酸分子又は機能的等価物又は1つ若しくは複数のベクターが提供される。前記配列同一性は、好ましくは、少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%、より好ましくは100%である。

10

【0112】

より好ましくは、本発明による核酸分子又は機能的等価物又は1つ若しくは複数のベクターは、Table 1(表1及び表2)に示す同じ抗体の可変重鎖及び軽鎖コード配列と類似する、可変重鎖コード配列並びに可変軽鎖コード配列を含む。したがって、好ましい一実施形態において、本発明による核酸分子又は機能的等価物又はベクターは、抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015若しくはAT14-016の可変重鎖コード配列、及び同じ抗体の可変軽鎖コード配列、又はそれらと少なくとも80%、より好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも86%、より好ましくは少なくとも87%、より好ましくは少なくとも88%、より好ましくは少なくとも89%、より好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも91%、より好ましくは少なくとも92%、より好ましくは少なくとも93%、より好ましくは少なくとも94%、より好ましくは少なくとも95%、より好ましくは少なくとも96%、より好ましくは少なくとも97%、より好ましくは少なくとも98%、より好ましくは少なくとも99%同一の配列を含む。

20

30

【0113】

いくつかの実施形態において、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物をコードする、核酸分子及びそれらの機能的等価物及びベクターが提供される。したがって、更に、抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015又はAT14-016、又はその機能的部分若しくは機能的等価物をコードする、核酸分子、又はその機能的等価物、又は1つ若しくは複数のベクターが提供される。いくつかの実施形態において、前記核酸分子又は機能的等価物又はベクターは、非ヒト組換え発現系にコドン最適化されている。

40

【0114】

更に、本発明による核酸分子又は機能的等価物を含むベクターが提供される。本明細書において使用される「本発明による核酸分子又は機能的等価物を含むベクター」はまた、「本発明によるベクター」とも呼ばれる。これらの用語は、本発明による1つ又は複数の核酸分子又は機能的等価物を含む、本発明による1つ又は複数のベクターを包含する。本明細書において使用される単数の用語「a」は、「1つ又は複数」という用語を包含する。

【0115】

本発明による1つ又は複数の核酸分子又は機能的等価物を含むベクターを構築するための方法は、当技術分野においてよく知られている。本発明のベクターを生成するのに好適

50

なベクターの非限定的な例は、レトロウイルス及びレンチウイルスベクターである。かかるベクターは、様々な用途に好適である。たとえば、本発明による治療的に有益な核酸配列を含む本発明の1つ又は複数のベクターは、AMLに対する予防的又は治療的用途に好適である。かかるベクターの、それを必要とする個体、好ましくはヒトへの投与は、インビボでの前記予防的又は治療的核酸配列の発現をもたらす、少なくとも部分的にAMLに対する治療又は予防をもたらす。前記ベクターはまた、たとえば、本発明による抗体又は機能的等価物の(商業的)産生のための、目的の核酸分子のインビトロ発現を伴う用途において使用できる。したがって、更に、本発明による少なくとも1つの核酸分子又は機能的等価物、又は少なくとも1つのベクターを含む、単離又は組換え細胞、又は非ヒト動物が提供される。

10

【0116】

本発明による核酸分子又はベクターは、AMLに特異的な本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を生成するのに特に有用である。これはたとえば、細胞内にかかる核酸分子又はベクターを導入することによりなされ、その結果、細胞の核酸翻訳機構が、コードされた抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を産生する。一実施形態において、本発明による重鎖及び/又は軽鎖をコードする核酸分子又はベクターは、いわゆる産生細胞、たとえばE.coli、CHO、NSO又は293(T)細胞において発現し、これら細胞のうちいくつかは、商業的抗体の産生に適合されている。注意すべきは、任意の組換え抗体産生系が好適であり、言及したこれら4つの産生細胞系は、今日までに利用可能な多くの系のごく少数の例にすぎない。本明細書に前述のとおり、かかる場合には、本明細書において提供される元のヒト配列が産生細胞にコドン最適化された核酸分子を使用することが好ましい。前記産生細胞の増殖は、本発明による結合化合物を産生可能である産生細胞株をもたらす。好ましくは、前記産生細胞株は、ヒトにおける使用のための抗体の産生に好適である。したがって、前記産生細胞株は、好ましくは、病原体、たとえば病原微生物を含まない。最も好ましくは、ヒト配列からなる抗体は、本発明による少なくとも1つの核酸分子又はベクターを使用して生成される。

20

【0117】

したがって、本発明による結合化合物を産生可能である単離又は組換え抗体産生細胞もまた提供される。かかる細胞は、典型的には、本発明による少なくとも1つの核酸分子又はベクターを含み、これは好ましくは、前記細胞にコドン最適化された核酸配列を含有する。抗体産生細胞は、抗体又はそれらの機能的部分若しくは機能的等価物を産生及び/又は分泌可能であり、且つ/又は、抗体又はそれらの機能的部分若しくは機能的等価物を産生及び/又は分泌可能である細胞へと成長可能である細胞として本明細書に定義される。本発明による抗体産生細胞は、好ましくは、商業的抗体の産生に適合された産生細胞である。上で説明したとおり、前記産生細胞株は、好ましくは、ヒトにおける使用のための抗体の産生に好適である。したがって、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を産生するための方法であって、細胞、好ましくは抗体産生細胞を、本発明による核酸分子又は機能的等価物又はベクターを提供する工程、及び前記細胞に前記核酸分子又は機能的等価物又はベクターを翻訳させ、それにより本発明による前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を産生する工程を含む方法も提供される。本発明による方法は、好ましくは、本発明による前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を回収、精製及び/又は単離する工程を更に含む。得られた本発明による結合化合物は、任意選択で追加の精製、単離又は処理工程後に、ヒト治療において好ましくは使用される。

30

40

【0118】

本発明の別の態様は、別の化合物とカップリングしている、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を提供する。一実施形態において、本発明による結合化合物は、別の治療的部分、たとえば化学療法薬又は他の毒性化合物若しくは放射性化合物とカップリングして、いわゆる「抗体-薬物コンジュゲート」を形成する。別の実施形態において、本発明による結合化合物とカップリングしている部分は、免疫調節分子、たとえばCD3特異的抗体である。かかるCD3特異的抗体は、T細胞と結合可能であり、本発明に

50

よる結合化合物とカップリングした場合、それはT細胞にAML細胞を標的とさせ、それにより、抗白血病性T細胞反応を増強する。これは、より一層強い抗AML効果を提供する。したがって、本発明の好ましい一実施形態は、本発明によるAML特異的結合化合物及び免疫調節分子、好ましくはCD3特異的結合化合物を含む、二重特異性又は多重特異性結合化合物を提供する。別の好ましい一実施形態は、抗AML化合物を提供し、前記化合物は、AML細胞に特異的な本発明による結合化合物、及び毒性部分を含む。いくつかの他の実施形態において、本発明による結合化合物は、標識とカップリングしている。これは、かかる標識化結合化合物を使用した、骨髄増殖細胞、たとえばAML細胞の検出を可能にする。他の実施形態は、別のAML結合化合物とカップリングしている、本発明による結合化合物を提供する。いくつかの実施形態において、かかる他のAML結合化合物もまた、本発明による結合化合物である。したがって、提供されるのは、互いとカップリングしている2つの本発明による結合化合物を含む化合物である。しかしながら、これは必要でない。なぜなら、本発明による結合化合物はまた、他のAML結合化合物、たとえばAML細胞と結合する現在知られている抗体ともカップリングできるからである。本発明による二重特異性化合物は、たとえば、とりわけ2つのカップリングしている結合化合物がAML細胞上の異なるエピトープに特異的であるときに、AML細胞の結合の増加を可能にする。したがって、かかる二重特異性化合物は、治療的又は診断的用途に非常に好適である。異なるAML細胞が同じ二重特異性結合化合物に結合されるアッセイにおいて、本発明による二重特異性化合物を使用することも可能である。

10

20

【0119】

一実施形態において、本発明による抗体の1つのFabフラグメント、及び本発明による別の抗体の1つのFabフラグメントを含む、合成又は組換え抗体、又はその機能的部分若しくは機能的等価物が提供される。得られた結合化合物はAML細胞に特異的であるが、各Fabアームは、典型的には、それ自体のエピトープと結合する。いくつかの実施形態において、Fabフラグメントにより認識されるエピトープは、互いに異なる。別の一実施形態において、エピトープは同じである。Fabアームは、異なる親和性を有するエピトープと結合してもよい。或いは、Fabアームは、本質的に同じ親和性を有するそれらのエピトープと結合し、これは、Fabアームの K_D が互いに30%以下、好ましくは20%以下又は10%以下で異なることを意味する。

30

【0120】

前記他の部分、たとえば、化学療法剤又はCD3特異的抗体は、好ましくは、リンカー、たとえば酸に不安定なヒドラゾンリンカーを介して、又はペプチドリナー、たとえばシトルリン-バリンを介して、又はチオエーテル結合を通じて、又はWO 2010/087994に詳細に記載されているソルターゼ触媒アミノ基転移(sortase catalyzed transamidation)により、本発明による結合化合物とカップリングしている。

【0121】

ソルターゼ触媒アミノ基転移は、抗体の重鎖、好ましくは重鎖のC末端部上、及び前記抗体とカップリングしている予定の部分上のソルターゼ認識部位(LPETGG)の操作を伴う。抗体及び部分は更に、典型的には、GGGGS配列及び精製目的のためのタグ、たとえばHISタグを含有する。続いて、ソルターゼ媒介アミド基転移が実施され、クリックケミストリー結合が続く。ソルターゼ触媒アミノ基転移において、「クリックケミストリー結合」は、典型的には、たとえばアルキン含有試薬と、たとえばアジド含有試薬との化学的カップリングを伴い、これは、抗体の重鎖上のソルターゼモチーフ及び抗体にカップリングする予定の部分(たとえばタンパク質、ペプチド又は抗体)上のソルターゼモチーフへのグリシンの付加を通じて、ソルターゼにより付加される。したがって、一実施形態において、本発明は、抗体の重鎖、好ましくは重鎖のC末端部上でソルターゼ認識部位(LPETGG)が操作される、本発明による抗体を提供し、抗体は、好ましくは、GGGGS配列及び精製タグ、たとえばHISタグを更に含有する。

40

【0122】

別の一実施形態において、本発明による結合化合物は、チオエーテル結合を介して別の

50

部分とカップリングしている。かかる場合には、1つ又は複数のシステインが、好ましくは、本発明による結合化合物内に組み込まれる。システインは、チオール基を含有し、したがって、本発明による結合化合物内への1つ若しくは複数のシステインの組込み、又は、本発明による結合化合物の1つ若しくは複数のシステインによる1つ若しくは複数のアミノ酸の置換は、前記結合化合物が別の部分とカップリングすることを可能にする。前記1つ又は複数のシステインは、好ましくは、本発明による結合化合物内に、それが前記結合化合物のフォールディングに有意に影響を与えず、且つ、抗原結合又はエフェクター機能を有意に改変しない位置で導入される。したがって、本発明は、システイン以外の少なくとも1つのアミノ酸がシステインにより置き換えられた、本発明による結合化合物もまた提供する。

10

【0123】

一実施形態において、本発明によるAML特異的結合化合物は、少なくとも1つの他の本発明によるAML特異的結合化合物とカップリングしている。かかる二重特異性又は多重特異性結合化合物は、より強い抗AML効果を提供する。

【0124】

本発明による結合化合物は、骨髄増殖性疾患、たとえばAML、又は、骨髄異形成症候群、慢性骨髄性白血病、骨髄線維症若しくは他の非悪性骨髄増殖性症候群から進行した急性白血病に対する使用に好適である。抗体のいくつかはまた、非骨髄性、リンパ球増殖性悪性腫瘍、たとえば多発性骨髄腫及びB非ホジキンリンパ腫(B-NHL)にも結合するので、それらは、これらの疾患に対する使用にも好適である。したがって、本発明による結合化合物は、医薬又は予防剤としての使用に特に好適である。好ましくは、ヒト個体が治療されるときに有害な副作用の可能性を減少させるために、ヒト配列からなる本発明による結合化合物が使用される。かかるヒト配列は、ヒトから単離できるか、又は、ヒト抗体の配列に基づいて、任意選択で元のヒト核酸配列と同じアミノ酸をコードするコドン最適化核酸配列を使用して、合成若しくは組換えにより産生できる。したがって、提供されるのは、医薬及び/又は予防剤としての使用のための、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物である。前記抗体は、好ましくは、AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015及びAT14-016からなる群から選択される抗体を含む。また提供されるのは、医薬及び/又は予防剤としての使用のための、本発明による核酸分子若しくはその機能的等価物、又は、かかる核酸若しくは機能的等価物を含む本発明によるベクター、又は、本発明による細胞である。本発明による1つ又は複数の核酸分子又は機能的等価物(を含むベクター)が投与されるとき、核酸分子又は機能的等価物は、宿主の機構によりインサイチューで本発明による結合化合物へと翻訳される。産生した本発明による結合化合物は、骨髄増殖性疾患、たとえばAML並びにリンパ球増殖性疾患、たとえばリンパ腫、B-NHL及び多発性骨髄腫を予防し、且つ/又はそれに対抗することが可能である。したがって、更に、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患を少なくとも部分的に治療又は予防するための方法における使用のための、本発明による抗体若しくは機能的部分若しくは機能的等価物、又は本発明による核酸分子若しくは機能的等価物、又は本発明によるベクター若しくは細胞が提供される。本明細書に前述のとおり、かかる疾患は、本発明による細胞毒性結合化合物を使用することにより治療又は予防できる。実施例に示すとおり、少なくとも抗体AT13-033、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT12-023、AT12-025及びAT13-031が、細胞毒性活性を有する。したがって、更に、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患を少なくとも部分的に治療又は予防するための方法における使用のための、抗体AT13-033、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT12-023、AT12-025及びAT13-031からなる群から選択される抗体、並びにそれらの機能的部分及び機能的等価物、又はそれらをコードする核酸分子又は機能的等価物又は1つ若しくは複数のベクターが提供される。好ましくは、前記疾患はAMLである。

20

30

40

【0125】

いくつかの実施形態において、本発明による結合化合物は、いわゆる「抗体-薬物コン

50

「ジューゲート」を形成するように、治療的部分、たとえば化学療法薬、若しくは他の毒性化合物、若しくは放射性化合物、若しくは免疫調節分子、たとえばCD3特異的抗体、又は「キメラ抗原受容体(CAR)T細胞」とそれぞれカップリングし、これは骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に対抗可能である。

【0126】

いくつかの実施形態において、前記リンパ球増殖性疾患は、抗体AT12-019、AT12-023、AT12-025、AT13-024及びAT13-031、並びにそれらの機能的部分及び機能的等価物からなる群から選択される1つ又は複数の抗体で治療される。したがって、更に、リンパ球増殖性疾患を少なくとも部分的に治療又は予防するための方法における使用のための、抗体AT12-019、AT12-023、AT12-025、AT13-024及びAT13-031からなる群から選択される抗体、並びにそれらの機能的部分及び機能的等価物、又はそれらをコードする核酸分子又は機能的等価物又は1つ若しくは複数のベクターが提供される。好ましくは、前記リンパ球増殖性疾患は、リンパ腫、B-NHL又は多発性骨髄腫である。

10

【0127】

本発明による結合化合物、又は本発明による核酸分子若しくはその機能的等価物、又は本発明による少なくとも1つのベクター若しくは細胞は、好ましくは、AMLを少なくとも部分的に治療及び/又は予防するために使用される。本明細書において使用される「AMLを少なくとも部分的に治療及び/又は予防する」という用語は、AML腫瘍増殖に対抗すること及び/又は患者におけるAML細胞の存在により生じる症状を緩和することを含む。したがって、更に、AMLを少なくとも部分的に治療又は予防するための医薬及び/若しくは予防剤の調製のための、本発明による抗体若しくは機能的部分若しくは機能的等価物、又は本発明による核酸分子若しくは機能的等価物、又は本発明による少なくとも1つのベクター若しくは細胞の使用が提供される。したがって、更に、AMLを少なくとも部分的に治療又は予防するための方法における使用のための、本発明による抗体若しくは機能的部分若しくは機能的等価物、又は本発明による核酸分子若しくは機能的等価物、又は本発明による少なくとも1つのベクター若しくは細胞が提供される。

20

【0128】

任意の記載の方法における使用のために好ましい抗体は、抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015及びAT14-016である。

30

【0129】

本発明は、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を含む組成物を更に提供する。本発明による核酸分子又は機能的等価物を含む組成物も、本発明によるベクター又は細胞を含む組成物とともに提供される。いくつかの実施形態において、本発明による組成物は、少なくとも2つの本発明による抗体、機能的部分又は等価物を含む。

【0130】

本発明による組成物は、好ましくは、医薬組成物を含む。前記医薬組成物はまた、好ましくは、薬学的に許容される担体、希釈剤及び/又は賦形剤を含む。好適な担体の非限定的な例には、たとえば、キーホールリンペットヘモシアニン(KLH)、血清アルブミン(たとえばBSA又はRSA)及びオポアルブミンが含まれる。好ましい一実施形態において、前記好適な担体は、溶液、たとえば生理食塩水を含む。本発明による医薬組成物は、好ましくは、ヒト使用に好適である。

40

【0131】

本発明は、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患を少なくとも部分的に治療及び/又は予防するための方法であって、それを必要とする個体に、治療有効量の本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物、及び/又は本発明による核酸分子又はその機能的等価物、及び/又は本発明によるベクター又は細胞、及び/又は本発明による組成物を投与する工程を含む方法を更に提供する。本明細書において使用される「個体」又は「対象」は、ヒト又は動物であり、好ましくはヒトAML患者である。前記組成物は、好ましくは、本発明による医薬組成物である。

50

【0132】

本発明による結合化合物及び/又は組成物は、合併症のリスクが増加した免疫低下個体、たとえば化学療法を受けた個体、特に乳幼児及び高齢者に投与するのに特に好適である。本発明による結合化合物、又は核酸分子若しくはその機能的等価物、又はベクター、及び/又は医薬組成物は、好ましくは、1つ又は複数の注射を介して投与される。本発明による結合化合物の典型的な投与用量は、体重1kg当たり0.1から10mgの間である。

【0133】

本発明による結合化合物はまた、診断的使用に特に好適である。たとえば、個体、好ましくはヒトが、骨髄増殖性疾患、たとえばAML、又はリンパ球増殖性疾患、たとえばB-NHL若しくは多発性骨髄腫の罹患を疑われる場合、前記個体からの試料、たとえば血液又は組織試料を、本発明による結合化合物を使用して、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞の存在について試験できる。好ましくは、前記試料は、骨髄増殖細胞に特異的に結合する本発明による結合化合物と混合される。本発明による結合化合物に結合された骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞を、試料から単離し、且つ/又は、当技術分野において知られている任意の方法、たとえばこれに限定されないが、磁気ビーズ、ストレプトアビジン被覆ビーズを使用した単離、又はカラム上に固定化された二次抗体の使用を通じた単離を使用して検出することができる。或いは、又は加えて、本発明による結合化合物は、前記抗体を検出可能なように標識化、たとえばこれに限定されないが、蛍光標識化、酵素標識化又は放射性標識化される。或いは、本発明による結合化合物は、前記結合化合物に対して向けられた標識二次抗体を使用して検出される。前記抗体の結合が検出される場合、それは骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞の存在の指標である。したがって、本発明は、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞の検出における使用のための、本発明による抗体若しくは機能的部分若しくは機能的等価物、又は本発明による核酸分子若しくは機能的等価物、又は本発明によるベクター若しくは細胞を提供する。更に、骨髄増殖性疾患又はリンパ球増殖性疾患の診断における使用のための、本発明による抗体若しくは機能的部分若しくは機能的等価物、又は本発明による核酸分子若しくは機能的等価物、又は本発明によるベクター若しくは細胞が提供される。前記骨髄増殖性疾患は、好ましくはAMLである。いくつかの実施形態において、前記リンパ球増殖性疾患は、リンパ腫、B-NHL又は多発性骨髄腫である。リンパ球増殖細胞は、好ましくは、AT12-019、AT12-023、AT12-025、AT13-024及びAT13-031、並びにそれらの機能的部分及び機能的等価物からなる群から選択される1つ又は複数の抗体で検出される。

【0134】

試料が骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞を含むかどうかを決定するための、本発明による抗体若しくは機能的部分若しくは機能的等価物の使用、又は本発明による核酸分子若しくは機能的等価物の使用、又は本発明によるベクター若しくは細胞の使用、並びに、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を使用して、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞を検出するための方法も提供される。本発明は、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞が試料中に存在するかどうかを決定するための方法であって、

- 前記試料を本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物と接触させる工程、及び
- 存在する場合は、前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞と結合させる工程、及び
- 骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞が前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物に結合しているかどうかを決定し、それにより、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞が前記試料中に存在するかどうかを決定する工程を含む方法を更に提供する。

【0135】

好ましい一実施形態において、前記骨髄増殖細胞は、AML細胞である。別の好ましい一実施形態において、前記リンパ球増殖細胞は、リンパ腫、B-NHL又は多発性骨髄腫細胞である。リンパ球増殖細胞は、好ましくは、AT12-019、AT12-023、AT12-025、AT13-024及び

AT13-031、並びにそれらの機能的部分及び機能的等価物からなる群から選択される1つ又は複数の抗体で検出される。

【0136】

更なる一実施形態において、個体が骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患しているかどうか決定される。したがって、更に、個体が骨髄増殖性疾患又はリンパ球増殖性疾患に罹患しているかどうかを決定するための方法であって、

- 前記個体からの試料を、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物と接触させる工程、及び
 - 存在する場合は、前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞と結合させる工程、及び
 - 骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞が前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物に結合しているかどうかを決定し、それにより、前記個体が骨髄増殖性疾患又はリンパ球増殖性疾患に罹患しているかどうかを決定する工程
- を含む方法が提供される。好ましくは、前記個体はヒトである。いくつかの実施形態において、前記骨髄増殖性疾患はAMLである。他の実施形態において、前記リンパ球増殖性疾患は、リンパ腫、B-NHL又は多発性骨髄腫である。

【0137】

本明細書に前述のとおり、本発明は、snRNP200が通常は核内にのみ位置する一方で、snRNP200がAML細胞の表面上に存在するという驚くべき見通しを提供する。したがって、snRNP200は、抗AML療法のための重要な標的である。更に、snRNP200に特異的な抗体AT12-023及びAT13-031はまた、B-NHL細胞及び多発性骨髄腫細胞にも結合する。これは、snRNP200の表面発現が、B-NHL細胞及び多発性骨髄腫細胞上でも生じることを示す。この見通しが提供されたことで、多くの用途が可能となった。たとえば、snRNP200特異的結合化合物が、今や、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患を治療又は予防するために使用できる。したがって、更に、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患、たとえばAML、B-NHL又は多発性骨髄腫の治療又は予防のための医薬の調製のための、snRNP200特異的結合化合物の使用が提供される。骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患を少なくとも部分的に治療又は予防するための方法における使用のためのsnRNP200特異的結合化合物、並びに、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患を少なくとも部分的に治療及び/又は予防するための方法であって、それを必要とする個体に治療有効量のsnRNP200特異的結合化合物を投与する工程を含む方法も提供される。

【0138】

新規検出方法もまた利用可能となった。snRNP200は、通常は核内にのみ存在するが、骨髄増殖及びリンパ球増殖細胞の表面にもまた存在するようであるので、これらの細胞を、今や、snRNP200がそれらの表面に存在するかどうかを決定することにより検出し、健常細胞から区別できる。したがって、更に、骨髄細胞又はリンパ球細胞が骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞かどうかを決定するための方法であって、snRNP200が前記細胞の表面上に存在するかどうかを決定する工程を含み、前記細胞の表面上のsnRNP200の存在が、前記細胞が骨髄増殖性又はリンパ球増殖性であることを示す、方法が提供される。更に、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞を同定するための方法であって、前記細胞の表面上のsnRNP200の存在を検出する工程を含む方法が提供される。本明細書において使用される「細胞の表面に存在」又は「細胞の表面上に存在」という表現は、snRNP200の少なくとも一部が細胞表面上、若しくは細胞表面内にあるか、又はそれと結合していることを意味する。

【0139】

いくつかの実施形態において、個体の細胞含有試料が分類される。典型的にはリンパ球細胞及び/又は骨髄細胞を含有するかかる試料は、いくつかの実施形態において、これらの細胞の表面上のsnRNP200の存在について試験される。snRNP200が細胞の表面上に存在するようである場合、試料は、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞を含有するものとして分類される。したがって、更に、個体の骨髄細胞含有試料又はリンパ球細胞含有試料を分類するための方法であって、snRNP200が前記試料の細胞の表面上に存在するかどうかを決定

する工程を含む方法が提供される。存在する場合は、それは、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞が前記試料中に存在することを示す。

【0140】

いくつかの実施形態において、個体は、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患しているか、又は罹患していると疑われる。しかしながら、これは必要ではない。なぜなら、かかる分類方法はまた、たとえば健康診断のためのスクリーニング試験全体の一部でありうるからである。

【0141】

前記試料は、骨髄及び/又はリンパ球細胞、たとえば骨髄試料、組織試料又はリンパ液試料を含有する任意の試料でありうる。好ましくは、前記試料は、末梢血単核細胞を含む。なぜなら、血液試料は個体にほとんど不快感を与えることなく容易に得られるからである。

10

【0142】

本発明は、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患する患者の少なくとも部分母集団が、snRNP200に特異的な抗体を産生するという見通しを提供する。したがって、個体からの試料中のかかる抗体の存在は、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患の指標である。したがって、更に、個体が骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患しているかどうかを決定するための方法であって、前記個体からの試料がsnRNP200に特異的な抗体を含むかどうかを決定する工程を含む方法が提供される。いくつかの実施形態において、かかる方法は、

20

- 前記個体からの試料を、snRNP200又はそのエピトープと接触させる工程、
- 存在する場合は、前記snRNP200又はエピトープを前記試料からのsnRNP200特異的抗体と結合させる工程、及び

- 前記snRNP200又はエピトープがsnRNP200特異的抗体に結合しているかどうかを決定する工程

を含み、

前記snRNP200又はエピトープの前記snRNP200特異的抗体に対する結合は、前記個体が骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患していることを示す。

【0143】

本明細書において提供されるスクリーニングアッセイは、たとえば酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、ラジオイムノアッセイ(RIA)、ウエスタンブロットアッセイ及び免疫組織化学的染色アッセイ等の方法を使用して実施できる。これらのアッセイは、当技術分野においてよく知られており、したがって、これ以上の説明は必要ではない。ELISA、RIA、ウエスタンブロットアッセイ及び免疫組織化学的染色アッセイの変形形態又は適応形態もまた、当技術分野において知られている。

30

【0144】

本発明の別の態様は、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患している患者が、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患している患者の平均集団と比較して、本発明による抗体、機能的部分又は機能的等価物での治療による好ましい結果を得る可能性を向上させるかどうかを決定するための方法であって、snRNP200が前記患者の骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞の表面上に存在するかどうかを決定する工程を含む方法を提供する。存在する場合は、snRNP200特異的抗体、たとえばAT12-023、AT13-031及びAT13-037が、かかる骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に対抗するのに特に好適である。したがって、個体の骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞がその表面上にsnRNP200を発現することが知られている場合には、治療が成功する可能性が高まる。かかる本発明による方法は、好ましくは、

40

- 前記個体からの骨髄増殖細胞含有試料又はリンパ球増殖細胞含有試料を、snRNP200に特異的な抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物と接触させる工程、

- 前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を、前記試料の骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞と結合させる工程、及び

- 前記snRNP200特異的抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物が、前記試料の骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞に結合しているかどうかを決定する工程

50

を含み、

前記snRNP200特異的抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物の、前記試料の骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞に対する結合は、前記患者が、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に罹患している患者の平均集団と比較して、本発明による抗体、機能的部分又は機能的等価物での治療による好ましい結果を得る可能性を向上させることを示す。前記治療は、好ましくは、抗体AT12-023、AT13-031又はAT13-037、又はそれらの機能的部分若しくは機能的等価物の使用を含む。なぜなら、少なくともこれらの抗体は、snRNP200と結合可能だからである。したがって、更に、前記抗体がAT12-023、AT13-031、AT13-037、又はその機能的部分若しくは機能的等価物である、本発明による抗体、又は本発明による使用のための抗体、又は本発明による使用若しくは方法が提供される。

10

【0145】

抗体AT12-023、AT13-031及び/又はAT13-037の使用が考慮される場合、好ましくは、ある患者が表面にsnRNP200を発現する悪性細胞を有するかどうかは前もって決定される。したがって、いくつかの実施形態は、骨髄増殖性疾患又はリンパ球増殖性疾患に罹患している患者が、抗体AT12-023、AT13-031又はAT13-037、又はその機能的部分若しくは機能的等価物での治療のための候補であるかどうかを決定するための方法であって、snRNP200が前記患者の骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞の表面上に存在するかどうかを決定する工程を含む方法を提供する。

【0146】

本発明による方法において、前記骨髄増殖性疾患は、好ましくは、AMLであり、前記骨髄増殖細胞は、好ましくは、AML細胞である。更に、前記リンパ球増殖性疾患は、好ましくは、リンパ腫、B非ホジキンリンパ腫又は多発性骨髄腫であり、前記リンパ球増殖細胞は、好ましくは、リンパ腫、B非ホジキンリンパ腫又は多発性骨髄腫細胞である。

20

【0147】

本発明による結合化合物を使用して骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞を検出するための上述の手順は、たとえば、医学的治療を受けた骨髄増殖性疾患又はリンパ球増殖性疾患に罹患している患者、たとえばAMLに対して治療されたAML患者、たとえば免疫療法、たとえば幹細胞移植又はドナーリンパ球注入を受けたAML患者が、GvL反応を有するかどうかを決定するのに特に好適である。今日まで、治療された患者における強力なGvL反応の存在について試験する診断ツールは存在しない。かかる診断ツールが、たとえば、以下の理由で切望されている。すなわち、1)それは、再発が生じる前の時点での、再発のリスクが高い同種SCTレシピエントの早期同定を可能にし、それにより、より早期の介入、たとえば免疫抑制薬又はドナーリンパ球注入の削減を可能にすると考えられる、2)それは、抗白血病性抗体が生じるまで、かかるドナーリンパ球注入の用量を漸増することを可能にすると考えられる、3)それは、強力なGvL反応の存在が実証できるとき、レシピエントは多くのSCT関連合併症のうちの1つに苦しむときに、同種SCTレシピエントに望みを与えると考えられる。現在、患者は、再発が生じるかどうかを経過観察しなければならず、疾患の再発を予測することができない。したがって、患者がGvL反応を有するかどうかを決定するための試験を利用可能なことは、SCT患者の臨床ケアを大きく改善し、予後及び生活の質に影響を与えると考えられる。したがって、更に、試料がGvL反応を示すものであるかどうか

30

40

を決定するための、本発明による結合化合物の使用が提供される。更に、AML患者がGvL反応を有するかどうかを決定するための、本発明による結合化合物の使用、及び、骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に対する治療、たとえば抗AML療法、抗B-NHL療法又は抗多発性骨髄腫療法が有効かどうかを決定するための、本発明による結合化合物の使用である。これは、たとえば、患者(たとえば、SCT又はDLI又は任意の他の形態の免疫療法を受けた患者)からの試料(たとえば血液又は組織試料)が、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞、たとえばAML細胞、B-NHL細胞又は多発性骨髄腫細胞を含有するかどうかを決定することによりなされる。骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞の非存在は、前記患者がGvL反応を有することを示す。したがって、更に、骨髄増殖性疾患又はリンパ球増殖性疾患に罹患している、前記疾

50

患に対する免疫療法を受けた患者が、GvL反応を有するかどうかを決定するための方法であって、前記患者からの試料を、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物と接触させる工程、及び存在する場合は、前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物を骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞と結合させる工程、及び骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞が前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物に結合しているかどうかを決定し、それにより、前記個体がGvL反応を有するかどうかを決定する工程を含み、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞の非存在は、GvL反応の指標であり、骨髄増殖細胞又はリンパ球増殖細胞の存在は、GvL反応の欠如又は不十分(無効)なGvL反応の指標である、方法が提供される。いくつかの実施形態において、前記リンパ球増殖性疾患は、リンパ腫、B-NHL、又は多発性骨髄腫である。いくつかの実施形態において、前記骨髄増殖性疾患はAMLである。したがって、更に、抗AML免疫療法を受けたAML患者がGvL反応を有するかどうかを決定するための方法であって、前記AML患者からの試料を、本発明による抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物と接触させる工程、及び存在する場合は、前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物をAML細胞と結合させる工程、及びAML細胞が前記抗体又は機能的部分若しくは機能的等価物に結合しているかどうかを決定し、それにより、前記個体がGvL反応を有するかどうかを決定する工程を含み、AML細胞の非存在は、GvL反応の指標であり、AML反応の存在は、GvL反応の欠如又は不十分(無効)なGvL反応の指標である、方法が提供される。好ましくは、前記個体はヒトである。或いは、検出可能な部分、たとえば銅化合物で標識化された本発明による結合化合物が、抗AML免疫療法、たとえばSCT又はDLIを受けたAML患者に投与され、続いて、前記標識化抗体が前記患者のAML細胞に結合しているかがインビボで、たとえばPETスキャンを使用して決定される。結合された結合化合物の非存在は、GvL反応の指標であり、結合された結合化合物の存在は、GvL反応の欠如又は不十分(無効)なGvL反応の指標である。

10

20

30

40

50

【0148】

抗AML免疫療法前後にVH4-34ファミリーに属する抗体の量を決定することも可能である。潜在的な殺細胞特性で知られているVH配列のファミリーであるVH4-34ファミリー(Bhatら、1997)に属する抗体の量が、免疫療法後に有意に上昇する場合、GvL反応が存在することを示す。したがって、更に、抗AML免疫療法を受けたAML患者がGvL反応を有するかどうかを決定するための方法であって、抗AML免疫療法前後のVH4-34ファミリーに属する抗体の量を決定する工程、及び、VH4-34ファミリーに属する抗体の量が免疫療法後に有意に上昇するかどうかを決定する工程を含む方法が提供される。有意に上昇した場合、前記患者においてGvL反応が存在すると結論される。有意に上昇しなかった場合、GvL反応が欠如しているか、又は十分でない結論される。

【0149】

本発明を、以下の実施例において更に説明する。これらの実施例は、本発明の範囲を限定せず、本発明を明確にすることにのみ寄与する。

【図面の簡単な説明】

【0150】

【図1】抗体AT12-023、AT12-025、AT13-024、AT12-019、AT13-022、AT13-023、AT13-031、AT12-020、AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT14-013、AT14-014、AT14-015、及びAT14-016の配列を示す図である。

【図2】導入化学療法の第1のサイクル後に完全寛解が得られ、地固め療法として患者のHLA適合兄弟(sib)からの骨髄破壊的(MA)同種幹細胞移植(SCT)を受けた、36歳のAML患者を示す図である。しかしながら、AML再発が移植5カ月後に生じた。再導入化学療法は再び完全寛解並びに肝臓の重症のグレードIV移植片対宿主病(GvHD)及び皮膚のグレードI GvHDをもたらした。彼女が3年超の間完全寛解のままだったという観察は、今や、患者が強力な移植片対白血病反応を発していたことを示唆する。Bリンパ球を、再導入化学療法の1サイクルの約1.5年後に得られた瀉血産物から単離した。

【図3】a)AML細胞株THP-1と結合する小培養物(minicultures)(1ウェル当たり細胞20又は40個)のうちの1つの上清を示す図である。b)この小培養物からのB細胞を細胞1個/ウェル

溶液へとプレートし、上清をTHP-1との結合について再びスクリーニングしたことを示す図である。THP-1はHLA-DRを発現し、このスクリーニング実験において正の対照として使用した。負の対照として、インフルエンザ特異的モノクローナル抗体を使用した。

【図4A】同定されたAML特異的抗体の2つの例を示す図である。AT12-023(a)は、AML細胞株THP-1及びMonoMac6と結合するが、健常末梢血単核細胞(PBMC)、内皮細胞(ヒト臍静脈内皮細胞:HUVEC)、T細胞株Jurkat、原発線維芽細胞、肝細胞(肝臓肝細胞癌細胞株:HepG2)又は結腸腺癌細胞株HT-29と結合しない。MRSA-mAb F1は、対照抗体として使用された、インハウスで生成されたヒトIgG3 mAbである。

【図4B】同定されたAML特異的抗体の2つの例を示す図である。AT13-031(b)は、AML細胞株THP-1及びMonoMac6と結合するが、健常末梢血単核細胞(PBMC)、内皮細胞(ヒト臍静脈内皮細胞:HUVEC)、T細胞株Jurkat、原発線維芽細胞、肝細胞(肝臓肝細胞癌細胞株:HepG2)又は結腸腺癌細胞株HT-29と結合しない。MRSA-mAb F1は、対照抗体として使用された、インハウスで生成されたヒトIgG3 mAbである。

【図5】ドナー59に由来する抗体が、AML細胞株THP-1及びMonoMac6、並びに新たに診断されたAML患者から単離された原発白血病芽細胞と結合する(FAB分類M0~M4の範囲)ことを示す図である。より詳細な概要についてTable 3(表4)も参照のこと。

【図6】いくつかの抗体もまた、他の血液悪性腫瘍と結合することを示す図である。ここでは、新たにリンパ腫患者から単離されたB非ホジキンリンパ腫(B-NHL)細胞に対するAT12-023(B細胞クローンの上清から単離された抗体)及びAT13-031(組換え抗体)の結合を示す。抗体は、非悪性B細胞と結合しなかった(この実験では示されず)。RSV抗体パリビズマブを負の対照として、B細胞リンパ腫に特異的に結合するCD20抗体リツキシマブを正の対照として使用した。他の血液悪性腫瘍と結合する抗体の更なる詳細については、Table 4(表5)を参照のこと。

【図7】THP-1細胞が培地のみで、又は、第0日に5µg/mlの濃度で添加された抗体とともに培養されたことを示す図である。AT12-023の存在下で、THP-1細胞は、有意な増殖阻害を示した。示されるのは、培養物中の総細胞数である。

【図8】第0日の培養物に添加されたとき、抗体AT12-023及びAT12-025が、THP-1細胞の生存率を強力に低下させたことを示す図である。生存率は、細胞死マーカーアネキシンV及び7AADについてダブルネガティブの細胞の割合として示される。

【図9】AT12-023により特異的に殺されたTHP-1細胞の量を定量するため、本発明者らがカルセインAM放出アッセイを使用したことを示す図である。簡潔に述べると、THP-1細胞をAT12-023とインキュベートする前に、THP-1細胞を、細胞が瀕死になり細胞膜が不安定になるときに放出されるカルセインAMとともにロードした。4時間のインキュベーション後に、溶解を読み取り、無関係な抗体で測定されたカルセインロード細胞のバックグラウンド死と関連させた。

【図10A】a)THP-1細胞を殺すことに加えて、AT12-025はまた、AT13-024と同様に、原発腫瘍細胞死を誘導することを示す図である。AML-M5に罹患した患者から診断時に単離された白血病芽細胞を、AT12-025又はAT13-024(5ug/ml)と24時間、37°Cでインキュベートし、その後、細胞を7AAD及びアネキシンVで染色し、死細胞(7AAD及びアネキシンVダブルポジティブ)の量を決定した。

【図10B】b)加えて、乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)を、瀕死の細胞を決定するマーカーとして使用できることを示す図である。AML-M0の患者から単離された白血病芽細胞を、AT13-024又はRSV抗体パリビズマブと18時間インキュベートし、その後、LDH放出を測定した。これら2つの実験は、AT13-024は白血病芽細胞死を誘導したが、パリビズマブは誘導せず、この特性が1つのタイプのAMLに限られず、異なるFAB分類(M0からM5)を含むことを示す。

【図11】ドナー58がAML-M5と診断され、これについて彼女が3サイクルの化学療法を受けたことを示す図である。彼女は、約1年間完全寛解であり続けたが、その後AMLが再発した。彼女は、1サイクルの再導入化学療法を受け、続いて、適合非血縁ドナー(MUD)から同種減弱強度幹細胞移植(RIST)を受けた。彼女は、肝臓のGvHDグレードIを発症し、現在

10

20

30

40

50

ほぼ4年間完全寛解であり続け、彼女が強力な移植片対白血病反応を発したことを示唆する。B細胞を、SCT約3年後にこの患者から得られた瀉血産物から単離した。

【図12】ドナー58に由来する抗体が、AML細胞株THP-1及びMonoMac6と結合することを示す図である。市販のRSV特異的抗体であるパリピズマブを、負の対照として使用した。

【図13】強力なGvL反応を有する第3の患者の病歴を示す図である。ドナー101は、49歳で中程度のリスクのAML(細胞遺伝学的又は分子的異常なし、FAB分類AML-M5)と診断された。彼は、2つのコースの化学療法及び1つのコースの地固め化学療法を受け、続いて、利用可能なHLA適合同胞幹細胞ドナーがいなかったからため、自己HSCTを受けた。最初の診断の14カ月後に、彼の疾患は再発した。彼は、高用量シタラピン1サイクル後に完全寛解を得て、その後、彼は適合非血縁ドナーでの減弱強度同種HSCT(RIST-MUD)を受けた。6週後、彼は皮膚、肝臓及び腸の急性GvHD(ステージ1、グレードII)を発症し、これはコルチコステロイド療法によく反応した。B細胞を、同種HSCT38カ月後にこの患者から得られた瀉血産物から単離した。彼は、今日まで長期寛解を維持した。

【図14】ドナー101に由来する抗体が、AML細胞株THP-1及びMoIm13と結合するが、線維芽細胞、単球、B細胞及びT細胞と結合しないことを示す図である。インハウスで製造したCD30に対するヒト抗体を、負の対照として使用した。AT14-013は、AML細胞株に対するその高い結合と比較して、線維芽細胞に対しては低い反応性を示した。ドナー101に由来する抗体の結合能の概要については、tables 7及び8(表8及び表9)を参照のこと。

【図15】AML特異的抗体AT14-013(ドナー101)が、新たに診断されたAML患者から単離された原発白血病芽細胞と結合する(FAB分類M0~M5)ことを示す図である。負の対照:インハウスで生成されたCD30抗体。ドナー101に由来する抗体の原発AML芽細胞結合能の概要については、table 7(表8)を参照のこと。

【図16】抗体AT13-037が、原発芽細胞死を誘導することを示す図である。AML患者(BL-038、AML-M5)から診断時に単離された白血病芽細胞を、親B細胞クローンの上清から精製された抗体(sAT13-037)又は組換え抗体(rAT13-037)と5ug/mlの濃度で4時間、37°Cでインキュベートし、その後、細胞を死細胞マーカーDapiで染色した。細胞死を定量するために、標準量のビーズを添加した。組換えインフルエンザ特異的rAT10-002を、負の対照として使用した。

【図17A】細胞毒性抗体が非アポトーシス死経路を誘導したことを示す図である。a) THP-1細胞の位相差画像。THP-1細胞を、非細胞毒性AML特異的抗体AT13-023(左パネル)又は細胞毒性抗体AML特異的AT13-037(右パネル)とインキュベートした。微速度撮影画像を使用して相互作用を視覚化し、標的細胞の膨張を実証し、その後、細胞は死滅した。4時間のインキュベーション後に静止画を撮影した。青色の矢印は死滅した大きな細胞を示す。

【図17B】細胞毒性抗体が非アポトーシス死経路を誘導したことを示す図である。b) DiOC6及びPIでの二重染色は、細胞毒性抗体がアポトーシスを誘導しないことを示した。THP-1細胞を、細胞毒性AML特異的抗体AT12-023と、ジクロフェナク(THP-1細胞におけるアポトーシスを誘導する)とともに、又は培地のみでインキュベートした。ジクロフェナクを伴うTHP-1細胞のインキュベーション後に見られるとおり、アポトーシスする細胞は、最初にミトコンドリア膜電位を失い(DiOC6染色の消失)、その後、透過性になる(PIポジティブ)。AT12-023とともにインキュベートされたTHP-1細胞は、膜透過性の増加を示した(PI+)が、ミトコンドリア膜電位を維持し(DiOC6+)、これは非アポトーシス細胞死経路の誘導を示す。

【図17C】細胞毒性抗体が非アポトーシス死経路を誘導したことを示す図である。c) 誘導された死経路の非アポトーシス性を確認するため、本発明者らは、細胞死誘導におけるカスパーゼの関与を試験した。AML特異的抗体によるTHP-1細胞の細胞死を、汎カスパーゼ阻害剤Q-VD-OPh(左パネル)又はZ-VAD-fmk(右パネル)では阻害できなかった。

【図18】AML特異的抗体により誘導された細胞死が4°Cでも生じ、受動的プロセスの関与を示唆することを示す図である。これは、37°Cのみで細胞毒性である(図示せず)AT13-031以外のすべての抗体でも同様であった。負の対照には、AML特異的非細胞毒性抗体AT13-03

10

20

30

40

50

4、AT12-019、AT13-022、AT13-023及びAT13-024が含まれた。

【図19A】(a)サイトカラシンDを伴う標的細胞のインキュベーションが、抗体の結合を阻害しなかったことを示す図である。THP-1細胞を、サイトカラシンDとインキュベートし、その後、AML特異的抗体AT12-023、AT13-031及びAT13-037を添加した。

【図19B】(b)膜安定化剤サイトカラシンDを伴う標的細胞のプレインキュベーションが、THP-1細胞を、AML特異的細胞毒性抗体による細胞死に対して保護しなかったことを示す図である。

【図20A】AT12-023、AT13-031及びAT13-037の標的検証を示す図である。a)THP-1膜溶解物を、AT12-023及びAT13-031と、インフルエンザ特異的抗体AT10-002又はマーカーのみを伴ってインキュベートした。マウス抗ヒトsnRNP200(及び負の対照としてHMGB1)を含むウエスタンブロット解析は、AT12-023及びAT13-031のsnRNP200に対する特異的結合を明らかにした。

【図20B】AT12-023、AT13-031及びAT13-037の標的検証を示す図である。b)AML特異的抗体AT12-019、AT12-023、AT13-031及びAT13-037又は市販のsnRNP200特異的抗体snRNP200 453及びsnRNP200 454を、ELISAプレート上にコーティングし、捕捉のためのsnRNP200-flagコンストラクト及び検出のための抗flag HRPとインキュベートした。AT12-023、AT13-031及びAT13-037は、snRNP200と特異的に結合した一方で、負の対照及びたとえばAT12-019は特異的に結合しなかった。

【図21】THP-1細胞が膜上にsnRNP200を発現することを示す図である。THP-1細胞及びJurkat細胞を、市販のヒト抗マウスsnRNP200抗体で染色した。Jurkat細胞及びTHP-1細胞の細胞内染色は、予想されたとおり、核染色を示した(左パネル)。しかしながら、snRNP200の膜染色は、THP-1細胞に限られた(右パネル)。

【発明を実施するための形態】

【実施例】

【0151】

(実施例1)

材料及び方法

患者及び健常ヒト材料

研究プロトコルは、大学医療センター医療倫理委員会(the Medical Ethical Committee of the Academic Medical Centre)により認可された。すべての参加者が、インフォームドコンセントに署名した。AMLについて同種幹細胞移植を受け、病歴に基づいて強力な移植片対白血病反応を生成したと前提できる、2人の患者(ドナー59について骨髄破壊的同胞移植及びドナー58について適合非血縁ドナー減弱強度幹細胞移植)を選択した。これら2人のSCTレシピエントは、注入後の高フェリチン血症について受けた多くの瀉血のうちの1回の産物である、500mlの末梢血をそれぞれ供与した。加えて、新たにAMLと診断されて本発明者らのクリニックに入院した患者が、抗体結合アッセイに使用されるAML芽細胞を含有する2~5mlの骨髄又は血液を供与することに同意した。健常骨髄は、本発明者らの機関で心臓手術のために開胸術を受ける患者により供与された。B非ホジキンリンパ腫細胞を、新たにB非ホジキンリンパ腫と診断された患者の生検からの残余材料として得た。これらのB非ホジキンリンパ腫細胞は、下に記載する本発明者らによる抗体の結合について試験するために使用した。眼科学研究室(Department of Ophthalmology)(AMC、Amsterdam、オランダ)で新たに単離されたヒト臍静脈内皮細胞(HUVEC)の残余材料を、下に記載する結合アッセイのために直接使用した。純度のため、細胞を抗ヒトCD14+で共染色し、選択した。

【0152】

単核細胞を、健常個体及びAML患者の末梢血及び骨髄からフィコール分離により単離した。追加のマーカー、たとえばCD45、CD33、CD34、CD14、CD3及びCD19を、特定の細胞集団(それぞれAML芽細胞、単球、T及びBリンパ球、血液バンクドナーから入手)を単離するために使用した。

【0153】

10

20

30

40

50

B細胞の単離

フィコール分離及びCD22 MACSマイクロビーズ(Miltenyi Biotech社)により、末梢血からB細胞を得た。続いて、CD27-又はCD27+CD19+CD3-IgM-IgA-(それぞれ、ナイーブ又は記憶IgG細胞)及びCD19+CD3-CD27+IgG-IgA-(記憶IgM細胞)について、FACSAria(Becton Dickinson社)上でこれらの細胞をソートした。

【0154】

細胞培養

B細胞(細胞 2×10^5 個/ml)を、組換えマウスIL-21(50ng/ml、インハウスで製造)を添加した、8%FBS(HyClone社)及びペニシリン/ストレプトマイシン(Roche社)を含有するIMDM(Gibco社)培養培地中で維持し、それらをCD40Lを安定的に発現する照射(50Gy)マウスL細胞線維芽細胞(CD40L-L細胞、細胞 10^5 個/ml)上で共培養した。培養物を、マイコプラズマの存在についてPCRにより常法で試験した(データは示さず)。

10

【0155】

レトロウイルス形質導入

Kwakkenbosら、Nat Med 2010に記載のとおり、レトロウイルス形質導入を実施した。簡潔に述べると、ナイーブ及び記憶IgG及び記憶IgM B細胞を、36時間、mIL-21の存在下でCD40L-L細胞上で培養し、活性化させた。次に、以前記述されたとおり(Diehlら、J Immunol 2008)、GFPのためのマーカー遺伝子を含むBCL6及びBcl-xLレトロウイルスコンストラクトをB細胞に形質導入するために使用し、加えて、細胞及びウイルスを室温で60分間、 $360 \times g$ (1800RPM)で遠心した。形質導入効率は、69~90%の範囲だった。

20

【0156】

標的細胞株の培養

標的AML細胞株THP-1(ATCC社、細胞 2×10^5 個/mlから細胞 1×10^6 個/mlの密度)及びMono-Mac6[実験免疫学研究室のHamann博士(Dr. Hamann of the Experimental Immunology department)からの厚意によるもの、細胞 2×10^5 個/mlから細胞 2×10^6 個/mlの密度]を、10%FBS(HyClone社)及びペニシリン/ストレプトマイシン(Roche社)を含有するRPMI 1640(Gibco社)培養培地中に維持した。Mono-Mac6の培養培地を、非必須アミノ酸(Invitrogen社)、1mMピルビン酸ナトリウム(Invitrogen社)及び $10 \mu\text{g/ml}$ ヒトインスリン(Sigma社)で富化した。AML細胞株Molm13を、細胞 5×10^5 個/mlから細胞 1.5×10^6 個/mlの密度で、20%FBS(HyClone社)及びペニシリン/ストレプトマイシン(Roche社)を含有するRPMI 1640(Gibco社)培養培地中に維持した。肝細胞株HepG2及びHuh7並びに結腸細胞株HT29(Tytgat Institute、AMC、Amsterdam、オランダからの厚意によるもの)を、8%FBS(HyClone社)及びペニシリン/ストレプトマイシン(Roche社)を含有するDMEM(Gibco社)培養培地中に維持した。急性T細胞白血病細胞株Jurkat(ATCC社)を、10%FBS(HyClone社)及びペニシリン/ストレプトマイシン(Roche社)を含有するRPMI 1640(Gibco社)培養培地中に、細胞 1×10^5 個/mlから細胞 2×10^6 個/mlの密度で維持した。皮膚原発線維芽細胞(University of Leiden、オランダの厚意によるもの)を、週に2回、10%FBS(HyClone社)及びペニシリン/ストレプトマイシン(Roche社)を含有するDMEM(Gibco社)培養培地中に培養した。細胞を、10回以下で継代させた。びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)細胞株OCI-Ly1及びOCI-Ly7(それぞれ、DSMZ社及びATCC社)を、8%FBS(HyClone社)及びペニシリン/ストレプトマイシン(Roche社)を含有するIMDM(Gibco社)培養培地中に維持した。培養物を、細胞 $0.5 \sim 2 \times 10^6$ 個/mlで維持した。最後に、多発性骨髄腫(MM)細胞株U266及びNCI-H929を、THP-1細胞について記載のとおり維持及び培養した。

30

40

【0157】

AML特異的クローンの生成

各患者の形質導入されたナイーブ及び記憶IgG並びにIgM B細胞を、1ウェル当たり細胞20又は40個[以下では微小培養物(microcultures)と呼ぶ]の濃度で播種し、IL-21及びCD40Lで拡張させた。次に、拡張B細胞微小培養物の上清を、白血病細胞株[THP-1、MonoMac6及びTable 4(表5)に示す細胞株]、肝細胞株及び結腸細胞株、並びに一部の上清についても、AML-M0、M1、M4及びM5に罹患した患者から単離された原発芽細胞と結合する抗体につい

50

て、FACSにより、ヒト-IgG-PE(Southern Biotech社)又はヒトIgG H+L AF647(Life Technologies社)を二次抗体として使用してスクリーニングした。インハウスで生成された複数の抗体、たとえば抗CD30(活性化B及びTリンパ球上に発現)、抗CD33(単球、骨髄前駆細胞及び骨髄性白血病上に発現)、D25(RSVに対する、WO 2008/147196に記載)、AT10-002、AT10-004(インフルエンザに対する、WO 2013/081463に記載)、及び F1(MRSAに対する、WO 2011/008092に記載)を、負の対照の抗体として使用した。加えて、いくつかの市販の抗体、たとえばリツキシマブ(抗CD20)、パリビズマブ(抗RSV)、パニツムマブ(抗EGFR)及びHLA-DRを使用した。AML細胞株と結合するが、肝細胞株及び結腸細胞株と結合しない微小培養物を選択し、細胞1個/ウェルの濃度で播種し、それらの上清を、AML細胞株に対する特異性について再度試験した。AML細胞株と特異的に結合するが、肝細胞株及び結腸細胞株、健常PBMC並びに骨髄とは特異的に結合しない上清を伴うクローンを、シークエンシングのために選択した。クローンを、組換え抗体のために、下に記載するとおり、正常培養条件下で、FBS低IgG血清(Hyclone社)及びこれら培養物の上清から精製された抗体の存在下で拡張した。

10

【0158】

AML特異的抗体のクローニング

組換え抗体を製造するため、RNeasy(登録商標)ミニキット(Qiagen社)で全RNAを単離し、cDNAを生成し、PCRを実施し、重鎖及び軽鎖可変領域をpCR2.1 TAクローニングベクター(Invitrogen社)内へとクローニングした。逆トランスクリプターゼ又はDNAポリメラーゼ誘発変異を排除するため、複数の独立したクローニング実験を実施した。組換えmAbを製造するため、各抗体の重鎖及び軽鎖可変領域を、ヒトIgG1又はIgG3及びカップ定常領域とインフレームで、pcDNA3.1(Invitrogen社)ベースベクター内にクローニングし、293T細胞に一過的にトランスフェクトさせた。クローンのIgサブタイプに応じてプロテインA又はGを有する培養上清から組換え抗体を精製した。

20

【0159】

AML特異的抗体のインビトロ活性

AML細胞に対するAML特異的抗体のインビトロ効果を測定するため、複数のアプローチを使用した。第1に、THP-1細胞(2×10^4)を平底96ウェルプレート(Costar社)中に播種した。AML又は対照抗体を、第1日に5~10 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で添加した。1ウェル当たりの細胞数を毎日計数した。AML特異的抗体によるTHP-1細胞及び原発白血病細胞の両方での細胞死の誘導を、細胞のアリコート анеキシシンV(BD Pharmingen社)及び7-アミノアクチノマイシンD(7-AAD、Beckman Coulter社)について共染色することにより平行して測定し、ダブルネガティブの細胞が生存細胞だった。加えて、特異的溶解アッセイを使用した。標的細胞(THP-1)を、細胞死の際に細胞質から放出される緑色蛍光色素であるカルセインAM(Becton Dickinson社)で標識化した。簡潔に述べると、2百万個のTHP-1細胞を、2mlの2 μM カルセインAMと30分間、37 °Cでインキュベートした。AML又は対照抗体を4時間添加し、その後、蛍光プレートリーダーを使用して緑色蛍光を測定した。特異的溶解の割合を(実験値-低対照)/(高対照-低対照) $\times 100$ として算出した。式中、低対照は、影響を受けていない細胞によるカルセインAMの自然放出を意味し、高対照は、すべての細胞が溶解するとき放出されるカルセインAMの最大量を意味する。カルセインAM放出アッセイに加えて、AML特異的抗体の殺細胞活性を測定するために、乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)放出アッセイを適用した。LDHは、傷害を受けた細胞により細胞質基質から放出される。AML-M0に罹患した患者から診断時に単離された白血病芽細胞を、10,000芽細胞当たり10 $\mu\text{g/ml}$ の最大濃度でAT13-024とインキュベートした。LDH放出を、製造者のプロトコルに従い反応混合物及び停止液(Roche Diagnostics社/Applied Science社)添加後にELISAリーダー上で測定した。パーセント細胞毒性を(実験値-低対照)/(高対照-低対照) $\times 100$ として算出し、式中、低対照は、影響を受けていない細胞によるLDHの自然放出を意味し、高対照は、すべての細胞が溶解するときのLDHの最大量を意味する。AML特異的抗体により誘導された標的細胞死を定量するため、以前に記述されたFACSベースの白血病細胞溶解アッセイを使用した(Schmiedelら、2013)。簡潔に述べると、FACSキャリブレーションビーズ(Accudrop Fluorescent Beads、BD

30

40

50

Biosciences社)を50/50比で細胞に添加し、その後、標準量のビーズをFACSで得た。等しいアッセイ体積がキャリブレーションビーズにより確認されたので、次に、死滅又は消滅細胞の量を以下のとおり算出できる。すなわち、 $100 - [(各処置におけるDapiネガティブ細胞 / 対照におけるDapiネガティブ細胞) \times 100]$ 。

【0160】

最後に、本発明者らの抗体により誘導される細胞死のアポトーシス経路と非アポトーシス経路との間を識別するため、標的細胞をDiOC6及びヨウ化プロピジウム(PI)で共染色した。DiOC6(3,3-ジヘキシルオキサカルボシアニンヨード)は、低濃度で使用されたときに生細胞のミトコンドリアについて選択的な細胞透過性、緑色蛍光性の親油性色素である。アポトーシス細胞は、細胞膜が透過性になる(PIポジティブ)前に、それらのミトコンドリア膜電位を失う(DiOC6染色の消失)。壊死細胞は、それらのミトコンドリア膜電位を失う(そして、DiOC6ネガティブになる)前にPIポジティブになる。染色のために使用された方法は、Hugh J. Mら、2004から適合させた。簡潔に述べると、THP-1細胞を、40nMのDiOC6(Invitrogen社)で20分間、37℃で染色した。PIを添加し、その後、試料をすぐにフローサイトメトリーにより解析した。

10

【0161】

フローサイトメトリー

染色細胞をFACSAria(BD社)、FACSCanto(BD社)、FACS LSRFortessa X-20(BD社)及びGuava(Millipore社)フローサイトメーター上で解析し、フローサイトメトリーデータをFlowJoソフトウェア(Tree Star社)で処理した。

20

【0162】

位相差画像

THP-1細胞を、2つのチャンパーのカバーガラスシステム(LabTek社)に添加した。位相差画像顕微鏡(インハウスで製造)を使用して、1チャンパー当たり4つの目的のフィールドを選択した。2分毎にすべての目的のフィールドの写真を撮影するようソフトウェアを設定した。開始する直前に、THP-1結合性、非細胞毒性抗体AT13-023及びTHP-1結合性、細胞毒性抗体AT13-037をそれらのそれぞれウェルに10ug/mlの濃度で添加した。

【0163】

標的検証:免疫沈降及びフローサイトメトリー

THP-1細胞を溶解させ、非特異的結合性タンパク質を除去するため、無関係な抗体(インハウスで生成されたRSV抗体D25)及びビーズでプレクリアした。次に、プレクリアされた溶解物を、ビーズ標識化AML特異的抗体又は負の対照としてインフルエンザ特異的抗体AT10-002とインキュベートした(4℃で3時間)。抗体-インキュベートされた溶解物を5回洗浄し、結合されたタンパク質をTHP-1溶解物から溶出し、次にSDS-PAGEゲル上を走らせた。タンパク質をプロットし、ボンソーSで染色し、総タンパク質を明らかにした。プロットをBSAでブロッキングし、ウエスタンプロット解析のためにマウス抗snRNP200(Millipore社、クローン3B6.1)又はウサギ抗HMGB1(Abcam社)とインキュベートした。メタノール(Sigma社)並びにtriton X-100(Sigma社)、EDTA(Gibco社)及びBSA(Roche社)を含有する透過処理バッファーでのTHP-1細胞の固定及び透過処理後にsnRNP200について細胞内染色を実施し、続いて、ウサギ抗ヒトsnRNP200抗体(Sigma社)と一晩、4℃でインキュベートした。

30

40

【0164】

標的コンフォメーション:snRNP200 ELISA

HEK 293T細胞に、snRNP200の完全長オープンリーディングフレームをN末端FLAGタグとともに含有する発現ベクターをトランスフェクトした。トランスフェクション後第2日に、細胞を回収し、プロテアーゼ阻害剤を含有する溶解バッファー中で溶解させた。この溶解物をクリアし、タンパク質濃度を測定した。次に、AML特異的抗体AT12-019、AT12-023、AT13-031及びAT13-037又は市販のsnRNP200特異的抗体(Bethyl labs社)を、ELISAプレート上にコーティングした。溶解物を3µg/mlの濃度で捕捉のために添加した。十分な洗浄の後、捕捉されたsnRNP200-flagを、モノクローナルマウス抗flagHRP抗体(Sigma-Aldrich社、クローンM2)で検出した。

50

【 0 1 6 5 】

結果

AML特異的抗体の生成

本発明者らのプロジェクトにおいて、本発明者らの研究室で最近開発された独自の技術(WO 2007/067046、本明細書に参照により組み込まれる)を使用し、これは、天然白血病特異的B細胞及びこれら細胞により産生される抗体の選択を可能にする。肝臓及び皮膚の重症GvHDと並行して強力なGvL反応を発した2人のAML患者から白血病特異的B細胞株を生成するために、この技術を用いた。本発明者らのB細胞不死化技術により、白血病患者のB細胞反応を同定し、これら細胞株が産生する抗体の機能研究を可能にし、当技術分野において知られている他の方法と比較して、より多数の抗体の生成を可能にする、診断的及び治療的潜在性を有する白血病特異的B細胞株を創出することが可能となった。

10

【 0 1 6 6 】

まず、WO 2007/067046に記載の本発明者らの技術を、肝臓及び皮膚の重度のGvHDの後に強力なGvL反応を発した慎重に選択された患者(ドナー59)からのBリンパ球を単離及び不死化した、一連のパイロット実験を実施するために適用した。この患者は、36歳でAMLと診断された。彼女は、2つのコースの導入化学療法の中の第1のコースの後に完全寛解を得て、その後彼女は、骨髄破壊的、HLA適合同胞ドナーSCTを地固め療法として受けた。SCT後わずか5カ月で、免疫抑制療法を削減したすぐ後に、彼女のAMLは再発した。1サイクルの高用量シタラピンで、彼女は再び完全寛解を得たが、その後、彼女は自然に、予定されていたドナーリンパ球注入前に、肝臓のステージIIIのGvHD及び皮膚のステージIIのGvHDを発症した。彼女は、高用量コルチコステロイド療法での治療に成功したが、治療削減中に、肝臓GvHDが2度再発した。最終的に、本実験を開始する6カ月前(AML再発1.5年後)にコルチコステロイド療法を段階的に削減することに成功し、現在では3年超の間、彼女の白血病は完全寛解であり続けてきた(図2)。

20

【 0 1 6 7 】

この患者から、B細胞を不死化する本発明者らの技術を使用して、B細胞クローンを生成した。簡潔に述べると、PBMCをフィコール遠心分離により末梢血から単離し、Bリンパ球をFACSによりソートした。次に、単離Bリンパ球をIL21及びCD40Lとともに培養し、BCL6及びBCL-xLを約70%の形質導入効率で形質導入した。この技術を使用して、B細胞受容体を発現すると同時にモノクローナル抗体を分泌する独自のB細胞クローンを生成した。不死化CD27-ナイーブ及びCD27+記憶IgG+B細胞を、1ウェル当たり細胞20又は40個の濃度で播種し、IL21及びCD40Lで拡張させた。次に、拡張B細胞微小培養物の上清を、白血病細胞株、肝細胞株及び直腸細胞株と結合する抗体について、FACSにより、ヒト-IgG-PEを二次検出抗体として使用してスクリーニングした。

30

【 0 1 6 8 】

患者がフレンチ-アメリカン-ブリティッシュ(FAB)分類(Bennettら、1976)に従いAML-M5と診断されたので、AML-M5と形態及び表現型が概ね類似するTHP-1細胞株を、これらのスクリーニングアッセイのために選択した(Tsuchiyaら、1988)。加えて、患者が肝臓の重度のGvHDに罹患したので、肝細胞株HepG2を使用して、肝臓結合性B細胞クローンの同定のためにスクリーニングした。負の対照として、そして交差結合性B細胞クローンを選択するために、結腸細胞株HT-29及びLSTRを使用した。次に、これら細胞株のいずれかとの最も高い結合性を有する微小培養物をソートし、単一細胞を96ウェルフォーマットに付着させ、拡張させ、これらの拡張クローンの上清を、白血病細胞株に対する結合性について再びスクリーニングした(図3)。

40

【 0 1 6 9 】

AML特異的抗体の特性

このアプローチで、この1人の患者から、THP-1に結合する(図3)が、肝細胞株又は結腸細胞株、線維芽細胞、内皮細胞(ヒト臍静脈内皮細胞すなわちHUVEC)、健常PBMC又は骨髄に結合しない抗体[Table 2(表2)及び図4]を産生する、8つのB細胞株を生成した。これらは、抗体AT12-019、AT12-023、AT12-025、AT13-022、AT13-023、AT13-024、AT13-031及び

50

AT12-020である。これらの抗体の重鎖及び軽鎖可変領域を、Table 1(表1及び表2)及び図1に示す。

【0170】

興味深いことに、抗体は、IgG1及びIgG3アイソタイプのものであり、DNA配列のいくつかは体細胞超変異を示した。抗体AT12-023、AT12-025、AT13-023及びAT13-031は、潜在的な殺細胞特性で知られているVH配列のファミリーである、VH4-34ファミリーに属する(Bhatra, 1997)。抗体は、ドナー由来のものであり、マイクロキメリズム解析により確認された。

【0171】

次に、AMLサブタイプのスペクトル内での結合性の広さを決定し、生成されたAML特異的B細胞クローンを他のAML FAB分類タイプとの結合性について試験した。選択された白血病特異的クローンはまた、AML-M5細胞株MonoMac6にも結合した[Table 3(表4)][AML細胞株の総説については、(Drexler及びMinowada, 1998)を参照のこと]。

【0172】

本発明者らによるAML特異的抗体はまた、新たに診断された患者の新たに単離されたAML芽細胞にも結合した[Table 3(表4)及び図5]。

【0173】

更に、いくつかの抗体は、他の造血性悪性腫瘍細胞株、たとえばびまん性大細胞型B細胞リンパ腫細胞株OCI-Ly1及びOCI-Ly7並びに多発性骨髄腫細胞株U266及びNCI-H929、並びに/又は患者由来血液腫瘍細胞にも結合した[Table 4(表5)及び図6]。

【0174】

AML特異的抗体のインビトロ活性

AML結合抗体の特異性を試験する間に、驚くべき観察がなされた。8つの抗体のうちの一つが、それらが結合していた白血病細胞の死を自然に誘導した。THP-1細胞は、AT12-023及びAT12-025により殺され、AMLと診断された患者から単離された原発AML芽細胞は、AT12-025及びAT12-024により殺された[Table 5(表6)及び図7～図10]。

【0175】

図7は、AT12-023によるTHP-1細胞の迅速な殺細胞作用を示す。瀕死の芽細胞は、7-AAD及びアネキシンVを発現した。驚くべきことに、AT12-025とのTHP-1の共培養が最初に培養物中の総細胞数に影響しなかった(図7)一方で、この抗体もまた、AT12-023と比較して少し遅れてではあるが、THP-1細胞死を誘導するようだった(図8)。いくつかの抗体が、白血病細胞に対する直接殺細胞活性を示すという観察は、非常に刺激的であり、本発明者らの知る限り、これまで報告されていない。

【0176】

第2の患者からのAML特異的B細胞株の生成による本発明者らの発見の確認

第1の患者からスクリーニングされたB細胞の約0.05から0.1%が、AML特異的であることが見出された。本発明者らの発見を確認するため、再発AMLに罹患し、同種SCT後に長期寛解を得た第2の患者を選択した(ドナー58、図11)。この患者もまた、皮膚及び肝臓のGvHDを発症し、これについて彼女は経口ステロイドで治療された。ステロイドを段階的に削減した後、SCTの約1年後に、PBMCを単離し、B細胞を不死化し、上述のとおりAML細胞株との結合についてB細胞株をスクリーニングした。この患者から、AML細胞株THP-1及びMonoMac6と結合する(図12)が、肝細胞株又は腸細胞株、線維芽細胞又は健常PBMCと結合しない、5つのB細胞クローンを生成した[Table 6(表7)]。これらのクローンは、抗体AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036及びAT13-037を産生する。興味深いことに、これらの抗体はすべて、IgG3アイソタイプのものである。これらの抗体の重鎖及び軽鎖可変領域の配列もまた、Table 1(表1及び表2)及び図1に示す。これらのデータは、本発明者らのプロジェクトの達成可能性を確認する。目的としているB細胞の低頻度にもかかわらず、それらを単離し、AMLに特異的な、強力な抗体産生B細胞株を生成することが可能だった。

【0177】

考察

10

20

30

40

50

これらの予備的データは非常に刺激的である。なぜなら、本発明者らの知る限り、AMLに対する強力な持続的なGvL反応を誘った患者から、複数のヒト、非キメラ、白血病特異的Bリンパ球クローンを、初めて生成したからである。これらの抗体のいくつかは、インビトロで白血病芽細胞に対する殺細胞活性を自然に示すという観察は、非常に刺激的であり、非常に有望である。加えて、いくつかの抗体が生殖系列配列を有し、T細胞の補助なしに誘導できる抗体のタイプであるIgG3サブクラスのものであるという観察は、更なる注目に値する。なぜなら、これらの発見は、T細胞非依存的な形で生成された「天然」抗体が、SCT患者においてGvL反応に影響を及ぼすことを実証するからである。重要なことに、これらのデータは、この技術を使用して、白血病特異的B細胞クローンを選択できるというコンセプトの証拠を提示する。

10

【0178】

(実施例2)

第3の患者からのAML特異的抗体

本発明者らのアプローチを更に確認し、この抗AML反応が女性患者にのみ妥当するわけではないことを示すため、男性患者も選択した。この患者(図13)、ドナー101は、49歳で中程度のリスクのAML(細胞遺伝学的又は分子的異常なし、FAB分類AML-M5)と診断された。彼は、2つのコースの化学療法(シタラビン、イダルビシン、アムサクリン)及び1つのコースの地固め化学療法(ブーサルファン、シクロホスファミド)を受け、続いて、利用可能なHLA適合同胞幹細胞ドナーがいなかったため、自己HSCTを受けた。最初の診断の14カ月後に、彼の疾患は再発した。彼は、高用量シタラビン1サイクル後に完全寛解を得て、その後、彼は適合、非血縁ドナーの減弱強度同種HSCT(RIST-MUD)を受けた。6週後、彼は皮膚、肝臓及び腸の急性GvHD(ステージ1、グレードII)を発症し、これはコルチコステロイド療法によく反応した。B細胞を、SCT38カ月後にこの患者から得られた瀉血産物から単離した。

20

【0179】

実施例1に記載されたのと同じ方法を使用して、この患者から、AML細胞株THP-1及び/又はMolm13と結合する[図14及びTable 7(表8)]が、(胎児)肝細胞株又は腸細胞株、線維芽細胞又は健常PBMCと結合しない、4つのB細胞クローンを生成した[Table 8(表9)]。3つのクローンが抗体AT14-013(IgG1)、AT14-014(IgG3)、AT14-015(IgG3)及びAT14-016(IgG3)を産生する。興味深いことに、やはりこれらの抗体の多数は、IgG3アイソタイプのものである。これらの抗体の重鎖及び軽鎖可変領域の配列は、多量の体細胞超変異を示し、Table 1B(表2)及び図1に示される。クローンAT14-013は、肝細胞癌細胞株Huh7との非常に低い反応性を示すが、肝細胞癌細胞株HepG2又は健常胎児肝細胞に対しては示さない。線維芽細胞に対する低い反応性も観察されたが、しかしながら、これらの組織特異的細胞に対するこの抗体の結合は、原発白血病芽細胞との結合と比較して、無視できる(図14)。

30

【0180】

ドナー101の4つの抗体が、原発AML芽細胞に結合できるかどうかもまた試験された(材料及び方法:実施例1を参照のこと)。図15及びTable 7(表8)は、抗体AT14-013が、少なくとも3つの異なるFAB分類(AML-M0、M4及びM5)の原発芽細胞と結合するようであることを示す。抗体AT14-015及びAT14-016は、M4分類の原発AML芽細胞と結合可能である。

40

【0181】

(実施例3)

ドナー59、58及び101のAML特異的抗体のインビトロ活性

実施例1において、AMLサブタイプのスペクトル内のドナー59の抗体の結合の広さを決定した[Table 3(表4)]。同じ方法を使用して、これを、ドナー58の抗体についても決定した。結果をTable 9A(表10)に示す。ドナー58の5つの抗体すべて(AT13-033、AT13-034、AT13-035、AT13-036及びAT13-037)が、AML-M5細胞株THP-1と、AML-M5細胞株MonoMac6と同様に結合した。これらのAML特異的抗体は、FAB分類M0、M1又はM4の新たに診断された患者の新たに単離されたAML芽細胞とは有意に結合しなかった。AT13-034は、M0芽細胞に弱くしか結合できなかった。これは、これらの抗体が、(少なくとも)AML M5芽細胞に対する特異性

50

を有することを示す。

【0182】

実施例1において、ドナー59の抗体AT12-023及びAT12-025がTHP-1細胞を殺すことも決定した[Table 5(表6)及び図7~図9]。続いて、ドナー59の他の抗体もまた、ドナー58の抗体と同様に、THP-1細胞を殺すことができるかどうかを、実施例1と同じ材料及び方法を使用して試験した。Tables 9B-10(表11~表12)に示すとおり、AT12-023及びAT12-025に加えて、抗体AT13-031(ドナー59)もまた、抗体AT13-033、AT13-035、AT13-036及びAT13-037(ドナー58)と同様に、THP-1細胞を殺すこと可能であるようである。

【0183】

原発AML芽細胞死の誘導能もまた試験した(材料及び方法:実施例1を参照のこと)。ドナー59から得られたいくつかの抗体と同様に、ドナー58に由来する抗体のいくつかもまた、原発AML細胞の細胞死を誘導可能である。これを、両方の形態[精製B細胞上清(sAT13-037)及び組換え産生抗体(rAT13-037)、両方がIgG3コンフォメーション(IgG3 confirmation)である]の抗体AT13-037について図16に示す。白血病細胞は、FAB分類AML-M5の新たに診断されたAML患者の骨髄に由来する。

【0184】

(実施例4)

AML抗体のインビトロ活性は迅速であり、非アポトーシス細胞死経路を伴う

上述の抗体のうちのいくつかは、それらの標的細胞の死を誘導した経路を調べるため、標的細胞死を微速度撮影顕微鏡法で視覚化した(図17a)。抗体AT13-037とのインキュベーション後数分以内に、細胞が膨張し始め、死滅することを観察した。これは、本発明による抗体が、古典的アポトーシス経路以外の経路を活性化させたことを示唆した。なぜなら、アポトーシス細胞は膨張するのではなく収縮するからである。これを更に調べるため、細胞死マーカーDiOC6及びヨウ化プロピジウム(PI)での二重染色を実施した。アポトーシスを進行させようとする細胞は、まず、膜透過性が増加する[ヨウ化プロピジウム(PI)染色により視覚化]前にミトコンドリア電荷を失う(DiOC6結合の消失により視覚化できる)一方で、ネクローシスを進行させる細胞は、それらの膜統合性を失う(PIポジティブ)が、すぐにはミトコンドリア膜電位を失わない。ジクロフェナクがTHP-1細胞のアポトーシスを誘導することが知られているので、ジクロフェナクを正の対照として使用した。ジクロフェナク処理されたアポトーシスTHP-1細胞は、DiOC6ネガティブとなった(ミトコンドリア膜電位を失った)が、膜統合性を維持した。AML特異的細胞毒性抗体AT12-023とのインキュベーションの際、ミトコンドリア膜電位は維持された(DiOC6ポジティブ)一方で、THP-1細胞の膜透過性は増加した(PIポジティブ)。したがって、AML抗体処理THP-1細胞は、PIポジティブになった一方で、ミトコンドリア膜電位を維持し(図17b、右パネル)、非アポトーシス死経路の活性化を示す。実際に、細胞毒性AML特異的抗体処理によるTHP-1細胞死は、細胞を汎カスパーゼ阻害剤Z-VAD-fmk又はQVD-OPhとインキュベートすることによって阻害できない(図17c)。

【0185】

標的細胞膜への干渉を通じて媒介される細胞死

非アポトーシス死経路には、ネクロートーシス及びオンコーシスが含まれる。ネクロートーシスは、アポトーシスと同様に、所定の分子経路の活性化、たとえば受容体共役タンパク質キナーゼ3(RIPK3)の活性化に依存する能動的細胞死経路である。AML抗体誘導細胞死が細胞内分子経路の活性化に依存するかどうかを調べるため、抗体誘導細胞毒性が温度に依存するかどうかを試験した。これらの実験条件下では、少なくとも抗体の細胞毒性活性AT13-033、AT13-035、AT13-036、AT13-037、AT12-023及びAT12-025が、37℃でのそれらの活性と比較して、4℃で等しく強力であることが見出され(図18)、これは、少なくともこれらの抗体が受動的プロセスにより細胞死を誘導したことを示唆する。注意すべきことに、抗体AT13-031の細胞毒性活性は、4℃と比較して37℃でより有意に強力だった。しかしながら、抗体AT13-031はアポトーシス阻害剤(たとえば汎カスパーゼ阻害剤Q-VD-OPh又はZ-VAD-fmk)の存在下でAML細胞死を誘導するので、抗体AT13-031もまた、アポトーシス

10

20

30

40

50

とは独立にAML細胞の増殖を減少させることが可能であることは明らかである。

【0186】

オンコースは、細胞の膨張を特徴とする細胞死の様式であり、選択的膜傷害を通じて、膜透過性の増加及び最終的な細胞死をもたらす。オンコース誘導抗体は、膜の不安定化を通じて大きな孔隙を膜に形成することにより、細胞死を媒介すると記述されてきた(Hernandezら、2011)。サイトカラシンDは、細胞骨格を安定化できるアクチン重合阻害剤である。サイトカラシンDでの標的細胞株THP-1の処理は、これら細胞との抗体結合を阻害しなかった(図19a)が、標的細胞死を確かに阻害した(図19b)。したがって、膜安定化は、本発明者らによる抗体の細胞毒性活性に対して標的細胞を保護する。

【0187】

(実施例5)

本発明者らによる抗体により認識される標的のうちの1つは、snRNP200である

次に、いくつかのAML特異的抗体により認識される標的を決定することに取り掛かった。このために、AT12-023及びAT13-031でのTHP-1細胞の細胞膜溶解物の免疫沈降を使用した。250kDで明確なタンパク質バンドが見出され、質量分析に送られて、これは標的抗原としてのsnRNP200を明らかにし、ウエスタンブロット解析により確認することができた(図20a)。いくつかのAML抗体の標的としてのsnRNP200を検証するために、ELISAを実施した。このELISAで、AT12-023及びAT13-031に加えて、AT13-037がsnRNP200を特異的に認識することが見出された(図20b)。他のAML特異的抗体、たとえばAT12-019は、snRNP200を標的抗原として認識しなかった。

【0188】

snRNP200は、すべての真核細胞におけるスプライセオソームの一部であり、したがって、核内に位置すると予測されている。AML細胞がこのタンパク質をそれらの細胞表面上に発現することを確証するため、THP-1細胞の細胞膜を市販の抗snRNP200抗体で染色した。図21は、抗snRNP200抗体が、実際にAML細胞膜と結合しているが、Jurkat細胞株とは結合していないことを示す。予想されたとおり、snRNP200は核タンパク質であるので、それはJurkat及びTHP-1細胞株と細胞内で結合する(図21)。

【0189】

すべての真核細胞は、核内に、スプライセオソームの一部としてsnRNP200(U5-snRNPとしても知られている)タンパク質を有する(Kattah、2010)。スプライセオソームは、数多くのタンパク質からなる。これらのタンパク質のうちの少なくとも1つであるU1-snRNPは、全身性エリテマトーデス(SLE)及び混合性結合組織病(MCTD)に罹患する患者のアポトーシス細胞上に発現し、自己免疫反応をもたらすと記述されてきた(Kattah、2010)。

【0190】

AML細胞によるsnRNP200発現が、患者を長期寛解に保つアロ免疫反応(移植片対白血病反応)を誘発したと、本発明者らは提案する。したがって、このタンパク質は、今や、新規AML標的として使用できる。更に、抗体AT12-023及びAT13-031は、snRNP200を特異的に認識し、B-NHL細胞もまた認識するので、snRNP200は、今や、B-NHLのための標的としても使用できる。

【0191】

本発明者らによる抗体により認識される標的のうちの1つは、snRNP200である

次に、いくつかのAML特異的抗体により認識される標的を決定することに取り掛かった。このために、AT12-023及びAT13-031でのTHP-1細胞の細胞膜溶解物の免疫沈降を使用した。250kDで明確なタンパク質バンドが見出され、質量分析に送られて、これは標的抗原としてのsnRNP200を明らかにし、ウエスタンブロット解析により確認することができた(図20a)。

いくつかのAML抗体の標的としてのsnRNP200を検証するために、ELISAを実施した。このELISAで、AT12-023及びAT13-031に加えて、AT13-037がsnRNP200を特異的に認識することが見出された(図20b)。

他のAML特異的抗体、たとえばAT12-019は、snRNP200を標的抗原として認識しなかった。

snRNP200は、すべての真核細胞におけるスプライセオソームの一部であり、したがって、核内に位置すると予測されている。AML細胞がこのタンパク質をそれらの細胞表面上に発現することを確証するため、THP-1細胞の細胞膜を市販の抗snRNP200抗体で染色した。図21は、抗snRNP200抗体が、実際にAML細胞膜と結合しているが、Jurkat細胞株とは結合していないことを示す。予想されたとおり、snRNP200は核タンパク質であるので、それはJurkat及びTHP-1細胞株と細胞内で結合する(図21)。

すべての真核細胞は、核内に、スプライセオソームの一部としてsnRNP200(U5-snRNPとしても知られている)タンパク質を有する(Kattah、2010)。スプライセオソームは、数多くのタンパク質からなる。これらのタンパク質のうちの少なくとも1つであるU1-snRNPは、全身性エリテマトーデス(SLE)及び混合性結合組織病(MCTD)に罹患する患者のアポトーシス細胞上に発現し、自己免疫反応をもたらすと記述されてきた(Kattah、2010)。

AML細胞によるsnRNP200発現が、患者を長期寛解に保つアロ免疫反応(移植片対白血病反応)を誘発したと、本発明者らは提案する。したがって、このタンパク質は、今や、新規AML標的として使用できる。更に、抗体AT12-023及びAT13-031は、snRNP200を特異的に認識し、B-NHL細胞もまた認識するので、snRNP200は、今や、B-NHLのための標的としても使用できる。

本発明者らによる抗体により認識される標的のうちの1つは、snRNP200である

10

20

30

40

【表 1 A】

Table 1A. 本発明による好ましい抗AML抗体(Kabatら 1991によるCDRナンバリング)

配列番号	抗体	同一性	配列
1	AT12-023	重鎖 CDR1	GYYSWS
2	AT12-025	重鎖 CDR1	GYYSWS
3	AT13-024	重鎖 CDR1	SYGMH
4	AT12-019	重鎖 CDR1	SYAMS
5	AT13-022	重鎖 CDR1	SYGMH
6	AT13-023	重鎖 CDR1	GYFWT
7	AT13-031	重鎖 CDR1	GYYSWS
8	AT12-020	重鎖 CDR1	TYSMN
9	AT13-033	重鎖 CDR1	NYGMH
10	AT13-034	重鎖	SHAIH

10

20

30

40

【表 1 B】

11	AT13-035	CDR1 重鎖 CDR1	SYGMH
12	AT13-036	重鎖 CDR1	SYSMN
13	AT13-037	重鎖 CDR1	TYGMH
14	AT12-023	重鎖 CDR2	EINHSGSTNYNPSLKS
15	AT12-025	重鎖 CDR2	EINHSGSTNYNPSLKS
16	AT13-024	重鎖 CDR2	FIRYDGSNKYFADSVRG
17	AT12-019	重鎖 CDR2	TIRASGGSTSYADSVKG
18	AT13-022	重鎖 CDR2	ISYDGSNKYYADSVKG
19	AT13-023	重鎖 CDR2	ETVHSGGTNYNPSLKS
20	AT13-031	重鎖 CDR2	EINHSGSTNYNPSLKS
21	AT12-020	重鎖 CDR2	SISSSGGYIYYADSVKG

10

20

30

40

【表 1 C】

22	AT13-033	重鎖 CDR2	VISHDGSKTYYGHSVKG
23	AT13-034	重鎖 CDR2	LJWYDGSNNYYADSVKG
24	AT13-035	重鎖 CDR2	VISYDGSNKYYADSVKG
25	AT13-036	重鎖 CDR2	SISSTSYIYYADSVKG
26	AT13-037	重鎖 CDR2	VIWYDGSNTYYADSVKG
27	AT12-023	重鎖 CDR3	GRSTSPLDYYYYYMDV
28	AT12-025	重鎖 CDR3	GSMARPKPFDY
29	AT13-024	重鎖 CDR3	DPQERIYYSDTSGYLDY
30	AT12-019	重鎖 CDR3	SPAMIRGVRRGGDYFDY
31	AT13-022	重鎖 CDR3	DGKGIVVIYYIYYGMDV
32	AT13-023	重鎖 CDR3	GLNSPFDY
33	AT13-031	重鎖	GPRGMYSSTSSGDY

10

20

30

40

【表 1 D】

		CDR3		
34	AT12-020	重鎖 CDR3	DGTFYYYYMDV	
35	AT13-033	重鎖 CDR3	AGLNYYGNLLSNFYFYGM DV	
36	AT13-034	重鎖 CDR3	ARDGCTGGSCCYFDN	
37	AT13-035	重鎖 CDR3	AKDSYVYGSRRRWGYFFDY	
38	AT13-036	重鎖 CDR3	ARRREVGRDGYSLYPRGYHYGM DV	
39	AT13-037	重鎖 CDR3	ARGRGYSAQGNRRNRAYFFDY	
40	AT12-023	軽鎖 CDR1	QGFFLRSYYAS	
41	AT12-025	軽鎖 CDR1	RASQSISRVLN	
42	AT13-024	軽鎖 CDR1	RASQSISWLA	
43	AT12-019	軽鎖 CDR1	RASQAFSSYL V	
44	AT13-022	軽鎖	SGDKLGDKYAC	

10

20

30

40

【表 1 E】

45	AT13-023	CDR1 軽鎖 CDR1	RASQGIRNVLG
46	AT13-031	軽鎖 CDR1	RASQGIRNDLG
47	AT12-020	軽鎖 CDR1	RASQDISSLA
48	AT13-033	軽鎖 CDR1	TGTSSDIGGYNYVS
49	AT13-034	軽鎖 CDR1	RASQSISNNLG
50	AT13-035	軽鎖 CDR1	QGDSLRSYYAS
51	AT13-036	軽鎖 CDR1	TGTSSDVGGYNYVS
52	AT13-037	軽鎖 CDR1	RASQSVSSNLA
53	AT12-023	軽鎖 CDR2	GKNKRPS
54	AT12-025	軽鎖 CDR2	AASSLQS
55	AT13-024	軽鎖 CDR2	KASSLES

10

20

30

40

【表 1 F】

56	AT12-019	軽鎖 CDR2	ATSTLQG
57	AT13-022	軽鎖 CDR2	QDSKRPS
58	AT13-023	軽鎖 CDR2	AASSLQS
59	AT13-031	軽鎖 CDR2	AAVSLQS
60	AT12-020	軽鎖 CDR2	AASTLQS
61	AT13-033	軽鎖 CDR2	EVTKRPS
62	AT13-034	軽鎖 CDR2	GASTRAT
63	AT13-035	軽鎖 CDR2	GKNNRPS
64	AT13-036	軽鎖 CDR2	DVNDRPS
65	AT13-037	軽鎖 CDR2	GAFTRVT
66	AT12-023	軽鎖 CDR3	NSRDRSGNHLV
67	AT12-025	軽鎖	QQSYSTPRT

10

20

30

40

【表 1 G】

			CDR3	
68	AT13-024	軽鎖 CDR3	QQYNTYPYT	
69	AT12-019	軽鎖 CDR3	QQYYSYPPT	
70	AT13-022	軽鎖 CDR3	QAWDSSIVVF	
71	AT13-023	軽鎖 CDR3	LQHNSHPRT	
72	AT13-031	軽鎖 CDR3	LQHNSYPRT	
73	AT12-020	軽鎖 CDR3	QQYYSYPPT	
74	AT13-033	軽鎖 CDR3	SSYAGSNDLL	
75	AT13-034	軽鎖 CDR3	QQYNNWPRLT	
76	AT13-035	軽鎖 CDR3	NSRDSSGNHVV	
77	AT13-036	軽鎖 CDR3	SSYTRSNTVI	
78	AT13-037	軽鎖	QQYNDRPPYT	

10

20

30

40

【表 1 H】

79	AT12-023	重鎖	CDR3	QVQLQWAGALLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWGEINHSNSTNYPNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARGRSTSPLDYIYYMDVWAKGTTVTVSS
80	AT12-025	重鎖		QVQLQWAGALLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWGEINHSNSTNYPNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARGSMARPKPFDYWGQGTLLVTVSS
81	AT13-024	重鎖		QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFIRYDGSNKYFADSVRGRFTIS RDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPQRIYSDTSGYLDYWGQGTLLVTVSS
82	AT12-019	重鎖		EVHLLSEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIRASGGSTSYADSVKGRFTISR DNSQSRLLYLQMNSLTAEDTAVYYCAKSPAMIRGVRRGGDYFDYWGQGTLLVTVSS
83	AT13-022	重鎖		QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGKGVVYYIYMGMDVWGGQGTVTVTVSS
84	AT13-023	重鎖		QVQLQWAGALLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYFWTWIRQPPGKGLEWIGETVHSGGTNYPNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLRLNSVTAADTAVYYCVRGLNSPFDYWGQGTLLVTVSS
85	AT13-031	重鎖		QVQLQWAGALLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWGEINHSNSTNYPNPSLKSRVTISV DTSKKQFSLKLSVTAADTAVYYCARGPRGMYSSTSSGDIYWGQGTLLVTVSS
86	AT12-020	重鎖		EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSTSSGYYIYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGTFSYIYYMDVWVGKGTVTVTVSS
87	AT13-033	重鎖		QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAVSGLSFRNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISHDGSKTYIGHSVKGRFTI SRDKSKTMLFLQMNSLRPEDTAVYYCAKAGLNYYGNLNSNYFYGMVDVWGGQGTVTVTVSS
88	AT13-034	重鎖		QVHLVESGGGVVQPGTSLRLSCAASEFTFSSHAIHWVRQAPGKGLEWVALIHWYDGSNNYYADSVKGRFTIS RDSSKNTVHLQMNSLRVEDTAVYYCARDGCTGGSCCYFDNWWGGQGTLLVTVSS
89	AT13-035	重鎖		QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSYIYSGRRWGYFDYWGQGTLLVTVSS
90	AT13-036	重鎖		EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSTSYIYADSVKGRFTISR

10

20

30

40

【表 1 I】

91	AT13-087	重鎖	DNARNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCARRREVGRDGYSLYPRGYHYGMDVWGQGTITVTVSS QVQLVESGQGVVQPGSRSLRSCAASGFTFTSTYGMHWVRQAPGKGLIEWVAVIWYDGSNTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQKSLRAEDTAVYYCARGYSAGQGNRNRAYYFDYWGGTLTVTVSS SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQDFLRSYASWYQQKPKGQAPVLFVFGKNKRPSGIPDRFSGSSSGNTASL TITGAQAEDEADYYCNSRDRSGNHLVFGGGTKLTVL
92	AT12-023	軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSIISRYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPRTFGPTKVDIK
93	AT12-025	軽鎖	DIQMTQSPSTLSASVGDRTVITCRASQSISSWLAWYQQKPKGKAPKLLIYKASSLESQVPSRFSGSGTEFTL TISSLQPEDFATYYCQYNTYPTFGQGTKLEIK
94	AT13-024	軽鎖	AIRLTQSPSSVASTGDRVTITCRASQAFSSYLWYQQKPKGKAPNLLIYATSTLQGGVPSRFSGSGGTDFTL TISNLQSEDFATYYCQQYYSYPTFGQGTKLEIK
95	AT12-019	軽鎖	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPKGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGNSGNTATL TISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVVFVGGGTKLTVL
96	AT13-022	軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGIIRNVLGWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTEFTL TISSLQPEDFATYYCLQHNHPTFGQGTKVEIK
97	AT13-023	軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGIIRNDLGWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTEFTL LTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPTFGQGTKLEIK
98	AT13-031	軽鎖	AIRMTQSPSFSASTGDRVTITCRASQDISSSLAWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTL TISCLQSEDFATYYCQQYYSYPTFGQGTKLEIK
99	AT12-020	軽鎖	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDIGYNYVSWYQHHPGKAPKLLIYEVTKRPSGVPDRFSGSKSGNT ASLTVSGLQAEDEAHYYCSSYAGSNDLLFGGGTKLTVL
100	AT13-033	軽鎖	EVVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSISSNLLGWYQQKPKGQAPRLLIYGASTRATGIPGRFSGSGGTEFTT LTIYSLQSEDFAVYYCQQYNNWPRLLTFFGGTKVEIK
101	AT13-034	軽鎖	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSLRSYASWYQQKPKGQAPVLIYVYGNRNRPSGIPDRFSGSSSGNTASL TITGAQAEDEADYYCNSRDRSGNHLVFGGGTKLTVL
102	AT13-035	軽鎖	QSALTQPAVSVALGQTVRITCQGDLSLRSYASWYQQKPKGQAPVLIYVYGNRNRPSGIPDRFSGSSSGNTASL ASLTVSGLQAEDEADYYCNSRDRSGNHLVFGGGTKLTVL
103	AT13-036	軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSIISRYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSTPRTFGPTKVDIK

【 0 2 0 0 】

10

20

30

40

【表 1 J】

104	AT13-037	軽鎖	EIVMTQSPATLSVSPGERVILSCRASQSVSSNLAWYQQKPKGQPPRLLIYGAFTRVTGVPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQYNDRPPYTFGGGTKLEIK
105	AT12-023	重鎖 CDR1	ggg tac tac tgg agc
106	AT12-025	重鎖 CDR1	ggg tat tac tgg agc
107	AT13-024	重鎖 CDR1	agg tat ggc atg cac
108	AT12-019	重鎖 CDR1	agg tat gcc atg agt
109	AT13-022	重鎖 CDR1	agg tat ggc atg cac
110	AT13-023	重鎖 CDR1	ggg tac ttc tgg acc
111	AT13-031	重鎖 CDR1	ggg tac tac tgg agc
112	AT12-020	重鎖 CDR1	acc tat agc atg aac
113	AT13-033	重鎖 CDR1	aat tat ggc atg cac
114	AT13-034	重鎖 CDR1	tcc cat gcc ata cac
115	AT13-035	重鎖	agg tat ggc atg cac

10

20

30

40

【表 1 K】

116	AT13-036	CDR1 重鎖 CDR1	agt tat agc atg aac
117	AT13-037	重鎖 CDR1	acc tat ggc atg cac
118	AT12-023	重鎖 CDR2	gaa atc aat cat agt gga agc acc aac tac aac ccg tcc ctc aag agt
119	AT12-025	重鎖 CDR2	gaa atc aat cat agt gga agc acc aac tac aac ccg tcc ctc aag agt
120	AT13-024	重鎖 CDR2	ttt ata cgg tat gat gga agt aat aaa tac ttt gca gac tcc g'ig agg ggc
121	AT12-019	重鎖 CDR2	act att agg gct agt ggt agc aca agc tac gca gac tcc g'ig aag ggc
122	AT13-022	重鎖 CDR2	ata tca tat gat gga agt aat aaa tac tat gca gac tcc g'ig aag ggc
123	AT13-023	重鎖 CDR2	gaa acc gtt cat agt gga ggc acc aac tac aac ccg tcc ctc aag agt
124	AT13-031	重鎖 CDR2	gaa atc aat cat agt gga agc acc aac tac aac ccg tcc ctc aag agt
125	AT12-020	重鎖 CDR2	tcc att agt agt agt ggt tac ata tac tac gca gac tea g'ig aag ggc
126	AT13-033	重鎖	gtc att tog cat gat gga agt aag aca tac tat gga cac tcc g'ig aag ggc

10

20

30

40

【表 1 L】

127	AT13-034	CDR2 重鎖 CDR2	ctt ata tgg tat gat gga agt aat aat tat tat gca gac tcc gtg aag ggc
128	AT13-035	重鎖 CDR2	gft ata tca tat gat gga agt aat aaa tac tat gca gac tcc gtg aag ggc
129	AT13-036	重鎖 CDR2	tcc att agt agt agt act tac ata tac tac gca gac tca gtg aag ggc
130	AT13-037	重鎖 CDR2	gft ata tgg tat gat gga agt aat aca tac tat gca gac tcc gtg aag ggc
131	AT12-023	重鎖 CDR3	ggc cgt agt acc agc cgc ctc gac tac tac tac tac atg gac gtc
132	AT12-025	重鎖 CDR3	ggc tca atg gca aga ccc aag cca ttt gac tac
133	AT13-024	重鎖 CDR3	gog aaa gat ccc caa gag cgt att tat tac tct gat act agt ggt tac ctt gac tac
134	AT12-019	重鎖 CDR3	tct cct gct atg att cgg ega gtt agg ggg ggt gac tac ttt gac tac
135	AT13-022	重鎖 CDR3	gat ggg aag ggg att gta gtt att tac tac tac tac ggt atg gac gtc
136	AT13-023	重鎖 CDR3	ggc ctt aac agc ccc ttt gac tac
137	AT13-031	重鎖 CDR3	ccc egg ggc atg tat agc agc teg tcc ggg gac tac

10

20

30

40

【表 1 M】

138	AT12-020	重鎖 CDR3	gat ggg act ttc toc tac tac tac atg gac gtc
139	AT13-033	重鎖 CDR3	gcc ggg tlg aac tac tat gga aac cha tta tca aac tac ttc tac tac gga atlg gac gtc
140	AT13-034	重鎖 CDR3	gcg aga gat ggt tgt act ggt ggt agc tgc tat ttt gac aac
141	AT13-035	重鎖 CDR3	gcg aaa gac teg tat tac tat ggt tgg ggg aga cga tgg ggc tac tac ttt gac tac
142	AT13-036	重鎖 CDR3	gcg aga agg agg gag gic ggt aga gat ggc tac agt tlg tac ccc cgg ggg tac cac tac ggt atlg gac gtc
143	AT13-037	軽鎖 CDR1	gcg aga ggc cgt gga tat agt gcc caa sgg aat cgg aat agg gct tac tac ttt gac tac
144	AT12-023	軽鎖 CDR1	caa gga gac ttc ctc aga agc tat tat gca agc
145	AT12-025	軽鎖 CDR1	cgg gca agt cag agc att agc agg tat tta aat
146	AT13-024	軽鎖 CDR1	cgg gcc agt cag agt att agt agc tgg tlg gcc
147	AT12-019	軽鎖 CDR1	cgg gcg agt cag gct ttt agc agt tat tta gtc
148	AT13-022	軽鎖 CDR1	tct gga gat aaa tlg sgg gat aaa tat gct tgc
149	AT13-023	軽鎖	cgg gca agt cag ggc att aga aat gtt tta ggc

10

20

30

40

【表 1 N】

		CDR1	
150	AT13-031	軽鎖 CDR1	cgg gca agt cag ggc att aga aat gat tta ggc
151	AT12-020	軽鎖 CDR1	cgg gcg agt cag gat att agc agt tct tta gcc
152	AT13-033	軽鎖 CDR1	act ggg acc agc agt gac att ggt ggt tat aac tat gtc tcc
153	AT13-034	軽鎖 CDR1	agg gcc agt cag agc att agc aac aac tta ggc
154	AT13-035	軽鎖 CDR1	caa gga gac agc ctc aga agc tal tat gca agc
155	AT13-036	軽鎖 CDR1	act gga acc agc agt gac gtt ggt ggt tat aac tat gtc tcc
156	AT13-037	軽鎖 CDR1	agg gcc agt cag agt gtt agc agc aac tta gcc
157	AT12-023	軽鎖 CDR2	ggg aaa aac aag cgg coc tca
158	AT12-025	軽鎖 CDR2	gct gca tcc agt tlg caa agt
159	AT13-024	軽鎖 CDR2	aag gcg tct agt tta gaa agt
160	AT12-019	軽鎖	gct aca tcc act tlg caa ggt

10

20

30

40

【表 10】

161	AT13-022	CDR2 軽鎖 CDR2	caa gat agc aag egg ccc tca
162	AT13-023	軽鎖 CDR2	gct gca tcc agt tlg caa agt
163	AT13-031	軽鎖 CDR2	gct gca gtc agt tlg caa agt
164	AT12-020	軽鎖 CDR2	gct gca tcc act tlg caa agt
165	AT13-033	軽鎖 CDR2	gag gtc act aag egg ccc tca
166	AT13-034	軽鎖 CDR2	ggg gca tcc acc agg gcc act
167	AT13-035	軽鎖 CDR2	ggg aaa aac aac egg ccc tca
168	AT13-036	軽鎖 CDR2	gat gtc aat gat egg ccc tca
169	AT13-037	軽鎖 CDR2	ggg gca ttc acg agg gtc act
170	AT12-023	軽鎖 CDR3	aac tcc egg gac cgc agt ggt aac cac cfc gtc
171	AT12-025	軽鎖 CDR3	caa cag agt tac agt acc cct cgc act

10

20

30

40

【表 1 P】

172	AT13-024	軽鎖 CDR3	caa cag tat aat act tac ccg tac act
173	AT12-019	軽鎖 CDR3	caa cag tat tat agt tac cct cgg act
174	AT13-022	軽鎖 CDR3	cag gcg tgg gac agc act gig gta ttc
175	AT13-023	軽鎖 CDR3	cta cag cat aat agt cac ccc cgg acg
176	AT13-031	軽鎖 CDR3	cta cag cat aat agt tac cct cgg act
177	AT12-020	軽鎖 CDR3	caa cag tat tat agt tac cct cgg acg
178	AT13-033	軽鎖 CDR3	agc tca tat gca ggc agc aac gat tgg cta
179	AT13-034	軽鎖 CDR3	caa caa tat aat aac tgg cct cgg ctc act
180	AT13-035	軽鎖 CDR3	aac tcc cgg gac agc agt ggt aac cat gtg gta
181	AT13-036	軽鎖 CDR3	agc tca tat aca aga agc aac act gtg ata
182	AT13-037	軽鎖 CDR3	cag cag tac aat gac cgg ccc cgg tac act
183	AT12-023	重鎖	cag gtg cag cta cag cag tgg ggc gca gga ctg ttg aag cct tcg gag acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tat ggt ggg tcc ttc

【 0 2 0 7 】

10

20

30

40

【表 1 R】

189	AT13-031	重鎖	cag gtg cag cta cag cag tgg ggc gca gga ctg tlg aag cct tgg gag acc ctg tcc ctc acc tgc gct gtc tat ggt ggg tcc ttc agt ggt tac tac tgg agc tgg atc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg att ggg gaa atc aat cat agt gga agc acc aac tac aac ccg toc ctc aag agt cga gtc acc ata tea gta gac acg tcc aag aag cag ttc tcc ctg aag ctg agc tct gtg acc gcc gcg gac acc gct gtg tat tat tgt gcg aga ggc ccc cgg ggc atg tat agc agc tgg tcc ggg gac tac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc tea
190	AT12-020	重鎖	gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gag ggc ctg gtc agc cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt acc tat agc atg aac tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtc tea tcc att agt agt agt ggt tac ata tac tac gca gac tea gtg aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aac gcc aag aac tea ctg tat ctg caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acc gct gtg tat tac tgt gcg aga gat ggg act ttc tcc tac tac tac atg gac gtc tgg ggc aaa ggg acc acc gtc acc gtc tcc tea
191	AT13-033	重鎖	cag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gag ggc gtg gtc cag cct ggg agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gtc tct gga ctc agt ttc agg aat tat ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct ccc ggc aag ggg ctg gag tgg gtg gca gtc att tgg cat gat gga agt aag aca tac tat gga cac tcc gtg aag ggc cga ttc acc ata tcc aga gac aaa tcc aag act atg ttg ttt ctc caa atg aac agc ctg aga cct gag gac acc gct gtt tat tac tgt gcg aaa gcc ggg tlg aac tac tat gga aac cta tta tea aac tac ttc tac tac gga atg gac gtc tgg ggc caa ggg acc aca gtc acc gtc tgg tca
192	AT13-034	重鎖	cag gtg cac ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg acc tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggc tct gaa ttc acc ttc agt tcc cat gcc ata cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg ggc gca ctt ata tgg tat gat gga agt aat aat tat tat gca gac tcc gtg aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac agt tcc aag aac acc g'lg cat ctg caa atg aac agc ctg aga gtc gag gac acc gct gtg tat tac tgt gcg aga gat ggt tgt act ggt ggt agc tgc tat ttt gac aac tgg ggc cag gga acc cta gtc acc gtc tcc tgg
193	AT13-035	重鎖	cag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt agc tat ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctg gag tgg ggc gca gtf ata tea tat gat gga agt aat aaa tac tat gca gac tcc g'lg aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac acc ctg tat ctg caa atg aac agc ctg aga gct gag gac acc gct gtg tat tac tgt gcg aaa gac tgg tcc ggg gga cga tgg ggc tac tac ttt gac tac tac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc tea
194	AT13-036	重鎖	gag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc ctg gtc aag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca gcc tct gga ttc acc ttc agt agt tat agc atg aac tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtc tea tcc atf agt agt agt act tac ata tac tac gca gac tea gtg aag ggc cga ttc acc atc tcc aga gac aac gcc agg aac tea ctg tat ctg caa atg aac agc ctg aga gcc gag gac acc gct gtg tat tat tgt gcg aga agg agg gag gtc ggt agt ggt agt agt tttg tac ccc ggg ggg tac cac tac

10

20

30

40

195	AT13-037	重鎖	<p>ggt atg gac gtc tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca</p> <p>cag gtg cag ctg gtg gag tct ggg gga ggc gtg gtc cag cct ggg agg tcc ctg aga ctc tcc tgt gca ggg tct gga ttc acc ttc agt acc tat ggc atg cac tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggg ctt gag tgg gtg gca gtt ata tgg tat gat gga agt aat aca tac tat gca gac tcc gtag aag ggc ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac aca ctg tat ctg caa ata aag agc ctg aga gcc gag gac acg gct gtc tat tac tgt gtc aga ggc cgt gga tat agt ggc caa ggg aat ggg aat agg gct tac tac ttt gac tac tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc tca</p>
196	AT12-023	軽鎖	<p>tct tct gag ctg act cag gac cct gct gtg tct gtg gcc ttg gga cag aca gtc agg atc aca tgc caa gga gac ttc ctc aga age tat tat gca age tgg tac cag cag aag oca gga cag gcc cct gta ctt gtc atc ttt ggt aaaa aac aag cgg ccc tca ggg atc oca gac cga ttc tct ggc tcc agc tca gga aac aca gct tcc ttg acc atc act ggg gct cag ggc gaa gat gag gct gac tat tac tct aac tgc acc tcc cgg gac cgc agt ggt aac cac ctg gtg ttc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta</p>
197	AT12-025	軽鎖	<p>gac atc cag atg acc cag tct oca tcc tcc ctg tct gca tct gta gga gac aga gtc acc atc act tgc cgg gca agt cag agc att agc agg tat tta aat tgg tat cag cag aaa oca ggg aaa gcc cct aag ctc ctg atc tat gct gca tcc agt ttg caa agt ggg gtc cca tca agg ttc agt ggc agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc age agt ctg caa cct gaa gat ttt gca act tac tac tgt caa cag agt tac agt acc cct cgc act ttc ggc cct ggg acc aaa gtag gat atc aaa</p>
198	AT13-024	軽鎖	<p>gac atc cag atg acc cag tct cct tcc acc ctg tct gca tct gta gga gac aga gtc acc atc act tgc cgg gcc agt cag agt att agt agt tgg ttg gcc tgg tat cag cag aaa oca ggg aaa gcc cct aag ctc ctg atc tat aag ggc tct agt tta gaa agt ggg gtc cca tca agg ttc age ggc act gga tct ggg aca gaa ttc act ctc acc atc age agc ctg cag cct gat gat ttt gca act tat tac tgc caa cag tat aat act tac cgg tac act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa</p>
199	AT12-019	軽鎖	<p>gcc atc cgg ttg acc cag tct oca tcc tca gtc tct gca tct aca gga gac aga gtc acc atc act tgt cgg ggc agt cag gct ttt agc agt tat tta gtc tgg tat cag caa aaa oca ggg aaa gcc cct aac ctc ctg atc tac gct aca tcc act tlg caa ggt ggg gtc oca tca agg ttc age ggc act gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc age aac ctg cag tct gaa gat ttt gca act tat tac tgt caa cag tat tat agt tac cct cgg act ttt ggc cag ggg acc aag ttg gag atc aaa</p>
200	AT13-022	軽鎖	<p>tcc tat gag ctg act cag cca ccc tca gtg tcc gtc tcc cea gga cag aca gcc agc atc acc tgc tct gga gat aaa tgg ggg gat aaa tat gct tgc tgg tat cag cag aag oca ggc cag tcc cct gtc ctg gtc atc tat caa gat agc aag cgg ccc tca ggg atc cct gag cga ttc tct ggc tcc aac tct ggg aac aca gcc act ctg acc atc age ggg acc cag gct atg gat gag gct gac tat tac tgt cag ggc tgg gac agc agc act gtc gta ttc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta</p>
201	AT13-023	軽鎖	<p>gac atc cag atg acc cag tct oca tcc tcc ctg tct gca tct gta gga gac aga gtc acc atc act tgc cgg gca agt cag ggc att</p>

10

20

30

40

【表 1 T】

202	AT13-031	軽鎖	aga aat gtt tta ggc tgg tat cag cag aaa oca ggg aaa gcc cct aag tgc ctg atc tat gct gca tcc agt ttg caa agt ggg gtc oca tca ags ttc agc ggc agt gga tct ggg aca gaa ttc act ctc aca atc agc agc ctg cag cct gaa gat ttt gca act tat tac tgt cta cag cat aat agt cac ccc cgg acg ttc ggc caa ggg acc aag gfg gaa atc aaa gac atc cag atg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct gta gga gac aga gtc acc atc act tgc cgg ggc agt cag ggc att aga aat gat tta ggc tgg tat cag cag aaa oca ggg aaa gcc cct aag cgc ctg atc tat gct gca gtc agt ttg caa agt ggg gtc oca tca ags ttc agc ggc agt gga tct ggg aca gaa ttc act ctc aca atc agc agc ctg cag cct gaa gat ttt gca act tat tac tgt cta cag cat aat agt tac cct cgg act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa goc atc cgg atg acc cag tct cca tcc tca ttc tct gca tct aca gga gac aga gtc acc atc act tgt cgg ggc agt cag gat att agc agt tct tta gcc tgg tat cag caa aaa oca ggg aaa gcc cct aag ctc ctg atc tat gct gca tcc act ttg caa agt gga gtc oca tca ags ttc agc ggc agt gga tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc tgc ctg cag tct gaa gat ttt gca act tat tac tgt caa cag tat tat agt tac cct cgg act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa
203	AT12-020	軽鎖	goc atc cgg atg acc cag tct cca tcc tca ttc tct gca tct aca gga gac aga gtc acc atc act tgt cgg ggc agt cag gat att agc agt tct tta gcc tgg tat cag caa aaa oca ggg aaa gcc cct aag ctc ctg atc tat gct gca tcc act ttg caa agt gga gtc oca tca ags ttc agc ggc agt gga tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc tgc ctg cag tct gaa gat ttt gca act tat tac tgt caa cag tat tat agt tac cct cgg act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa
204	AT13-033	軽鎖	cag tot gcc ctg act cag cct ooc tcc ggc tcc ggg tct cct ggt cag tca gtc acc atc tcc tgt act ggg acc agc agt gac att ggt ggt tat aac tat gtc tcc tgg tac caa cac cca cca ggc aaa gcc oca aaa ttg atg att tat gag gtc act aag cgg ooc tca ggg gtc cct gat cgt ttc tct ggc tcc aag tct ggc aac acg gcc tcc ctg acc gtc tct gga ctc cag gct gag gat gag gct cat tat tac tgc agc tca tat gca ggc agc aac gat ttg cta ttc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc ctg
205	AT13-034	軽鎖	gaa gta gfg atg acg cag tct oca gcc acc ctg tct gfg tct oca ggg gaa aga aga gcc acc ctc tcc tgc ags gcc agt cag agc att agc aac aac tta ggc tgg tat cag cag aaa oca ggc cag gct ooc ags ctc ctc atc tac ggt gca tcc acc ags gcc act ggt atc oca ggc ags ttc agt ggc agt ggg tct ggg aca gag ttc act ctc acc atc tac agc ctg cag tct gag gat ttt gca gtt tat tac tgt caa caa tat aat aac tgg cct cgg ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gfg gag atc aaa
206	AT13-035	軽鎖	tct tct gag ctg act cag gac cct gct gfg tct gfg gcc ttg gga cag aca gtc ags atc aca tgc caa gga gac agc ctc aga agc tat tat gca agc tgg tac cag cag aag oca gga cag gcc cct gta ctt gtc atc tat ggt aaa aac aac cgg ooc tca ggg atc oca gac cga ttc tct ggc tcc agc tca gga aac aca gct tcc tfg acc atc act ggg gct cag ggc gaa gat gag gct gac tat tac tgt aac tcc cgg gac agc agt ggt aac cat gfg gta ttc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta
207	AT13-036	軽鎖	cag tct gcc ctg act cag cct gcc tcc gfg tct ggg tct cct aga cag tgc atc acc atc tcc tgc act gga acc agc agt gac gtt ggt ggt tat aac tat gtc tcc tgg tac caa caa ctc oca ggc aaa gcc oca aaa ctc atg att tat gat gtc aat gat cgg ooc tca ggg gtt tct atf cgc ttc tct ggc tcc aag tct ggc aac acg gcc tcc ctg acc atc tct ggg ctc cag gct gag gac gat gct gat tat tac tgc agc tca tat aca aga agc aac act gfg ata ttc ggc gga ggg acc aaa ctg acc gtc cta
208	AT13-037	軽鎖	gaa ata gfg atg acg cag tct oca gcc acc ctg tct gfg tct oca ggg gaa ags gtc atc ctc tcc tgc ags gcc agt cag agt gtt agc agc aac tta gcc tgg tac cag cag aaa oca ggc cag oca oca agg ctc ctc atc tat ggt gca ttc acg ags gtc act ggt gtc oca gcc ags ttc agt ggc agt ggg tct ggg aca gaa ttc act ctc acc atc agc agc ctg cag tct gaa gat ttt gca gtt tat tac tgt cag cag tac aat gac cgg ooc cgg tac act ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa

10

20

30

40

【表 2 A】

Table 1B. 本発明による好ましい抗AML抗体(Kabatら 1991によるCDRナンバリング)

配列番号	抗体	同一性	配列
209	AT14-013	重鎖 CDR1	SPNWWT
210	AT14-014	重鎖 CDR1	DAWMS
211	AT14-015	重鎖 CDR1	DFAMS
212	AT14-016	重鎖 CDR1	SYAMT
213	AT14-013	重鎖 CDR2	EIYYGGRVSYNSALRS
214	AT14-014	重鎖 CDR2	HINTKVDGGTTEYAAPVKG
215	AT14-015	重鎖 CDR2	FIRTKANDGTTEYAASVKG
216	AT14-016	重鎖 CDR2	SISGCGSTYYADSVRG
217	AT14-013	重鎖 CDR3	AGQKNIGCGYSSCFISWFDT

10

20

30

40

【表 2 B】

218	AT14-014	重鎖 CDR3	TTEAIYDSSGYFHDY
219	AT14-015	重鎖 CDR3	ASDPFMTTDDYYYYMDV
220	AT14-016	重鎖 CDR3	AKGYVCGSGGNCYSGGAFDI
221	AT14-013	軽鎖 CDR1	KSSQTILQRSNHLNYLA
222	AT14-014	軽鎖 CDR1	KSSRSVLYSSNNKNLYLA
223	AT14-015	軽鎖 CDR1	TGTSSDVGGYNSVS
224	AT14-016	軽鎖 CDR1	GGNNIGSESVH
225	AT14-013	軽鎖 CDR2	WASTRES
226	AT14-014	軽鎖 CDR2	WASIRES
227	AT14-015	軽鎖 CDR2	EVYKRPL
228	AT14-016	軽鎖 CDR2	YDTRPS
229	AT14-013	軽鎖	HQYTTPTQT

10

20

30

40

【表 2 C】

		CDR3	
230	AT14-014	軽鎖 CDR3	QQYSRPPT
231	AT14-015	軽鎖 CDR3	SSYGGTVLF
232	AT14-016	軽鎖 CDR3	QVWDNTSDHPVVF
233	AT14-013	重鎖	QGRLLQESGPGLVKPSSETLTLTCAVSGGSSVSPFNWTTWVRQAPGKGLWIGLEIYYGGRVSYNSALRSRVTI SSDRSKEEFSLKLRSVTAADTAIYYCAGQKNIGCGYSSCFISWFDTWGQGIATVYSS
234	AT14-014	重鎖	EVQLVPSGGGLVKPGSLRLSCAASGFTFSDAWMSWVRQAPGKGLWVGHINTKVVDGGTTEYAAAPVKGR FTISRDDSKNSLYLHMDSLKTEDTAVYYCTTEAIYDSSGYFHDIYWGQGLVTVSS
235	AT14-015	重鎖	EVQLVPSGGGLAQGRSLRLSCTASGFRFGDFAMSWVRQAPGKGLWVGFIRTKANDGTTEYAAASVKGRF IISRDDSKSIAYLQMNLSLKTEDTAVYYCASDPFMTDYYYYMDVWKGKTTIVYSS
236	AT14-016	重鎖	EVQVLESGGDSVQPGSLRLSCAASGFTFSSYAMTWVRQAPGKGLKVVSSISGGSTYYADSVRGRFTISR DNSKNLTYVQMNSLRAEDTAVYYCAKGYVCGSGGNCYSGGAFDIWGGQTVTVYSS
237	AT14-013	軽鎖	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIACKSSQTILQRSNHLNVLAWYQQKPGQPPKVLIIYWASTRESGVPDRFSGSG SGTDFTLTINSLQAEDVAVYYCHQYYTTPQTFGGGKVEIK
238	AT14-014	軽鎖	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSRSLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASIRESGVPPDRFSGSG SGTDFTLTINSLQAEDVAVYYCQQYSRPTTFGGGKVEIK
239	AT14-015	軽鎖	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNSVSWYQHHPGKAPKLMYEVYKRPLGVPPDRFSGSKGN TASLTVSGLQAEDAAYYCSSYGGTVLFGGGTKLTVL
240	AT14-016	軽鎖	SYVLTQPPSVAPGKTARITCGGNNIGSEVHWYQQKPGQAPVVVIYYDTRPSGIPERFSGSNSGNTATL TISRVEAGDEADYYCQVWDNTSDHPVVFVGGGKLTIVL

10

20

30

40

【表 2 D】

241	AT14-013	重鎖 CDR1	agt cct aac tgg tgg act
242	AT14-014	重鎖 CDR1	gac gcc tgg atg agc
243	AT14-015	重鎖 CDR1	gat ttt gct atg agt
244	AT14-016	重鎖 CDR1	agc tat gcc atg acc
245	AT14-013	重鎖 CDR2	gaa atc tat tat ggt ggg aga gtg agc tac aac tgc gcc ctc agg agt
246	AT14-014	重鎖 CDR2	cat att aac acc aaa gtt gat ggt ggg aca aca gag tac gct gca ccc gtg aaa ggc
247	AT14-015	重鎖 CDR2	ttc att aga acc aaa gct aat gat ggg aca aca gaa tac gcc gcg tct gtg aaa ggc
248	AT14-016	重鎖 CDR2	agt att agt ggt agt ggt agc aca tac tac gca gac tcc gtg agg ggc
249	AT14-013	重鎖 CDR3	ggg ggt caa aaa aat att ggc tgt ggt tac agc agt ttc atc agt ttc gac acc
250	AT14-014	重鎖 CDR3	acc aca gag geg ata tat gat agt agt ggt tat ttc cat gac tat
251	AT14-015	重鎖 CDR3	gct agc gat ccc tic atg act aca gac tat tac tac tac atg gac gtc

10

20

30

40

【表 2 E】

252	AT14-016	重鎖 CDR3	ggg aaa gga tat gtg ggg tgt agt ggt ggg aac tgc tac teg ggg ggt gct ttt gat atc
253	AT14-013	軽鎖 CDR1	aag tcc agc cag act att tta caa agg tcc aac cat ttg aac tac tta gct
254	AT14-014	軽鎖 CDR1	aag tcc agc cgg agt gtt tta tac agc tcc aac aat aag aac tac tta gct
255	AT14-015	軽鎖 CDR1	act ggg acc agc agt gac gtt ggt ggt tat aac tct gtc tcc
256	AT14-016	軽鎖 CDR1	ggg ggg aac aac att gga agt gaa agt gtt cac
257	AT14-013	軽鎖 CDR2	tgg gca tct acc cgg gaa tcc
258	AT14-014	軽鎖 CDR2	tgg gca tct atc cgg gaa tcc
259	AT14-015	軽鎖 CDR2	gag gtc tat aag cgg ccc tta
260	AT14-016	軽鎖 CDR2	tat gat acc gac cgg ccc tca
261	AT14-013	軽鎖 CDR3	cac caa tat tat act act cgg cag act
262	AT14-014	軽鎖 CDR3	cag caa tat tct cgt cct cgg agg
263	AT14-015	軽鎖	agg tca tat gga ggc acc gtg cta ttc

10

20

30

40

【表 2 G】

270	AT14-014	軽鎖	gac atc gtc atg acc cag tct cca gac tcc ctg gct gtc tct ctg ggc gag agg gcc acc atc aac tgc aag tcc agc cgg agt gtt tta tac agc tcc aac aat aag aac tac tta gct tgg tac cag cag aaa cca gga cag cct cct aag ctg ctc att tac tgg gca tct atc cgg gaa tcc ggg gtc oct gac cga ttc agt ggc agc ggg tct ggg aca gat ttc act ctc acc atc aac agc ctg cag gct gaa gat gtc gca gtt tat tac tgt cag caa tat tct cgt cct ccg acg tic ggc caa ggg acc aag gtc gaa atc aaa
271	AT14-015	軽鎖	cag tct gcc ctg act cag cct ccc tcc gcg tcc ggg tct cct gga cag tca gtc acc atc tcc tgc act ggg acc agc agt gac gtt ggt ggt tat aac tct gtc tcc tgg tac caa cat cac cca ggc aaa gcc ccc aaa ctc atg att tat gag gtc tat aag cgg ccc tia ggg gtc cct gat cgc ttc tct ggc tcc aag tct ggc aac acg gcc tcc ctg acc gtc tct ggg ctg cag gct gat gag gct tat tat tac tgc agc tca tat gga ggc acc gtc cta tic ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta
272	AT14-016	軽鎖	tcc tat gtc ctg act cag cca ccc tca gtc tca gtc gcc cca gga aag acg gcc ggc att acc tgt ggg ggg aac aac atf gga agt gaa agt gtt cac tgg tac cag cag aag cca ggc cag gcc cct gtc gtc gtc atc tat tat gat acc grac cgg ccc tca ggg atc cct gag cgc tic tct ggc tcc aac tct ggg aac acg gcc acc ctg acc atc agc agg gtc gaa gcc ggg gat gag gcc gac tat tac tgt cag gtc tgg gat aac act agt gat cat cct gtc gta tic ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta

10

20

30

40

【表 3】

Table 2

mAbはAMLに特異的である

mAbs		細胞株											初代細胞	
名称	Igクラス	Mel ¹	Mel ²	Mel ³	BJ	FB	Col ¹	Col ²	Col ³	Vero	HUVEC	HepG2	PBMC	BM
AT12-019	IgG1 κ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT13-023	IgG1 κ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT13-031	IgG1 κ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT12-020	IgG3 κ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT12-023	IgG3 λ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT12-025	IgG3 κ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT13-022	IgG3 λ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT13-024	IgG3 κ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Mel¹: Mel 126.2; Mel²: Mel BLM; Mel³: Mel WBO; BJ: 線維芽細胞株 ; FB: 初代線維芽細胞(皮膚); Col¹: Colo205; Col²: Caco-2; Col³: HT29; Vero: 非ヒト腎臓 ; PBMC:末梢血単核細胞; BM:骨髄

10

20

【 0 2 1 9 】

【表 4】

Table 3

強力なGvL反応を有する患者由来のAML特異的mAbの概観(ドナー59)

mAbs				AML		原発AML*				
名称	Igクラス	CD27	SHM V _H /V _L	THP-1	MM6	M0	M1	M1	M1	M4
AT12-019	IgG1 κ	+	10/9	++	+	+	+	++	+/-	-
AT13-023	IgG1 κ	+	8/4	++	+	++	+	-	-	+/-
AT13-031	IgG1 κ	+	1/1	++	+	-	+	-	-	+/-
AT12-020	IgG3 κ	+	4/2	++	+	+	++	++	+/-	++
AT12-023	IgG3 λ	-	生殖系列/6	+++	++	+	++	+	-	-
AT12-025	IgG3 κ	-	1/1	++	++	-	+/-	+	-	-
AT13-022	IgG3 λ	+	生殖系列	++	++	++	++	++	++	++
AT13-024	IgG3 κ	-	6/3	++	++	++	++	++	++	++

MM6: MonoMac6; M0: ドナー 77; M1それぞれドナー69、79、86 ; M4 ドナー 78

*FAB分類によるAML; SHM: 体細胞超変異の数

30

40

【 0 2 2 0 】

【表 5】

Table 4

いくつかのmAbは他の血液腫瘍に結合する

mAbs		他の血液腫瘍細胞株				原発腫瘍	
名称	Igクラス	OCI-Ly1	OCI-Ly7	U266	NCI-H929	NHL pt	ALL pt
AT12-019	IgG1 K	+	-	-	-	-	-
AT13-023	IgG1 K						
AT13-031	IgG1 K	++	+	-	+/-	++	-
AT12-020	IgG3 K						
AT12-023	IgG3 λ	-	-	+/-	-	++	-
AT12-025	IgG3 K	-	-	+	-	-	-
AT13-022	IgG3 λ						
AT13-024	IgG3 K	++	+	-	-	-	-

10

OCI-Ly1 及び OCI-Ly7: びまん性大細胞型B細胞リンパ腫細胞株 ; U266 及び NCI-H929: 多発性骨髄腫細胞株 ; NHL pt: 新規に診断された患者から単離されたばかりのB非ホジキンリンパ腫細胞 ; ALL pt: 新規に診断された患者から単離されたばかりのB急性リンパ性白血病細胞

20

【 0 2 2 1 】

【表 6】

Table 5

いくつかのmAbはインビトロ活性を示す

mAbs				殺傷	
名称	Igクラス	CD27	SHM V _H /V _L	THP-1	M0/5
AT12-019	IgG1 K	+	10/9	no	no
AT13-023	IgG1 K	+	8/4		
AT13-031	IgG1 K	+	1/1		
AT12-020	IgG3 K	+	4/2		
AT12-023	IgG3 λ	-	生殖系列/6	yes	
AT12-025	IgG3 K	-	1/1	yes	yes
AT13-022	IgG3 λ	+	生殖系列		
AT13-024	IgG3 K	-	6/3	no	yes

30

AT13-023、AT13-031、AT12-020及びAT13-022は、インビトロ活性についてまだ試験されていない

40

【 0 2 2 2 】

【表 7】

Table 6

GvL反応を有する第2のAML患者(ドナー58)

mAbs				AML		結合しない			
クローン	CD27	Igクラス	SHM V _H /V _L	THP-1	MM6	PBMC	Caco	HT-29	HepG2
AT13-033	+	IgG3 λ	18/5	++	++	-	-	-	-
AT13-034	+	IgG3 κ	14/6	++	++	-	-	-	-
AT13-035	-	IgG3 λ	0/0	++	++	-	-	-	-
AT13-036	-	IgG3 λ	4/9	++	++	-	-	-	-
AT13-037	+	IgG3 κ	4/8	++	++	-	-	-	-

10

SHM: 体細胞超変異の数

【 0 2 2 3 】

【表 8】

Table 7

強力なGvL反応を有する患者由来の
AML特異的mAbの概観(ドナー101)

mAbs				AML		原発AML*			
名称	Igクラス	CD27	SHM V _H /V _L	THP-1	Molm13	M0	M4	M5 ¹	M5 ²
AT14-013	IgG1 κ	+	26/11	+++	+++	+++	++	+/-	+
AT14-014	IgG3 κ	+	9/6	++	++	-	-	-	-
AT14-015	IgG3 λ	+	9/9	++	-	-	+	-	-
AT14-016	IgG3 λ	+	9/5	++	++	-	+	-	-

30

M1: ドナー 77; M4: ドナー BL-046; M5¹: ドナー BL-034, M5²: ドナー BL-038

*FAB分類によるAML; SHM: 体細胞超変異の数

【 0 2 2 4 】

【表 9】

Table 8

mAbはAMLに特異的である(ドナー101)

mAbs		細胞株				PBMCs				初代細胞
名称	Igクラス	FB	Col	Liv ¹	Liv ²	CD3	CD14	CD19	CD56	胎児肝細胞
AT14-013	IgG1 κ	+/-	-	+/-	-	-	-	-	-	-
AT14-014	IgG3 κ	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT14-015	IgG3 λ	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AT14-016	IgG3 λ	-	-	-	-	-	-	-	-	-

10

FB:初代線維芽細胞(皮膚); Col: Caco-2; Liv¹: Huh7肝細胞株 ; Liv²: HepG2肝細胞株
PBMC:末梢血単核細胞;

【 0 2 2 5 】

20

【表 1 0】

Table9A

強力なGvL反応を有する第2の患者に由来するAML特異的mAbの概観(ドナー58)

mAbs				AML		原発AML*			
クローン	CD27	Igクラス	SHM V _H /V _L	THP-1	MM6	M0	M0	M1	M4
AT13-033	+	IgG3 λ	18/5	++	++	-	-	-	-
AT13-034	+	IgG3 κ	14/6	++	++	+/-	-	-	-
AT13-035	-	IgG3 λ	0/0	++	++	-	-	-	-
AT13-036	-	IgG3 λ	4/9	++	++	-	-	-	-
AT13-037	+	IgG3 κ	4/8	++	++	-	-	-	-

30

MM6: MonoMac6; M0: ドナー 77, BL-030; M1 それぞれドナー69 ; M4 ドナー 78

*FAB分類によるAML; SHM: 体細胞超変異の数

40

【 0 2 2 6 】

【表 1 1】

Table9B

いくつかのmAbはインビトロ活性を示す(ドナー59)

mAbs				殺傷	
名称	Igクラス	CD27	SHM V _H /V _L	THP-1	M1
AT12-019	IgG1 κ	+	10/9	no	no
AT13-023	IgG1 κ	+	8/4	no	nd
AT13-031	IgG1 κ	+	1/1	yes*	nd
AT12-020	IgG3 κ	+	4/2	nd	nd
AT12-023	IgG3 λ	-	生殖系列/6	yes	nd
AT12-025	IgG3 κ	-	1/1	yes	yes
AT13-022	IgG3 λ	+	生殖系列	no	nd
AT13-024	IgG3 κ	-	6/3	no	yes

* 37°Cでのみ ; nd = 決定されず

10

20

【 0 2 2 7】

【表 1 2】

Table10

いくつかのmAbはインビトロ活性を示す(ドナー58)

mAbs				殺傷
クローン	CD27	Igクラス	SHM V _H /V _L	THP-1
AT13-033	+	IgG3 λ	18/5	yes
AT13-034	+	IgG3 κ	14/6	no
AT13-035	-	IgG3 λ	0/0	yes
AT13-036	-	IgG3 λ	4/9	yes
AT13-037	+	IgG3 κ	4/8	yes

30

40

【 0 2 2 8】

(参考文献)

- Bakker AB, van den Oudenrijn S, Bakker AQ, Feller N, van Meijer M, Bia JA, Jongeneelen MA, Visser TJ, Bijl N, Geuijen CA, Marissen WE, Radosevic K, Throsby M, Schuurhuis GJ, Ossenkoppele GJ, de Kruif J, Goudsmit J, Kruisbeek AM. 2004. C-type lectin-like molecule-1: a novel myeloid cell surface marker associated with acute myeloid leukemia. *Cancer Res* 64:8443-50.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C. 1976. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 33:451-458. 10
- Bhat NM, Bieber MM, Hsu FJ, Chapman CJ, Spellerberg M, Stevenson FK, Teng NNH. 1997. Rapid cytotoxicity of human B lymphocytes induced by VH4-34 (VH4.21) gene-encoded monoclonal antibodies. *Clin Exp Immunol* 108: 151-159
- Biernacki MA, Marina O, Zhang W, Liu F, Bruns I, Cai A, Neuberg D, Canning CM, Alyea EP, Soiffer RJ, Brusic V, Ritz J, Wu CJ. 2010. Efficacious immune therapy in chronic myelogenous leukemia (CML) recognizes antigens that are expressed on CML progenitor cells. *Cancer Research* 70:906-915. 20
- Chen Y, Wiesmann C, Fuh G, Li B, Christinger HW, McKay P, de Vos AM, Lowman HB. 1999. Selection and analysis of an optimized anti-VEGF antibody: crystal structure of an affinity-matured Fab in complex with antigen. *J Mol Biol* 293:865-881. 30
- Diehl SA, Schmidlin H, Nagasawa M, van Haren SD, Kwakkenbos MJ, Yasuda E, Beaumont T, Scheeren FA, Spits H. 2008. STAT3-mediated up-regulation of BLIMP1 is coordinated with BCL6 down-regulation to control human plasma cell differentiation. *J Immunol* 180:4805-4815.
- Drexler HG, Minowada J. 1998. History and classification of human leukemia-lymphoma cell lines. *Leuk Lymphoma* 31:305-316. 40
- Hernandez AM, Rodriguez N, Gonzalez JE, et al. Anti-NeuGcGM3 Antibodies, Actively Elicited by Idiotypic Vaccination in Non-small Cell Lung Cancer Patients,

Induce Tumor Cell Death by an Oncosis-Like Mechanism. *J Immunol* 2011;186(6):3735–3744.

Hugh J. M et al, 2004 *Methods in Molecular biology* Vol. 282

Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. *Immunol Reviews*. 2010;233(1):126–145.

10

Kepp O, Galluzzi L, Lipinski M, Yuan J, Kroemer G. Cell death assays for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 2011;1–17.

Kwakkenbos MJ, Diehl SA, Yasuda E, Bakker AQ, Van Geelen CMM, Lukens MV, Van Bleek GM, Widjojoatmodjo MN, Bogers WMJM, Mei H, Radbruch A, Scheeren FA, Spits H, Beaumont T. 2010. Generation of stable monoclonal antibody-producing B cell receptor-positive human memory B cells by genetic programming. *Nat Med* 16:123–128.

20

Majeti R, Chao MP, Alizadeh AA, Pang WW, Jaiswal S, Gibbs KD, Van Rooijen N, Weissman IL. 2009. CD47 is an adverse prognostic factor and therapeutic antibody target on human acute myeloid leukemia stem cells. *Cell* 138:286-299

Schlenk RF, Döhner K, Krauter J, Fröhling S, Corbacioglu A, Bullinger L, Habdank M, Späth D, Morgan M, Benner A, Schlegelberger B, Heil G, Ganser A, Döhner H, German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group. 2008. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 358:1909–1918.

30

Schmid C, Labopin M, Nagler A, Bornhäuser M, Finke J, Fassas A, Volin L, Gürman G, Maertens J, Bordigoni P, Holler E, Ehninger G, Polge E, Gorin N-C, Kolb H-J, Rocha V, EBMT Acute Leukemia Working Party. Donor lymphocyte infusion in the treatment of first hematological relapse after allogeneic stem-cell transplantation in adults with acute myeloid leukemia: a retrospective risk factors analysis and comparison with other strategies by the EBMT Acute Leukemia

40

Working Party. *Journal of Clinical Oncology* 25:4938–4945.

Schmiedel BJ, Werner A, Steinbacher J, et al. Generation and Preclinical Characterization of a Fc-optimized GITR-Ig Fusion Protein for Induction of NK Cell Reactivity Against Leukemia. *Mol Ther.* 2013;21(4):877–886.

Singh R, Cadeddu R-P, Fröbel J, et al. The non-steroidal anti-inflammatory drugs Sulindac sulfide and Diclofenac induce apoptosis and differentiation in human acute myeloid leukemia cells through an AP-1 dependent pathway. *Apoptosis.* 2011;16(9):889–901.

10

Tsuchiya S, Yamabe M, Yamaguchi Y, Kobayashi Y, Konno K, Tada K. 1988. Establishment and characterization of a human acute monocytic leukemia cell line (THP-1). *Int J Cancer* 26:171–176.

20

Walter RB, Appelbaum FR, Estey EH, Bernstein ID. Acute myeloid leukemia stem cells and CD33-targeted immunotherapy. 2012. *Blood* 119: 6198-208.

Willingham SB, Volkmer JP, Gentles AJ, Sahoo D, Dalerba P, Mitra SS, Wang J, Contreras-Trujillo H, Martin R, Cohen JD, Lovelace P, Scheeren FA, Chao MP, Weiskopf K, Tang C, Volkmer AK, Naik TJ, Storm TA, Mosley AR, Edris B, Schmid SM, Sun CK, Chua MS, Murillo O, Rajendran P, Cha AC, Chin RK, Kim D, Adorno M, Raveh T, Tseng D, Jaiswal S, Enger PØ, Steinberg GK, Li G, So SK, Majeti R, Harsh GR, van de Rijn M, Teng NN, Sunwoo JB, Alizadeh AA, Clarke MF, Weissman IL. 2012. The CD47-signal regulatory protein alpha (SIRPα) interaction is a therapeutic target for human solid tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 109:6662-7.

30

Wu CJ, Yang XF, McLaughlin S, Neuberg D, Canning C, Stein B, Alyea EP, Soiffer RJ, Dranoff G, Ritz J. 2000. Detection of a potent humoral response associated with immune-induced remission of chronic myelogenous leukemia. *J Clin Invest* 106:705–714.

40

【 図 1 B 】

AT12-025 (14D3-12D5)

重組

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGW4-24*01 F
IGW4-1*01 F
IGW4*02 F

アミノ酸:
FW1 QVQLVQDQAGLLKPKSETLSLTCAVVGGSPS
CDR1 QYWS
FW2 WIFQPPKGLKLEWIG
CDR2 FTHSGGTWYWPGLK
FW3 RYVYVGTZKQVSLKLSVTAADTAVYVYCAK
CDR3 GSHAFKFTDY
FW4 WQQGTLVTVSS

ヌクレオチド:

FW1 cag gtg cag cta cag cag tgg ggc gca gca ctg ttg aag cct tgg gac acc ctg tcc ctc acc tgc
gct gcc tat ggt ggg tcc ttc agt

CDR1 ggt tat tac tgg agc

FW2 tgg atc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg att ggg

CDR2 gaa atc aat cat agt gga ags acc aac tac aac ccg tcc ctc aag agt

FW3 cga gtc acc ata tca gta gac agc tcc aag aac cag ttc tcc ctg aag ctg agc tct gty acc gcc
ggc gag aag gct gty tat tac tgt gcy aga

CDR3 ggc tca atg gca aga ccc aag cca ttt gac tac

FW4 tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gcc tcc tca

軽組

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGW1-19*01 F
IGW3*01 F

アミノ酸:
FW1 DIGNTQSPFSSLEASVGRVITTC
CDR1 RASQSSRIILH
FW2 WYQQKPKAPKLLIY
CDR2 AASSLQG
FW3 QVRFSPGSGGSDTFTLTISSLPQDFATYTC
CDR3 QQSYSPPT
FW4 FGQTKVDIK

ヌクレオチド:

FW1 gac atc cag atg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct gta gga gac aga gtc acc atc act
tgc

CDR1 cgg gca agt cag agc att agc agy tat tca aat

FW2 tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gcc cct aag ctc ctg atc tat

CDR2 gct gca tcc agt ttg caa agt

FW3 ggg gtc cca tca agg ttc agt ggc agt gga tcc ggg aca gat ttc act ctc acc atc agc agt ctg
caa cct gaa gat ttt gca act tac tac tgt

CDR3 caa cag agt tac agt acc cct cgc acc

FW4 ttc ggc cct ggg acc aaa gty gat atc aaa

【 図 1 C 】

AT13-024 (15H3-10F7)

重組

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGW3-30*02 F
IGW3-22*01 F
IGW3*02 F

アミノ酸:
FW1 QVCLVRSQGVVQVQPSRLRISCAASGPFPS
CDR1 SYQMF
FW2 WYQKPKGLLHWVA
CDR2 FRYVDSNRYFADSVGS
FW3 RPTLRDSNQLVLQMSLRADTAVYVYCAK
CDR3 GQSRIVYVYVYVQWV
FW4 WQQGTLVTVSS

ヌクレオチド:

FW1 cag gtg cag ctg gty gag tct ggg gga ggc ctg gtc cag cct ggg agt tcc ctg aga atc tcc tgt
gca ggc tct gga tcc acc ttc agt

CDR1 agc tac ggc atg cac

FW2 tgg gtc cgc cag gct cca gcc aag ggg ctg gag tgg gty gca

CDR2 LIL ata cgg tat gat gga agt anl aaa tac ttt gca gac ttc gty agy ggc

FW3 cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac cgy ctg ttt ctg caa atg aac agc ctg aga gct
gag gac acc gct gty tat tac tgt

CDR3 ggg aaa gat ccc caa ggg cgt att tat tac tct gac act agt ggt tac ctt gac tac

FW4 tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gcc tcc tca

軽組

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGW1-5*03 F
IGW2*01 F

アミノ酸:
FW1 DIGNTQSPFSSLEASVGRVITTC
CDR1 RASQSSRIILH
FW2 WYQQKPKAPKLLIY
CDR2 AASSLQG
FW3 QVRFSPGSGGSDTFTLTISSLPQDFATYTC
CDR3 QQSYSPPT
FW4 FGQTKVDIK

ヌクレオチド:

FW1 gac atc cag atg acc cag tct cct tcc acc ctg tct gca tct gta gga gac aga gtc acc atc act
tgc

CDR1 cgg gcc agt cag agt att agt agc tgg ttg gcc

FW2 tgg tat cag cag aaa cca ggg aag gcc cct aag ctc ctg atc tat

CDR2 aag ggc tcc agt tta gaa agt

FW3 ggg gtc cca tca agg ttc agt ggc act gga tct ggg aca gaa ttc act ctc acc atc agc agc ctg
cag cct gat gat ttt gca act tac tac tgt

CDR3 caa cag tat aat act tcc ctg tac act

FW4 ttt ggc cag ggg acc aag ctg gag atc aaa

【 図 1 D 】

AT12-019 (1B3-15B2)

重組

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGW3-23*01 F
IGW3-10*01 F
IGW3*02 F

アミノ酸:
FW1 EYHLLSGGGLVDPQGLRLSCAASGPFPS
CDR1 SYAMS
FW2 WYQKPKGLLHWVA
CDR2 TIRASGGSTYAMSVEG
FW3 RPTLRDSNQLVLQMSLRADTAVYVYCAK
CDR3 GQSRIVYVYVYVQWV
FW4 WQQGTLVTVSS

ヌクレオチド:

FW1 ggg gty cag ctg ttg gag tct ggg gga ggg ttg gta agc cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgt
gca gcc tct gga ttc acc ttt agc

CDR1 agc tac gcc atg agt

FW2 tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gty gca

CDR2 act att agy gct agt ggt ggt agc aca agc tac gca gac tcc gty aag ggc

FW3 ggg ttc acc atc tcc aga gac aat tcc acc agc agt ttg tat ctg cca atg aac agt ctg aca gcc
gag gcc agy gtc tat tac tgt gcy aaa

CDR3 tct cct gct atg att cgg gga gtt ags ggg ggt gac tac ttt gac tac

FW4 tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gcc tcc tca

軽組

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGW1-8*01 F
IGW2*01 F

アミノ酸:
FW1 ATRVQSPFSSLEASVGRVITTC
CDR1 RASQSSRIILH
FW2 WYQQKPKAPKLLIY
CDR2 ATSTLQG
FW3 QVRFSPGSGGSDTFTLTISSLPQDFATYTC
CDR3 QQSYSPPT
FW4 FGQTKVDIK

ヌクレオチド:

FW1 gac atc cag atg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tct cca gga gac aga gtc acc atc act
tgc

CDR1 cgg gcy agt cag gct ttt ggc agt tat tta gcc

FW2 tgg tat cag caa aaa cca ggg aaa gcc cct aac ctg ctg atc tac

CDR2 gct aca tcc act ttg caa ggt

FW3 ggg gtc cca tca agg ttc agc ggc agt gga tcc ggg aca gat ttc act ctc acc atc agc aac ctg
cag tct gaa gat ttt gca act tac tac tgt

CDR3 caa cag tat tat agt tac cct ccy act

FW4 ttt ggc cag gga acc aag ttg gag atc aaa

【 図 1 E 】

AT13-022 (8H11-6P4)

重組

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGW3-30*02 F
IGW3-15*01 F
IGW3*02 F

アミノ酸:
FW1 QVCLVRSQGVVQVQPSRLRISCAASGPFPS
CDR1 SYQMF
FW2 WYQKPKGLLHWVA
CDR2 ISYDSSNRYFADSVGS
FW3 RPTLRDSNQLVLQMSLRADTAVYVYCAK
CDR3 GQSRIVYVYVYVQWV
FW4 WQQGTLVTVSS

ヌクレオチド:

FW1 cag gtg cag ctg gty gag tct ggg gga ggt ctg gtc cag cct ggg agt tcc ctg aga atc tcc tgt
gca ggc tct gga tcc acc ttc agt

CDR1 agc tac ggc atg cac

FW2 tgg gtc cgc cag gct cca gcc aag ggg ctg gag tgg gty gca gtt

CDR2 ata tca tat gat gga agt aat aaa tac tat gca gac tcc gty aag ggc

FW3 cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac agc ctg tat ctg caa atg aac agc ctg aga gct
cag gac acc gct gty tat tac tgt gcy aaa

CDR3 gat ggg aag ggg att gta gtt akt tac tac tac gac atg gac gtc

FW4 tgg ggc caa ggg acc agy gtc acc gcc tcc tca

軽組

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGW3-14*01 F
IGW2*01 F

アミノ酸:
FW1 SYRIRGPRFVSVSPQVFASTTC
CDR1 SQRKLEAYAC
FW2 WYQQKPKAPKLLIY
CDR2 QDSKRRS
FW3 QVRFSPGSGGSDTFTLTISSLPQDFATYTC
CDR3 QAWSSVVP
FW4 GQSTKLVIVL

ヌクレオチド:

FW1 tcc tat gag ctg act cag cca ccc tca gty tcc gty tcc cca gga cag aca gcc cgc atc acc tgc
gca ggc tct gga tcc acc ttc agt

CDR1 tcc gga gat aaa ttg ggg gat aaa tat gct gty

FW2 tgg tat cag cag aag cca gcc agc tcc cct gty ctg gtc atc tat

CDR2 caa gat agc aag cgg ccc tca

FW3 ggy atc ctc gag cya ttc tct ggc tcc aac tct ggg aac aca gcc act ctg acc atc agc ggg acc
cag gct atg gat gag gct gat tat tac tgt

CDR3 cag gcy tgg gtc agc agc act gty gta ttc

FW4 ggc gga ggg acc aag ctg acc gcc tca

【 図 1 F 】

AT13-023 (1907-8L15)

重組

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGHV4-34*01 F
IGHD2-2*01 F
IGHJ4*02 F

アミノ酸:
FW1 QVQLQQGAGLAKPSETLSITCAVVGGSFS
CDR1 QYFVY
FW2 NIRQPFKGLRWIG
CDR2 RTYHSQYNYWPSLQ
FW3 RYVLEVDTSQDQSLRANSTADTAVYYCAR
CDR3 GLNSFFDY
FW4 WQQQLTVVSS

ヌクレオチド:

FW1 cag gta cag cta cag cag tgg ggc gca gga ctg ttg aag cct tgg gag acc ctg tcc ctc acc tgc
gct gtc tat ggt ggg tcc ttc agt

CDR1 ggt tac ttc tgg acc

FW2 tgg atc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg att ggg

CDR2 gaa acc gtt cat agt gga ggc acc aac tac aac ccc tcc ctc aag agt

FW3 cga gtc acc ata tca gtc gac agc tcc aag aac cag ttc tcc ctg agt cgg aac tct gtc acc gcc
ggg gac acg gct gtc tat tac tgc tgg aga

CDR3 ggc ctt aac agc ccc ttt gac tac

FW4 tgg ggc cag gga acc cta gtc acc gtc tcc tca

経路

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGHV1-17*01 F
IGHJ1*01 F

アミノ酸:
FW1 DITMTGSPSSLSASVGDRTVITC
CDR1 RASQITRNLG
FW2 WYQKPKAKRLLY
CDR2 RASLSQS
FW3 GYVSRHSGSGSFTFPIITLISLQEDVFTYYC
CDR3 LQNSRPRC
FW4 FQQTSLIK

ヌクレオチド:

FW1 gac atc cag atg acc cag tct cca tcc tcc ctg tcc gca tct gca gga gac aga gcc acc atc
act tgc

CDR1 cgg gca agt cag gcc att aga aat gtt tta gcc

FW2 tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gcc cct aag tgc ctg atc tat

CDR2 gct gca tcc agt ttg caa agt

FW3 ggg gtc cca tca agg ttc agc ggc agt gaa tct ggg aca gaa ttc act ctc aca acc agc agc
cag cct gaa gat ttt gca act tac tac tgc

CDR3 cta cag cat aat agt cac ccc cgt acc

FW4 ttc ggc caa ggg acc aag gtc gaa atc aaa

【 図 1 G 】

AT13-031 (606-2I10)

重組

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGHV4-34*01 F
IGHD6-6*01 F
IGHJ4*02 F

アミノ酸:
FW1 QVQLQQGAGLAKPSETLSITCAVVGGSFS
CDR1 QYFVY
FW2 NIRQPFKGLRWIG
CDR2 NINHSSTWYINPSLS
FW3 RYVLEVDTSQDQSLRANSTADTAVYYCAR
CDR3 GPRGMYSSSCDY
FW4 WQQQLTVVSS

ヌクレオチド:

FW1 cag gtc cag cta cag cag tgg ggc gca gga ctg ttg aag cct tgg gag acc ctg tcc ctc acc tgc
gct gtc tat ggt ggg tcc ttc agt

CDR1 ggt tac ttc tgg acc

FW2 tgg atc cgc cag ccc cca ggg aag ggg ctg gag tgg att ggg

CDR2 gaa acc aat cat agt gga agc acc aac tac aac ccc tcc ctc aag agt

FW3 cga gtc acc ata tca gtc gac agc tcc aag aag cag ttc tcc ctg aag ctg agc tct gtc acc gcc
ggg gac acg gct gtc tat tac tgc tgg aga ggc

CDR3 ccc cgg ggc atg tat agc agc tgg tcc ggg gac tac

FW4 tgg ggc cag gga acc cta gtc acc gtc tcc tca

経路

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGHV1-17*01 F
IGHJ1*01 F

アミノ酸:
FW1 DITMTGSPSSLSASVGDRTVITC
CDR1 RASQITRNLG
FW2 WYQKPKAKRLLY
CDR2 RASLSQS
FW3 GYVSRHSGSGSFTFPIITLISLQEDVFTYYC
CDR3 LQNSRPRC
FW4 FQQTSLIK

ヌクレオチド:

FW1 gac atc cag atg acc cag tct cca tcc tcc ctg tcc gca tct gca gga gac aga gtc acc atc acc
act tgc

CDR1 cgg gca agt cag gcc att aga aat gat tta gcc

FW2 tgg tat cag cag aaa cca ggg aaa gcc cct aag cgc ctg atc tat

CDR2 gct gca tcc agt ttg caa agt

FW3 ggg gtc cca tca agg ttc agc ggc agt gaa tct ggg aca gaa ttc act ctc aca acc agc agc ctg
cag cct gaa gat ttt gca act tac tac tgc

CDR3 cta cag cat aat agt tac cct cgt acc

FW4 ttt ggc cag ggg acc aag ctg gac atc aaa

【 図 1 H 】

AT12-020 (1B3-13CB)

重組

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGHV3-23*01 F
IGHD1-26*01 F
IGHJ6*03 F

アミノ酸:
FW1 SYGLVESGGGLYFKGSLRSLCAASGPFPS
CDR1 TFSMR
FW2 WYRQKPKAKRLLY
CDR2 SLSSSSGYIYASVKG
FW3 RFTISHNANRSLYKNSLRADTAVYYCAR
CDR3 DQFQYVYDQV
FW4 WSSGFTVYSS

ヌクレオチド:

FW1 gag gta cag ctg gtc ggt tct ggg gga ggc ctg gtc aag cct ggg ggg tcc ctg aga ctc tcc tgc
gca gcc tct gga ttc acc ttc agt

CDR1 acc tat agc atg acc

FW2 tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtc tca

CDR2 tcc att agt agt agt agt ggt tac ata tac cca gca gac tca gtc aag ggc

FW3 cga ttc acc atc tcc aga gac aac gcc aac tca ctg tat ctg caa atg aac agc ctg aga gcc
gag gac acg gct gtc tat tac tgc tgg aga

CDR3 gat ggg act ttc tcc tac tac tac tac atg gac gtc

FW4 tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca

経路

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGHV1-6*01 F
IGHJ1*01 F

アミノ酸:
FW1 AIPMTGSPSSPAGTGDRTVITC
CDR1 RASQITRNLG
FW2 WYQKPKAKRLLY
CDR2 AASTLQS
FW3 GYVSRHSGSGSFTFPIITLISLQEDVFTYYC
CDR3 DQFQYVYDQV
FW4 FQQTSLIK

ヌクレオチド:

FW1 gcc atc cgg atg acc cag tct cca tcc tcc ttc tcc gca tct aca gga gac aga gtc acc atc acc
tgt

CDR1 cgg gty agt cag gat att agc agt tcc tta gcc

FW2 tgg tat cag caa aaa cca ggg aaa gcc cct aag ctg ctg atc tat

CDR2 gct gca tcc act ttg caa agt

FW3 gga gtc cca tca agg ttc agc ggc agt gga tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc tgc ctg
cag tct gaa gat ttt gca act tac tac tgc

CDR3 caa cag tat tat agt tac cct cgg agc

FW4 ttc ggc caa ggg acc agt tca gaa atc aaa

【 図 1 I 】

AT13-033 (7H10-2A6)

重組

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGHV3-3C*03 F
IGHD4-23*01 ORF
IGHJ6*02 F

アミノ酸:
FW1 QVQLVESGGGVQFQSRSLRSLCAVSGLSFR
CDR1 RYQMI
FW2 WYRQKPKAKRLLY
CDR3 VISHSQKTYGHSVKG
FW3 RYVLEVDTSQDQSLRANSTADTAVYYCAR
CDR3 AGLIYKSLRSLYVYDQV
FW4 WQQQLTVVSS

ヌクレオチド:

FW1 cag gtc cag ctg gtc ggt tct ggg gga ggc ctg gtc acc cct ggg agc tcc ctc aga ctc tcc tgc
gca gcc tct gga ctc agt ttc agc

CDR1 aat tat ggc atg cac

FW2 tga gtc cgc cag gct ccc agc aag gga ctg gag tgg gtc gca

CDR2 gtc att tcy cat gat gga agt aag aca tac tat gga ccc tcc ctg aag ggc

FW3 cga ttc acc ata tca agc gac aca tcc aag act atg ttg ttt ctc caa atg aac agc ctg aga cct
gag gac acg gct gtt tat tac tgc tgg aga

CDR3 gcc ggg ttg aac tac tat gga sac cta tta tca aac tcc tcc tac tac gca atg gac gtc

FW4 tgg ggc caa ggg acc aca gtc acc gtc tcc tca

経路

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGHV2-8*01 F
IGHJ2*01 F

アミノ酸:
FW1 QSALRQFSAASQFQGSYVITC
CDR1 WYVSRSLQGYVYS
FW2 WYQKPKAKRLLY
CDR2 SYVRSQ
FW3 GYVSRHSGSGSFTADTAVSGLRARDCAHYTC
CDR3 SSYASNDLL
FW4 FQQTSLIK

ヌクレオチド:

FW1 cag tct gcc ctg act cag cct ccc tcc ggc tcc ggg tct cct ggt cag tca ggc acc atc tcc tgc
tgt

CDR1 act ggg acc agc agt gac att ggt ggt tat aac tat gtc tcc

FW2 tgg tac caa cac cac cca ggc aaa gcc ccc aaa ttg atg att tat

CDR2 gag gtc act aag cgg ccc tca

FW3 ggg gtc cct gat agt ttc tcc ggc tcc aag tct ggc aac agc gcc tcc ctc acc gtc tct gga ctc
cag gct gag gat gag gct cat tat tcc tgc

CDR3 agc tca tat gca ggc agc aac gat ttg cta

FW4 tcc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc ctg

【 図 1 J 】

AT13-034 (2H10-4F9)

遺伝

以下の遺伝子セグメントからの置換え：
IGHV3-3*01 F
IGHD2-15*01 F
IGHJ4*02 F

アミノ酸：
Fw1 GVHLVDSGGGWFQPC7SLRLSCAASBPTFS
CDR1 SBIIS
Fw2 WYQAFKGLDHYA
CDR2 LHWYDGNKYVADSVK
Fw3 RPTTSDNSNNTLWQMLKAEADTAVYIC
CDR3 ARDQCTGGSCCYFDN
Fw4 WQQQLTVVSS

ヌクレオチド：
Fw1 cag gtg cac ctg gtg ggg tcc ggg gga ggc gtc cag cct ggg acc tcc ctg aga ctc tcc tgt
gca ggc tcc gaa ttc acc ttc agc

CDR1 tcc cat ggc ata cac

Fw2 tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggc ctg gag tgg gtc gca

CDR2 ctt ata tgg tat gat gga agt aat aat tat tat gca gac tcc gtc aag ggc

Fw3 cga ttc acc atc tcc aga gac agt tcc aag aac aag gtc cat ctg caa atg aac agc ctg aga gtc
gag gac acg gct gtc tat tac tgt

CDR3 gog aga gat ggt tgt act ggt ggt agc tgc tgc tat ttt gac aac

Fw4 tgg ggc cag gga acc cta gtc acc gtc tcc tog

翻訳

以下の遺伝子セグメントからの置換え：
IGHV3-15*01 F
IGHJ4*01 F

アミノ酸：
Fw1 EVNMTQFATLWVSEGERATLSC
CDR1 RASQIISNLI
Fw2 WYQAFKGLDHYA
CDR2 QAKSTPT
Fw3 QIFQRFSSSSGQTEPTLWYSLQSEDFAVYIC
CDR3 QQINMRFELT
Fw4 FQQQTVVSK

ヌクレオチド：
Fw1 gaa gta gta atg aag cag tcc cca ggc acc ctg tct gtc ttc cca ggg gaa aga gcc acc ctc tcc
tgc

CDR1 agg gtc agt cag agt att agc aac aac tta ggc

Fw2 tgg tat cag cac aaa cct ggc aag gct ccc agc ctc ctc atc tac

CDR2 ggt gca tcc acc agc gcc act

Fw3 ggt acc cca ggc agt ttc agt ggc agt ggg tcc ggg aca gag ttc acc atc acc atc tac agc ctg
cag tct gag gat ttt gca gtc tat tac tgt

CDR3 caa caa tat aat aac tgg oct cgg ctc act

Fw4 ttc ggc gga ggg acc aag gtc gag atc aca

【 図 1 K 】

AT13-035 (19C7-2F8)

遺伝

以下の遺伝子セグメントからの置換え：
IGHV3-3*03 F
IGHD3-10*01 F
IGHJ4*02 F

アミノ酸：
Fw1 QVQLVDSGGGWFQGRSLRLSLSAASGPTFS
CDR1 SYQKH
Fw2 WYQAFKGLDHYA
CDR2 WYDGNKYVADSVK
Fw3 RPTTSDNSNNTLWQMLKAEADTAVYIC
CDR3 ARDQCTGGSCCYFDY
Fw4 WQQQLTVVSS

ヌクレオチド：
Fw1 cag gtc cag ctg gtc ggg tcc ggg gga ggc gtc cag cct ggg agt tcc ctg aga ctc tcc tgt
gca ggc tcc gaa ttc acc ttc agc

CDR1 agc tat ggc atg cac

Fw2 tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggc ctg gag tgg gtc gca

CDR2 gtt ata tcc tat gat gga agt aat aaa tac tac gca gac tcc gtc aag ggc

Fw3 cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac aag ctg tat ctg caa atg aac agc ctg aga gct
gag gac acg gct gtc tat tac tgt

CDR3 gog aca gat tgg tat tac tat ggt tog ggg aga cga tgg gac tac tcc gac tac

Fw4 tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gtc tcc tca

翻訳

以下の遺伝子セグメントからの置換え：
IGHV3-19*01 F
IGHJ4*01 F

アミノ酸：
Fw1 SSRLVDDPFAVSVAGOTVRLTC
CDR1 QGSLSEYVAS
Fw2 WYQAFKGLDHYA
CDR2 QAKSTPT
Fw3 GIDRFSSSSGQTEPTLWYSLQSEDFAVYIC
CDR3 MSYDSSRHVV
Fw4 FQQQTVVTL

ヌクレオチド：
Fw1 tcc tcc gag ctg act cag gac cct gct gtc ttc gtc ggc ttg gga cag aca gtc agt atc aca tgc

CDR1 caa gga gac agc ctc gga agc tat tat gca agc

Fw2 tgg tac cag cag aag cca gga cag ggc cct gta ctt gtc atc tat

CDR2 ggt aaa aac aac cgg ccc tca

Fw3 ggg acc cca gac cga ttc tcc ggc tcc agc tca gga aac aca gct tcc ttg acc atc act ggg gct
cag gca gaa gat ggc gct gac tat tac tgc

CDR3 aac tcc cgg gac agt ggt aac cat gtc gta

Fw4 ttc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta

【 図 1 L 】

AT13-036 (12C2-5F6)

遺伝

以下の遺伝子セグメントからの置換え：
IGHV3 21*01 F
IGHD5-24*01 ORF
IGHJ4*02 F

アミノ酸：
Fw1 EVQLVDSGGGLVFKQGLSLRLSCAASGPTFS
CDR1 SYQKH
Fw2 WYQAFKGLDHYA
CDR2 SLSSTWYIYADSVK
Fw3 RPTTSDNSNNTLWQMLKAEADTAVYIC
CDR3 ARDQCTGGSCCYFDY
Fw4 WQQQLTVVSS

ヌクレオチド：
Fw1 gng gtg cag ctg gtc ggg tcc ggg gga ggc gtc cag cct ggg acc tcc ctg aga ctc tcc tgt
gca ggc tcc gaa ttc acc ttc agt

CDR1 agt tat agc atg aac

Fw2 tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggc ctg gag tgg gtc tca

CDR2 tcc att agt aat agt aat act tac ata tac tac gca gac tca gtc aag ggc

Fw3 cga ttc acc atc tcc aga gac aac gcc agg aac tca ctg tat ctg caa atg aac agc ctg aga gtc
gag gac acg gct gtc tat tac tgt

CDR3 gog aga ggc ggt gga gat agt gga gat gac laa agt lit lac ccc ggg gga tac cac tac ggt atg
gac gtc

Fw4 tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca

翻訳

以下の遺伝子セグメントからの置換え：
IGHJ2-11*01 F
IGHJ4*01 F

アミノ酸：
Fw1 QSALTQFASVSGSPQGITISIC
CDR1 TQTSDDWQYNYVS
Fw2 WYQAFKGLDHYA
CDR2 DWNDRES
Fw3 GVETRFPSQSKDQNTASLITSLQAEADTAVYIC
CDR3 SSITFRMNTV
Fw4 FQQQTVVTV

ヌクレオチド：
Fw1 cag tcc ggc ctg act cag cct gcc tcc gtc tct gtc tct gtc act aga cag tgg etc acc atc tcc tgc

CDR1 act gga acc agc agt gac gtt ggt ggt tat aac tat gtc tcc

Fw2 tgg tac caa caa ctc cca ggc aac gcc acc caa ctc atg att tat

CDR2 gat gtc aat gat ggc ccc tca

Fw3 ggg gtt tct att agc ttc tcc ggc tcc aag tcc gac tcc aac acc ggc acc tcc gtc acc atc tcc ggg ctc
cag gct ggg gac gac ggt gat tat tac tgc

CDR3 agc tca tat aca agt agc aac act gtc aca

Fw4 ttc ggc gga ggg acc aaa ctg acc gtc cta

【 図 1 M 】

AT13-037 (3G11-5B3)

遺伝

以下の遺伝子セグメントからの置換え：
IGHV3-35*01 F
IGHD5-12*01 F
IGHJ4*02 F

アミノ酸：
Fw1 QVQLVDSGGGWFQGRSLRLSLSAASGPTFS
CDR1 SYQKH
Fw2 WYQAFKGLDHYA
CDR2 WYDGNKYVADSVK
Fw3 RPTTSDNSNNTLWQMLKAEADTAVYIC
CDR3 ARDQCTGGSCCYFDY
Fw4 WQQQLTVVSS

ヌクレオチド：
Fw1 cag gtc cag ctg gtc ggg tcc ggg gga ggc gtc cag cct ggg agt tcc ctg aga ctc tcc tgt
gca ggc tcc gaa ttc acc ttc agt

CDR1 acc tat ggc atg cac

Fw2 tgg gtc cgc cag gct cca ggc aag ggc ctt gag tgg gtc gca

CDR2 gtt ata tgg tat gat gga agt aat aca tac tac gca gac tcc gtc aag ggc

Fw3 cga ttc acc atc tcc aga gac aat tcc aag aac aca ctg tat ctg caa ata aag agc ctg aga gct
gag gac acg gct gtc tat tac tgt

CDR3 gog aga ggc ggt gga tat agt gca caa gaa aat cgg aat agt gct tac tcc ttt gac tca

Fw4 tgg ggc cag gga acc ctg gtc acc gcc tcc tca

翻訳

以下の遺伝子セグメントからの置換え：
IGHV3-15*01 F
IGHJ2*01 F

アミノ酸：
Fw1 LQVHSGEATLWVSEGERVILSC
CDR1 KASVSVSNLIA
Fw2 WYQAFKGLDHYA
CDR2 QAKSTPT
Fw3 GVETRFPSQSKDQNTASLITSLQAEADTAVYIC
CDR3 SSITFRMNTV
Fw4 FQQQTVVTK

ヌクレオチド：
Fw1 gaa ata gtc atg acg cag tct cca gcc acc ctg tct gtc tcc caa ggg gaa agt gtc atc ctc tcc
tgc

CDR1 agg gcc agt cag agt gtt agc agc aac tta gcc

Fw2 tgg tac cag cag aaa oct ggc cag oct ccc agc ctc ctc atc tac

CDR2 ggt gca ttc aag agc gtc act

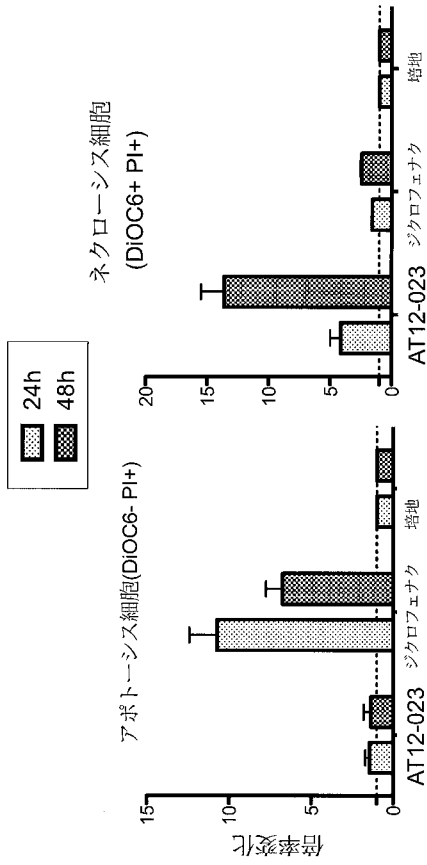
Fw3 ggt gtc cca gcc agt ttc agt ggc agt ggg tcc ggg aca gaa ttc act ctc acc atc agc agc ctg
cag tcc gaa gat tcc gca gtt tat tac tgt

CDR3 cag cag tac aat gac ggc ccc ccg tac act

Fw4 ttt ggc cag gga acc aag ctg gag atc aaa

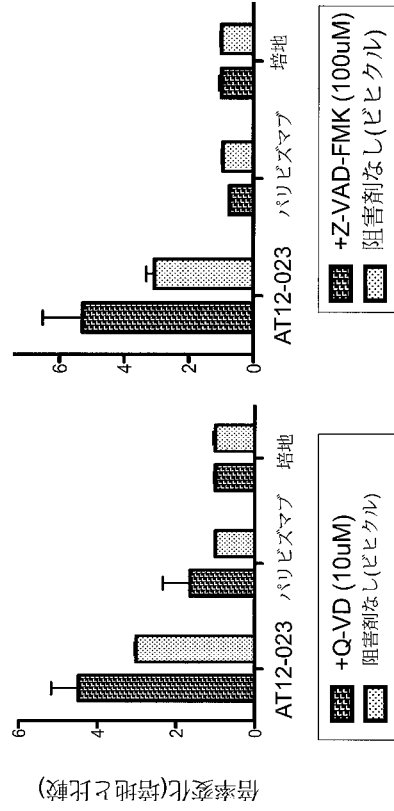
【 図 1 7 B 】

細胞毒性抗体はアポトーシスを誘導しない



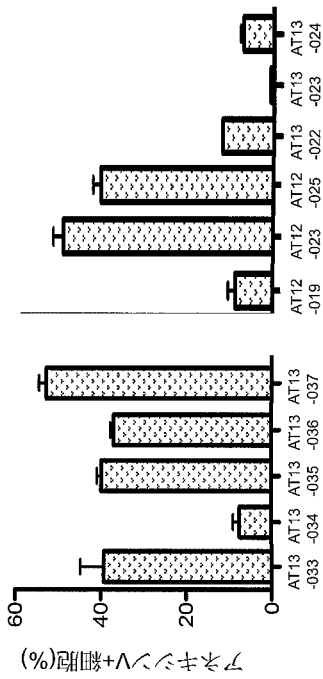
【 図 1 7 C 】

カスパーゼの阻害は細胞死を遮断しない



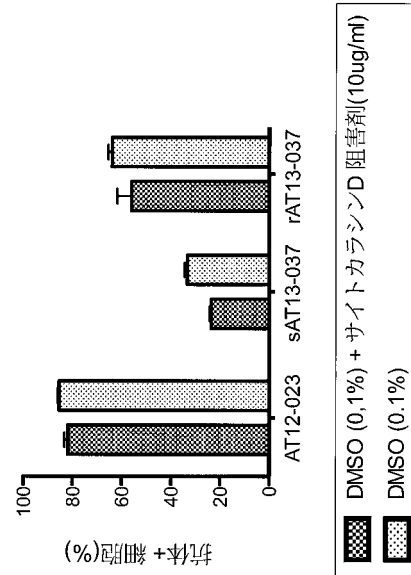
【 図 1 8 】

細胞死は受動的である。4℃でも生じる



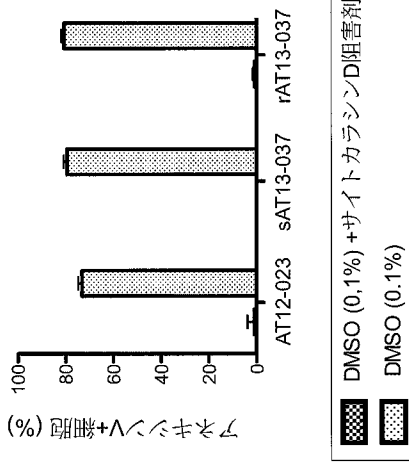
【 図 1 9 A 】

サイトカリンDは抗体の標的細胞膜に対する結合を阻害しない



【 図 1 9 B 】

細胞死は標的細胞膜の安定化により阻害される



【 図 1 A 】

AT12治療剤AML抗体パネル1

NR:NB:Kabat5 (1991)によるCDRサンパリング

AT12-023 (1102-22C11)

重鎖

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGHV4-34*01 F
IGHD2-2*01 F
IGHD6*03 F

アミノ酸:

Fw1 CVLQGGAGGALLKFSKSLSLTCAVYGGSPS
CDR1 QVYMS
Fw2 NLRQFFKOLEWIG
CDR2 ELINSGSTNPLES
Fw3 RVTIQVDTGKQFSLKLSVTAADTAVYTCAR
CDR3 GRSTSPFLDYTYIMGV
Fw4 NAGSTVTVYSS

ヌクレオチド:

Fw1 CAG GTG CAG CTA CAG CAG TGG GGC GCA GGA CTG TGG AAG COT TCG GAG ACC CTG TCC CTC ACC TGC
GTC GTC TAT GGT GGG TCC TTC AGT

CDR1 GGT TAC TAC TGG AGC

Fw2 TGG ATC GGC CAG CCC CCA GGG AAG GGG CTG GAG TGG ATT GGG

CDR2 GAA ATC AAT CAT AGT GGA AGC ACC AAC TAC AAC CCG TCC CTC AAG AGT

Fw3 GGA GTC ACC ATA TCA GTA GAC ACG TCC AAG AAC CAG TTC TCC CTG AAG CTC TCT GTG ACC GCC
GGG GAC ACG GCT GGG TAT TCC TGT GCG AAG

CDR3 GGC GGT AGT ACC AGC CCG CTC GAC TAC TAC TAC TAC TAG TAC AAG GAC GTC

Fw4 TGG GGC AAA GGG ACC ACG GTC ACC GTC TCC TCA

軽鎖

以下の遺伝子セグメントからの組換え:
IGLV3-19*01 F
IGLJ3*02 F

アミノ酸:

Fw1 SSEIQQDPAVSVALQQTFRITC
CDR1 GQDFEYFFYS
Fw2 NYQQSFGQAVLVIF
CDR2 GRNRPFS
Fw3 GLEFDFSSSSQNTASLTITGAAQEDADYTC
CDR3 HNRSSGNLIV
Fw4 FGQGTSLTIVL

ヌクレオチド:

Fw1 TCT TCT GAG CTG ACT CAG GAC COT GCT GTG TCT GTG GCG TTG GGA CAG ACA GTC AGG ATC ACA TGC
CDR1 CAA GGA GAC TTC CTC AGA AGC TAT TAT GCA AGC

Fw2 TGG TAC CAG CAG AAG CCA GGA CAG GCC COT GTA CTT GTC ATC TTT

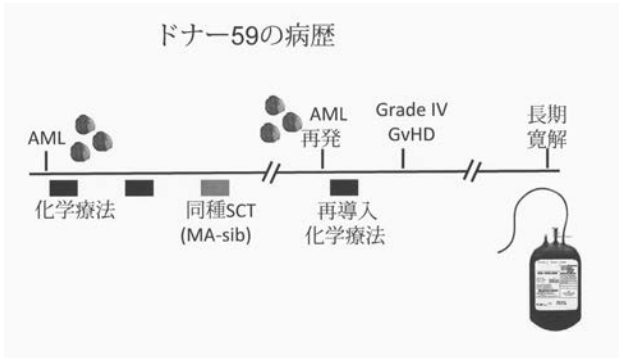
CDR2 GGT AAA AAC AAG CAG CCC TCA

Fw3 GGG ATC CCA GAC CGA TTC TCT GGC TCC AGC TCA GAA AAC ACA GGT TCC TTG ACC ATC ACT GGG GCT
CAG GCG GAA GAT GAG GCT GAC TAT TAC TGT

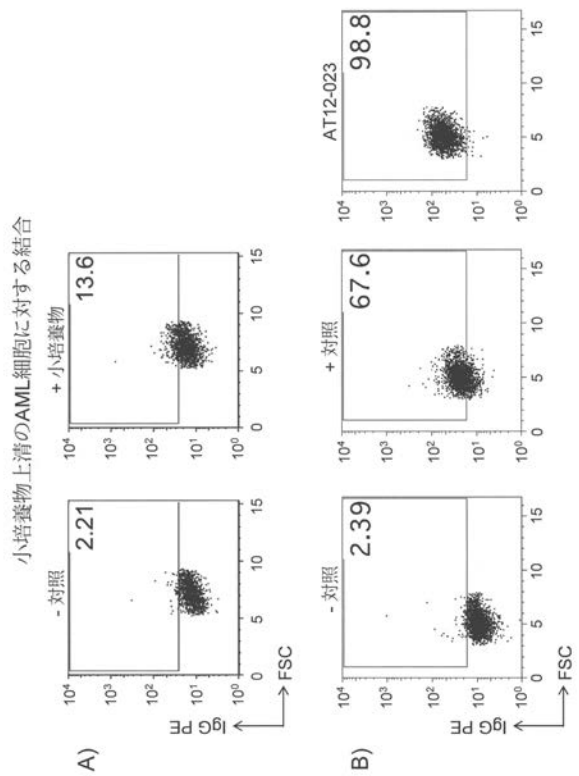
CDR3 AAC TCC CCG GAC CCG AGT GGT AAC CAC CTG GTG

Fw4 TTC GGC GGA GGG ACC AAG CTG ACC GTC CTA

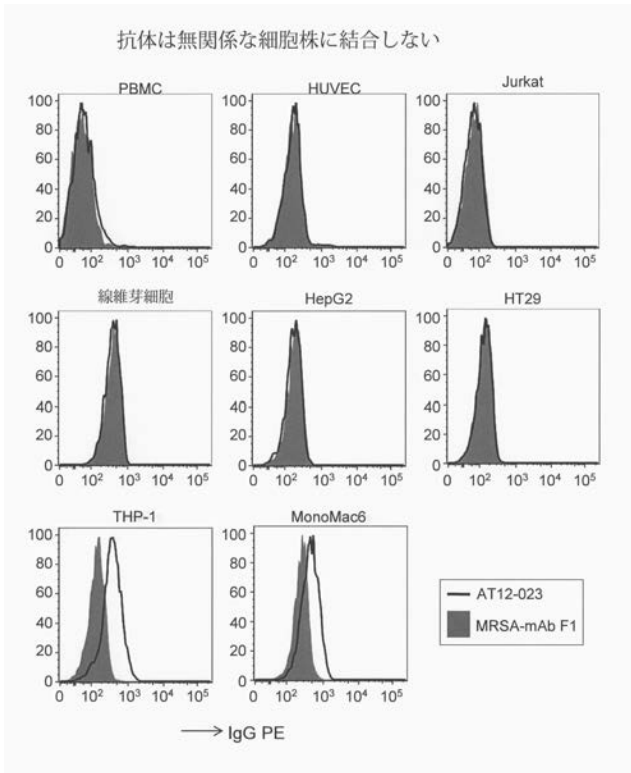
【 図 2 】



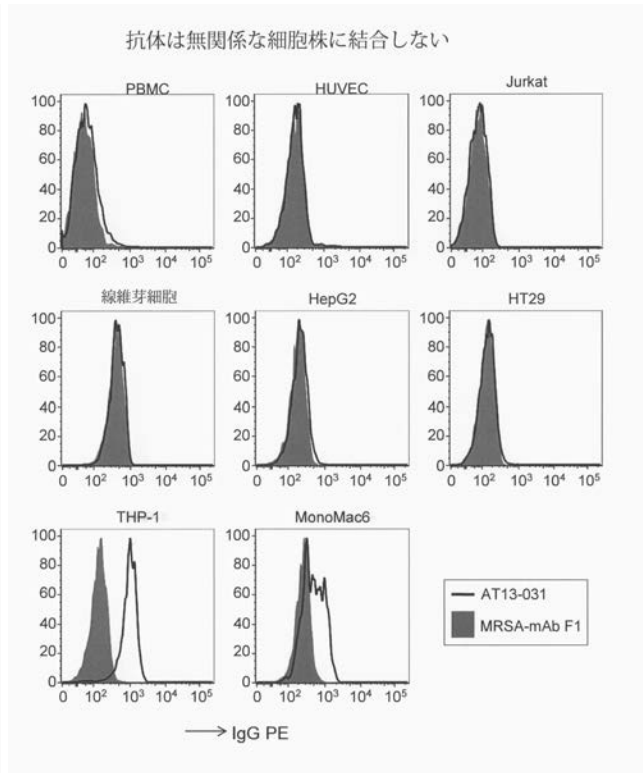
【 図 3 】



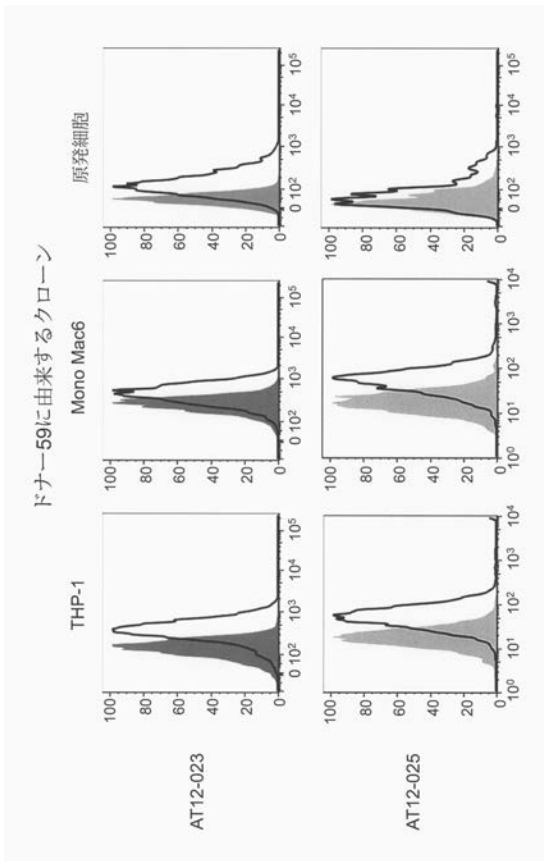
【 図 4 A 】



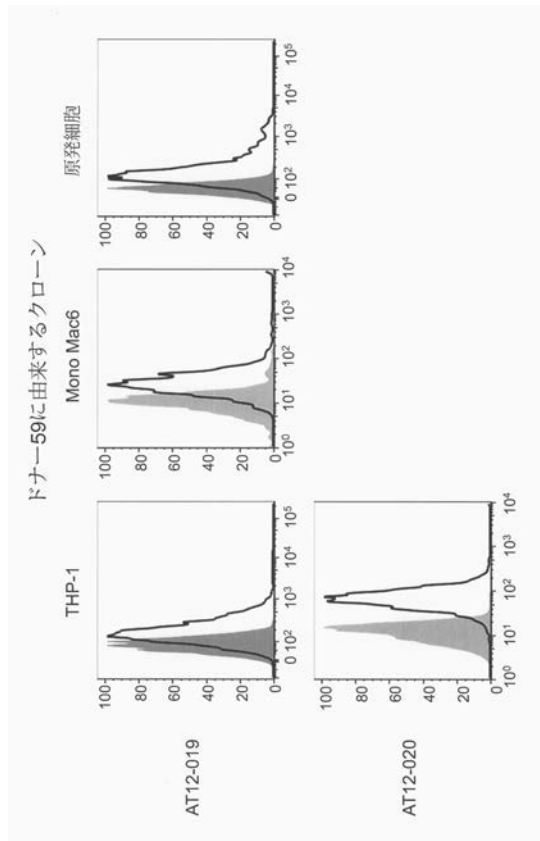
【 図 4 B 】



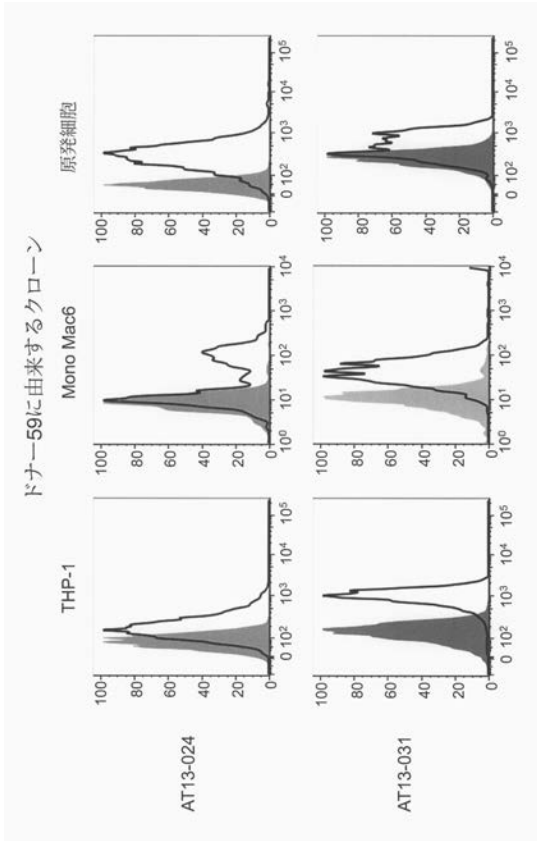
【 図 5 A 】



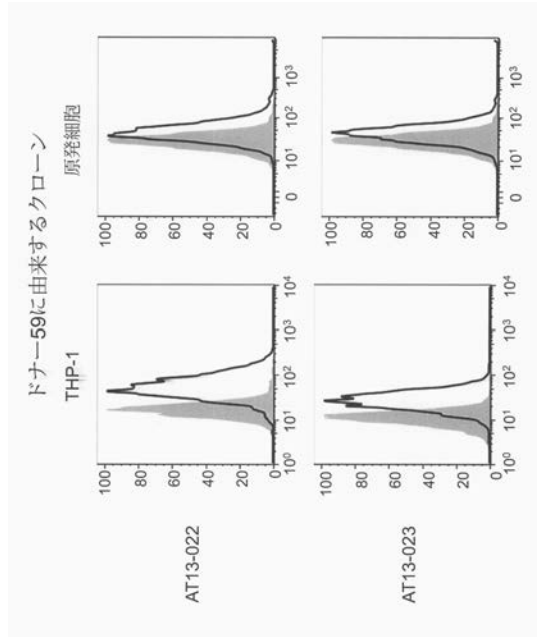
【 図 5 B 】



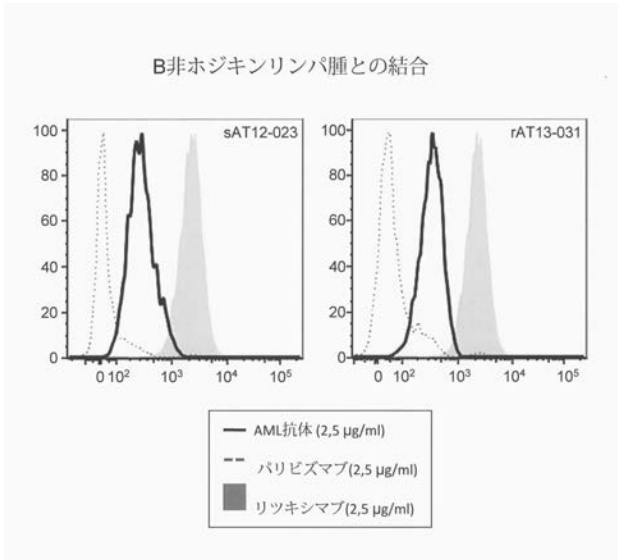
【 図 5 C 】



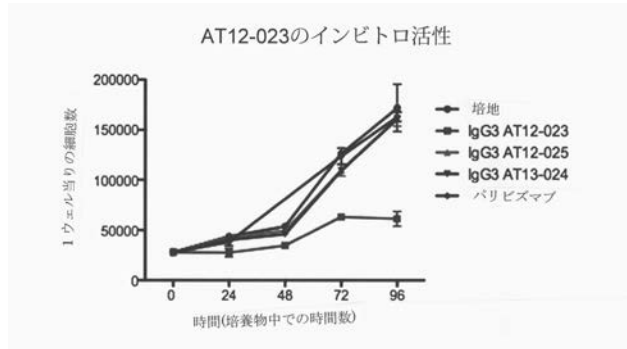
【 図 5 D 】



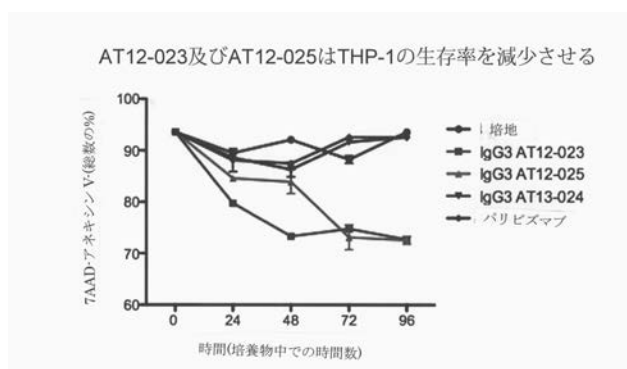
【 図 6 】



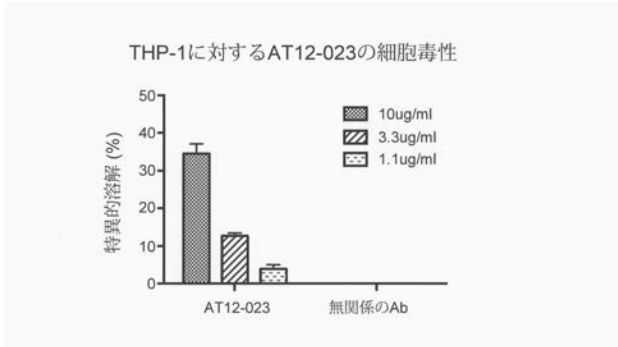
【 図 7 】



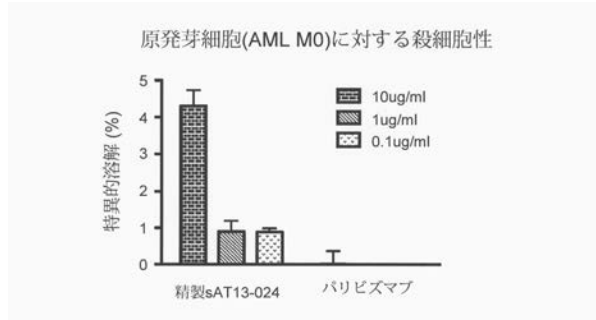
【 図 8 】



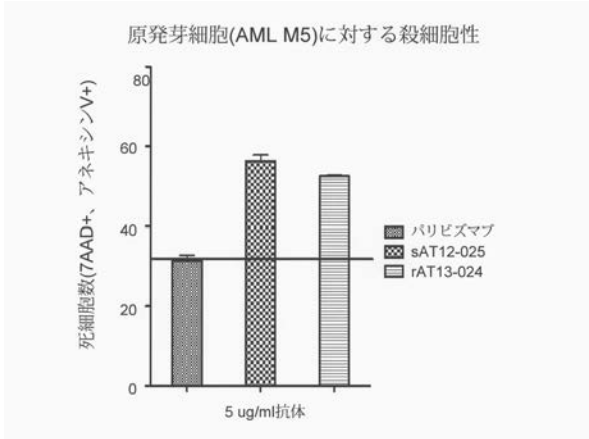
【 図 9 】



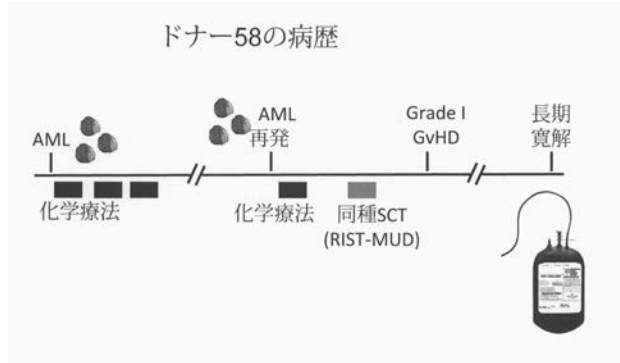
【 図 1 0 B 】



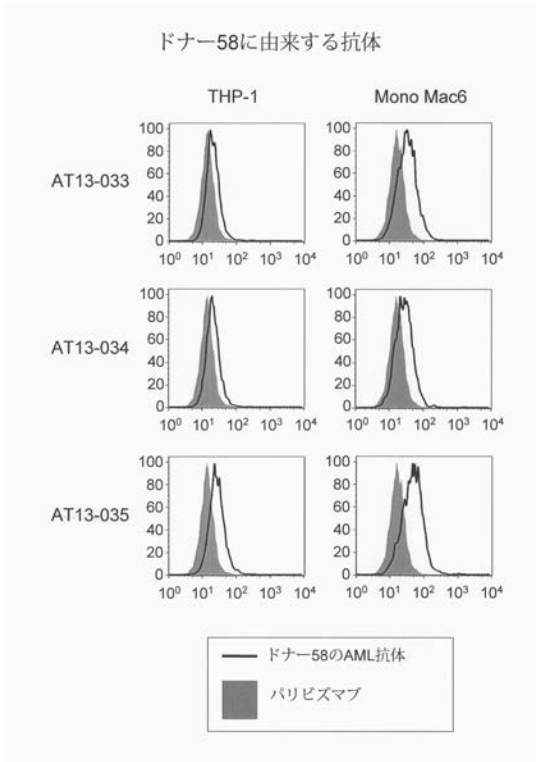
【 図 1 0 A 】



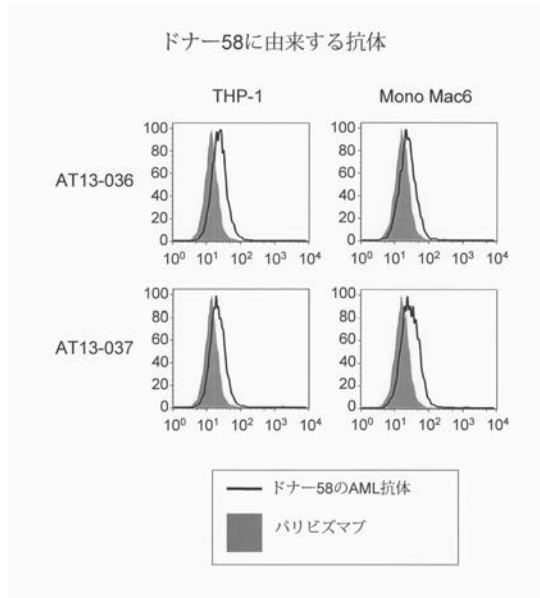
【 図 1 1 】



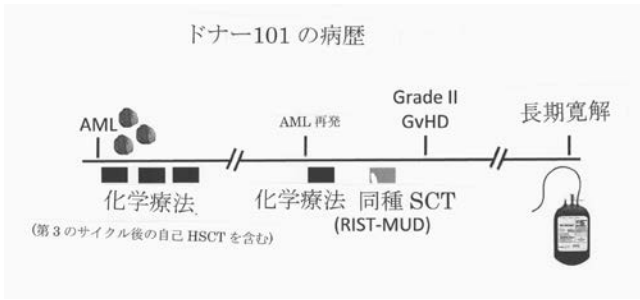
【 図 1 2 A 】



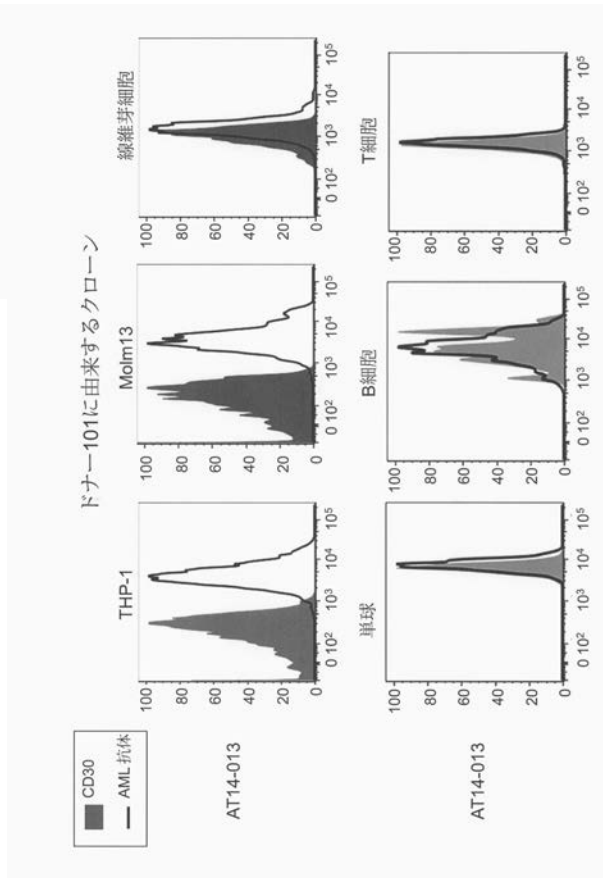
【 図 1 2 B 】



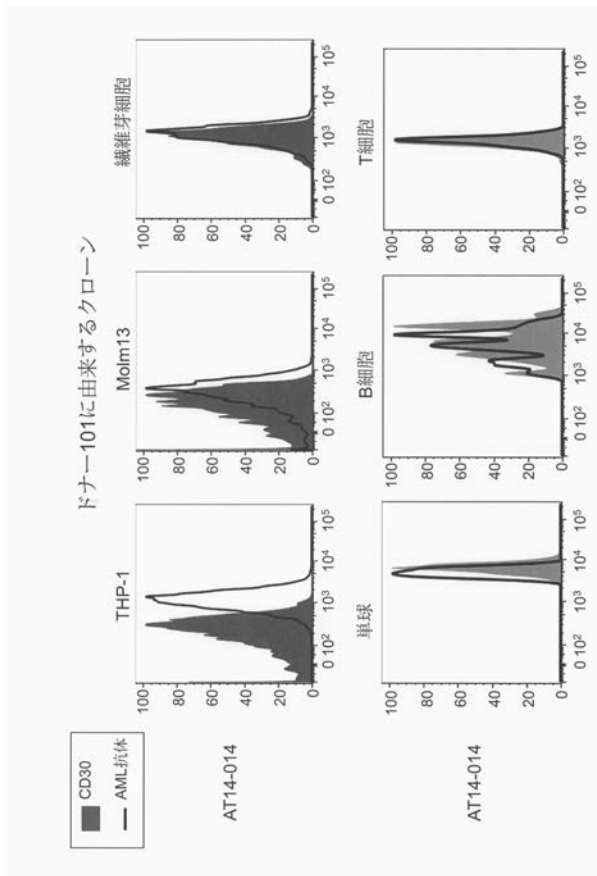
【 図 1 3 】



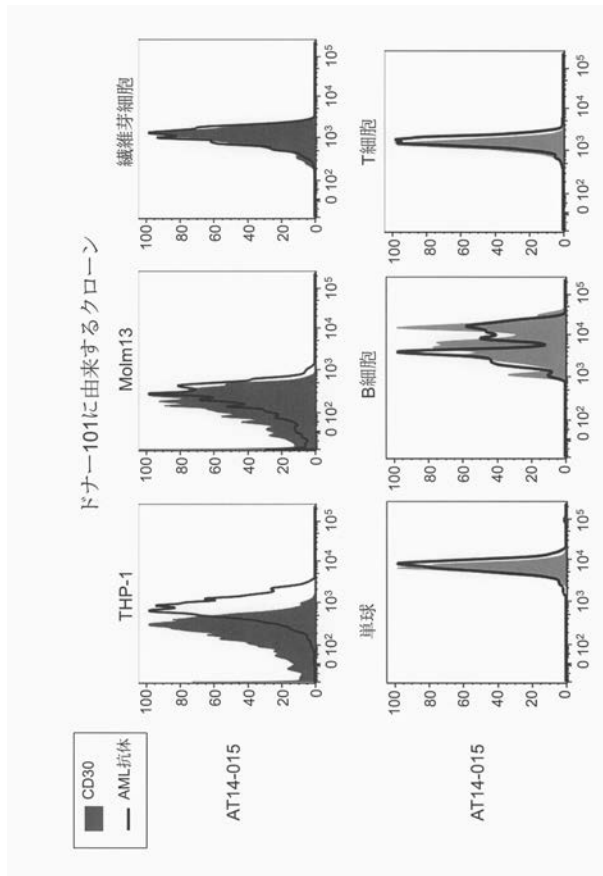
【 図 1 4 A 】



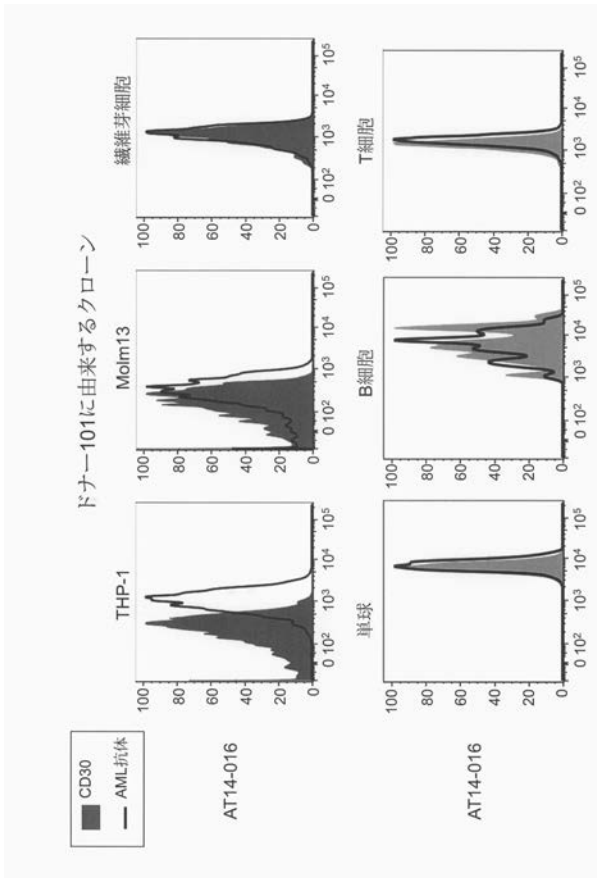
【 図 1 4 B 】



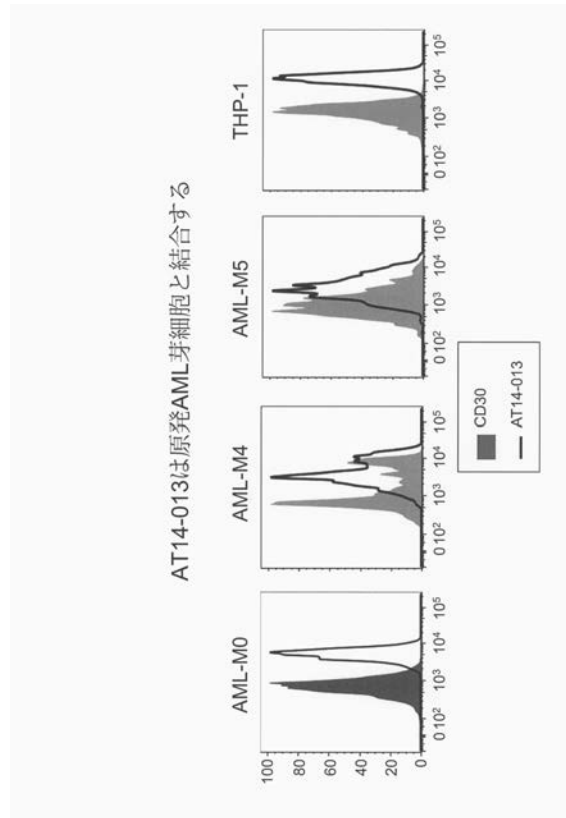
【 図 1 4 C 】



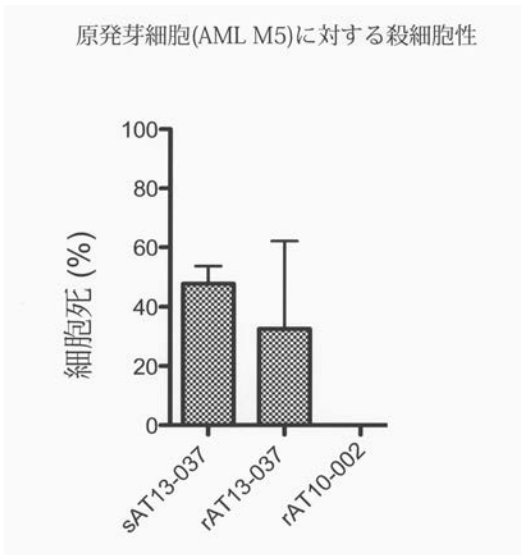
【 図 1 4 D 】



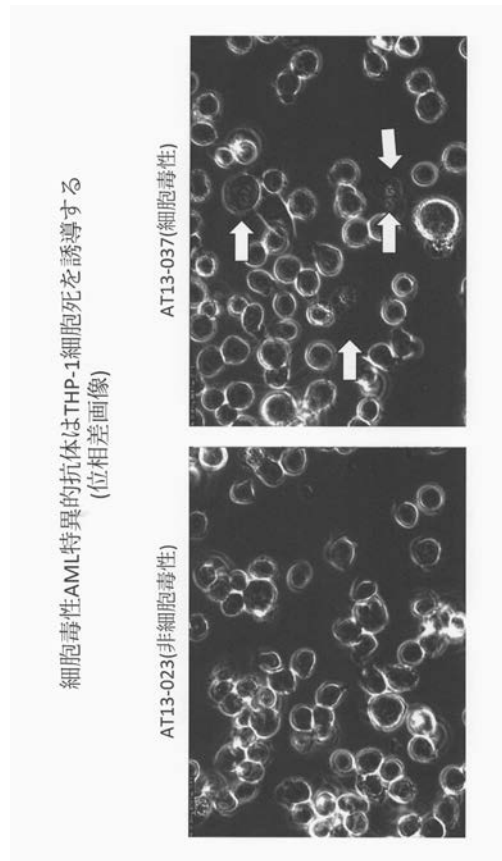
【 図 1 5 】



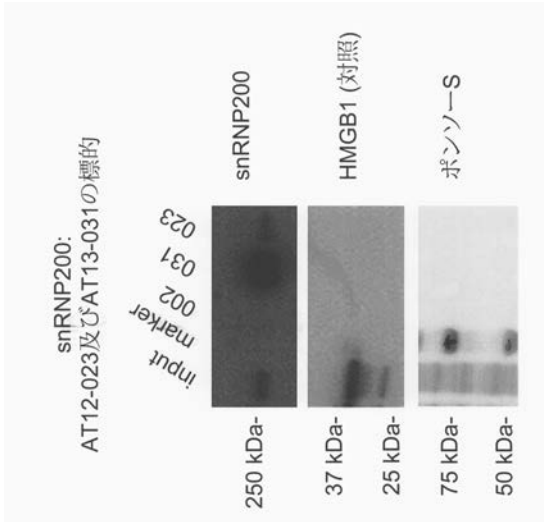
【 図 1 6 】



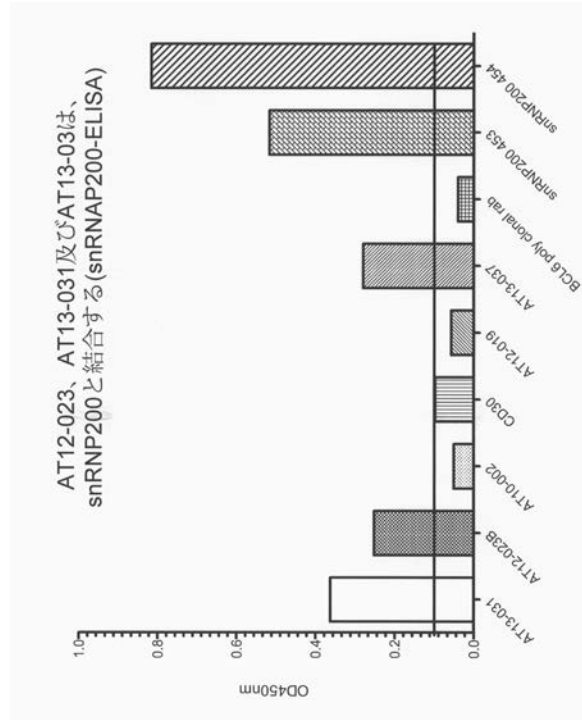
【 図 1 7 A 】



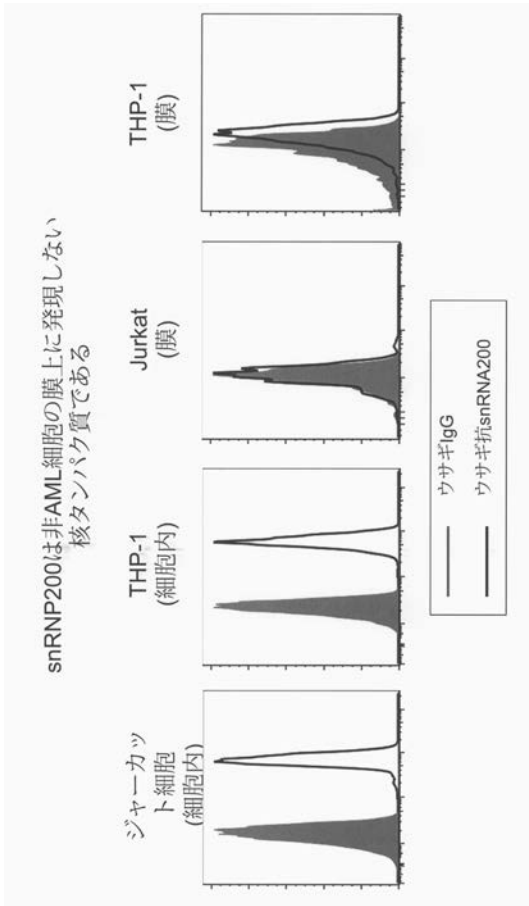
【 図 2 0 A 】



【 図 2 0 B 】



【 図 2 1 】



【配列表】

2017502664000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/NL2014/050873

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/06 C07K16/30 A61P35/02 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 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, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, 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	MATSUOKA S ET AL: "A Novel Type of Cell Death of Lymphocytes Induced by a Monoclonal Antibody without Participation of Complement", THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS, US, vol. 181, 1 June 1995 (1995-06-01), pages 2007-2015, XP002980487, ISSN: 0022-1007, DOI: 10.1084/JEM.181.6.2007 see Tab. 1A and first par. of the Discussion par. ----- -/--	1-51
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input 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		Date of mailing of the international search report
13 November 2015		23/11/2015
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 Vadot, Pierre

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/NL2014/050873

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ZHANG C ET AL: "A cell surface receptor defined by a mAb mediates a unique type of cell death similar to oncosis", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, US, vol. 95, 1 May 1998 (1998-05-01), pages 6290-6295, XP002978699, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.95.11.6290 see in particular the last par. of the Discussion par. -----	1-51

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 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	4 H 0 4 5
A 0 1 K 67/027 (2006.01)	A 0 1 K 67/027	
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C 0 7 K 16/46	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	E
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
A 6 1 K 35/12 (2015.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 35/76 (2015.01)	A 6 1 K 39/395	C
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	L
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 K 35/12	
G 0 1 N 33/574 (2006.01)	A 6 1 K 35/76	
	A 6 1 K 48/00	
	G 0 1 N 33/53	K
	G 0 1 N 33/574	D

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 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, RS, 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, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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 ハーゲン・スピッツ
オランダ・1105・ベアー・アムステルダム・ザイドースト・マイベルグドレーフ・59内

(72)発明者 ティム・ポーモン
オランダ・1105・ベアー・アムステルダム・ザイドースト・マイベルグドレーフ・59内

(72)発明者 マレイン・アレッタ・ヒリッセン
オランダ・1105・ベアー・アムステルダム・ザイドースト・マイベルグドレーフ・59内

(72)発明者 アドリアヌス・クイリヌス・バッカー
オランダ・1105・ベアー・アムステルダム・ザイドースト・マイベルグドレーフ・59内

(72)発明者 メッテ・デボラ・ハーゼンベルフ
オランダ・1105・ベアー・アムステルダム・ザイドースト・マイベルグドレーフ・59内

Fターム(参考) 4B064 AG27 CA19 DA05 DA14
4B065 AA01X AA57X AA87X AA90Y AB01 BA01 CA25 CA44 CA46
4C084 AA13 AA19 MA02 NA14 ZB272
4C085 AA13 AA14 AA21 AA26 BB01 DD62 DD63 EE01 GG01
4C087 AA01 AA02 BB65 BC83 MA02 NA14 ZB27
4H045 AA20 AA30 BA41 BA50 DA76 EA28 EA50 FA72 FA74

专利名称(译)	用于对抗骨髓增生性或淋巴组织增生性疾病的手段和方法		
公开(公告)号	JP2017502664A	公开(公告)日	2017-01-26
申请号	JP2016540651	申请日	2014-12-17
[标]申请(专利权)人(译)	免疫医疗公司		
申请(专利权)人(译)	它的治疗, 裴衰落		
[标]发明人	ハーゲンスピッツ ティムボーモン マレインアレッタヒリッセン アドリアヌスクイリヌスバッカー メッテデボラハーゼンベルフ		
发明人	ハーゲン・スピッツ ティム・ボーモン マレイン・アレッタ・ヒリッセン アドリアヌス・クイリヌス・バッカー メッテ・デボラ・ハーゼンベルフ		
IPC分类号	C12N15/09 C07K16/30 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A01K67/027 C07K16/46 C12P21/08 A61P35/02 A61K39/395 A61K45/00 A61K35/12 A61K35/76 A61K48/00 G01N33/53 G01N33/574		
CPC分类号	A61K2039/505 C07K16/3061 C07K2317/565 C07K2317/732 C07K2317/734 G01N33/56966 G01N33/57407 G01N33/57426 G01N2333/705 A61P35/00 A61P35/02 A61K47/6851 C07K16/06 C07K2317/21 C07K2317/33 C07K2317/73 A61K39/39558 C07K16/40 C12P21/005 G01N33/57492		
FI分类号	C12N15/00.A C07K16/30.ZNA C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A01K67/027 C07K16/46 C12P21/08 A61P35/02 A61K39/395.E A61K39/395.T A61K45/00 A61K39/395.C A61K39/395.L A61K35/12 A61K35/76 A61K48/00 G01N33/53.K G01N33/574.D		
F-TERM分类号	4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/DA05 4B064/DA14 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA87X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/BA01 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA13 4C084/AA19 4C084/MA02 4C084/NA14 4C084/ZB272 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA21 4C085/AA26 4C085/BB01 4C085/DD62 4C085/DD63 4C085/EE01 4C085/GG01 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB65 4C087/BC83 4C087/MA02 4C087/NA14 4C087/ZB27 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA41 4H045/BA50 4H045/DA76 4H045/EA28 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74		
代理人(译)	村山彦 安倍晋三龙彦		
优先权	2013197882 2013-12-17 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了能够与AML细胞的细胞表面成分结合的人AML特异性结合化合物。还提供了结合化合物对AML的治疗用途。

(5) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	A 4 B 0 6 4
C O 7 K 16/30 (2006.01)	C O 7 K 16/30	Z N A 4 B 0 6 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 C 0 8 4
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 C 0 8 5
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 C 0 8 7

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 110 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-540651 (P2016-540651)	(71) 出願人	512011185 アイム・セラピューティクス・ベー・フェー
(86) (22) 出願日	平成26年12月17日 (2014.12.17)		ー オランダ・NL-1105・ペーアー・ア ムステルダム・ザイドロスト・マイベルグ ドレーフ・59
(85) 翻訳文提出日	平成28年8月15日 (2016.8.15)	(74) 代理人	100108453 弁理士 村山 清彦
(86) 国際出願番号	PCT/NL2014/050873		100110364 弁理士 実広 信哉
(87) 国際公開番号	W02015/093949	(74) 代理人	100133400 弁理士 阿部 達彦
(87) 国際公開日	平成27年6月25日 (2015.6.25)		
(31) 優先権主張番号	13197882.7		
(32) 優先日	平成25年12月17日 (2013.12.17)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 骨髄増殖性又はリンパ球増殖性疾患に対抗するための手段及び方法