

(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2021-506241

(P2021-506241A)

(43) 公表日 令和3年2月22日(2021.2.22)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13 Z N A	4 B O 6 4
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	C 0 7 K 16/18	4 C O 8 5
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	4 H O 4 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 69 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2020-531918 (P2020-531918)
 (86) (22) 出願日 平成30年12月12日 (2018.12.12)
 (85) 翻訳文提出日 令和2年7月29日 (2020.7.29)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2018/065123
 (87) 国際公開番号 W02019/118556
 (87) 国際公開日 令和1年6月20日 (2019.6.20)
 (31) 優先権主張番号 62/598,023
 (32) 優先日 平成29年12月13日 (2017.12.13)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(71) 出願人 597160510
 リジェネロン・ファーマシューティカルズ
 ・インコーポレイテッド
 REGENERON PHARMACEU
 TICALS, INC.
 アメリカ合衆国10591-6707ニュ
 ーヨーク州タリータウン、オールド・ソー
 ・ミル・リバー・ロード777番
 (74) 代理人 100127926
 弁理士 結田 純次
 (74) 代理人 100140132
 弁理士 竹林 則幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗C5抗体組み合わせ物およびその使用

(57) 【要約】

本発明は、単一の抗C5抗体または断片と比較して優れた活性を示すことが特定された、抗C5抗体および抗原結合性断片の組み合わせ物に関する。当該組み合わせ物は、C5結合においてお互いに競合しない抗C5抗体および抗原結合性断片を含む。競合しないおよび/またはC5上の同じエピトープに結合しない抗原結合性ドメインを含む二重特異性抗体も提供される。そのような抗C5組み合わせ物および二重特異性抗体に関連する組成物および治療法が、本明細書において提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

C 5 に特異的に結合する第 1 の抗原結合性タンパク質と；
 (i) 該第 1 の抗原結合性タンパクとは異なるエピトープにおいて C 5 に特異的に結合し；および/または
 (i i) C 5 への結合において該第 1 の抗原結合性タンパク質と競合しない、
 1 つまたはそれ以上のさらなる抗原結合性タンパク質と
 を含む組み合わせ物。

【請求項 2】

第 1 の抗原結合性タンパク質は、C 5 に特異的に結合する抗体または抗原結合性断片であり、ならびにさらなる抗原結合性タンパク質は、C 5 に特異的に結合する抗体または抗原結合性断片またはポリペプチドである、請求項 1 に記載の組み合わせ物。

10

【請求項 3】

H 4 H 1 2 1 6 6 P である第 1 の抗体またはその抗原結合性断片と；
 H 2 M 1 1 6 8 3 N ; H 2 M 1 1 6 8 6 N ; H 4 H 1 2 1 5 9 P ; H 4 H 1 2 1 6 1 P ;
 H 4 H 1 2 1 6 4 P ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 2 ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 3 ; H 4 H 1 2 1 6 6
 P 4 ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 5 ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 6 ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 7 ; H 4 H 1
 2 1 6 6 P 8 ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 9 ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 1 0 ; H 4 H 1 2 1 6 8 P ;
 H 4 H 1 2 1 6 9 P ; H 4 H 1 2 1 7 0 P ; H 4 H 1 2 1 7 1 P ; H 4 H 1 2 1 7 5 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 6 P 2 ; H 4 H 1 2 1 7 7 P 2 ; H 2 M 1 1 6 8 2 N ; H 2 M 1 1 6 8 4
 N ; H 2 M 1 1 6 9 4 N ; および H 2 M 1 1 6 9 5 N
 からなる群より選択される 1 つまたはそれ以上であるさらなる抗体またはその抗原結合性
 断片と
 を含む、請求項 1 ~ 2 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物。

20

【請求項 4】

第 1 の抗原結合性タンパク質は、
 抗体 H 4 H 1 2 1 6 6 P の重鎖可変領域の C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R -
 H 3 ; および
 抗体 H 4 H 1 2 1 6 6 P の軽鎖可変領域の C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R -
 L 3
 を含み；
 さらなる抗原結合性タンパク質は、

30

(i)
 抗体 H 4 H 1 2 1 6 1 P の重鎖可変領域の C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R -
 H 3 ; および
 抗体 H 4 H 1 2 1 6 1 P の軽鎖可変領域の C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R -
 L 3 ;

(i i)
 抗体 H 4 H 1 2 1 7 0 P の重鎖可変領域の C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R -
 H 3 ; および
 抗体 H 4 H 1 2 1 7 0 P の軽鎖可変領域の C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R -
 L 3 ;

40

(i i i)
 抗体 H 4 H 1 2 1 7 1 P の重鎖可変領域の C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R -
 H 3 ; および
 抗体 H 4 H 1 2 1 7 1 P の軽鎖可変領域の C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R -
 L 3 ;

(i v)
 抗体 H 4 H 1 2 1 7 5 P の重鎖可変領域の C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R -
 H 3 ; および

50

抗体 H 4 H 1 2 1 7 5 P の軽鎖可変領域の C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R - L 3；

(v)

抗体 H 4 H 1 2 1 7 6 P 2 の重鎖可変領域の C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R - H 3；および

抗体 H 4 H 1 2 1 7 6 P 2 の軽鎖可変領域の C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R - L 3；

または

(v i)

抗体 H 4 H 1 2 1 7 7 P 2 の重鎖可変領域の C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R - H 3；および

抗体 H 4 H 1 2 1 7 7 P 2 の軽鎖可変領域の C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R - L 3；

を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物。

【請求項 5】

第 1 の抗原結合性タンパク質は、抗体 H 4 H 1 2 1 6 6 P またはその V_H および V_L を含む抗体もしくはその抗原結合性断片であり；ならびにさらなる抗原結合性タンパク質は、抗体 H 4 H 1 2 1 6 1 P、H 4 H 1 2 1 7 0 P、H 4 H 1 2 1 7 1 P、H 4 H 1 2 1 7 5 P、H 4 H 1 2 1 7 6 P 2、または H 4 H 1 2 1 7 7 P 2；またはその V_H および V_L を含む抗体もしくはその抗原結合性断片である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物。

【請求項 6】

第 1 の抗原結合性タンパク質およびさらなる抗原結合性タンパク質は、単一の組成物へと製剤化される、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物。

【請求項 7】

さらなる抗原結合性タンパク質は、coversin であるポリペプチドである、請求項 1 に記載の組み合わせ物。

【請求項 8】

さらなる抗原結合性タンパク質は、エクリズマブである抗体である、請求項 1 に記載の組み合わせ物。

【請求項 9】

さらなる治療薬を含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物。

【請求項 10】

C 5 に特異的に結合する抗体または抗原結合性断片であるさらなる治療薬を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物。

【請求項 11】

H 2 M 1 1 6 8 3 N；H 2 M 1 1 6 8 6 N；H 4 H 1 2 1 5 9 P；H 4 H 1 2 1 6 3 P；H 4 H 1 2 1 6 4 P；H 4 H 1 2 1 6 6 P 2；H 4 H 1 2 1 6 6 P 3；H 4 H 1 2 1 6 6 P 4；H 4 H 1 2 1 6 6 P 5；H 4 H 1 2 1 6 6 P 6；H 4 H 1 2 1 6 6 P 7；H 4 H 1 2 1 6 6 P 8；H 4 H 1 2 1 6 6 P 9；H 4 H 1 2 1 6 6 P 10；H 4 H 1 2 1 6 7 P；H 4 H 1 2 1 6 8 P；H 4 H 1 2 1 6 9 P；H 4 H 1 2 1 7 6 P 2；H 4 H 1 2 1 7 7 P 2；H 4 H 1 2 1 8 3 P 2；H 2 M 1 1 6 8 2 N；H 2 M 1 1 6 8 4 N；H 2 M 1 1 6 9 4 N；および H 2 M 1 1 6 9 5 N；またはその抗原結合性断片からなる群より選択されるか；

または、C 5 に結合する抗体、抗凝血剤、トロンピン阻害剤、抗炎症剤、降圧剤、免疫抑制剤、線維素溶解剤、高脂血症治療薬、ヒドロキシメチルグルタリル Co A レダクターゼの防止剤、抗 CD 20 剤、抗 TNF 剤、抗発作剤、C 3 阻害剤、もしくは抗血栓剤である、

C 5 に特異的に結合する抗体であるさらなる治療薬を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物。

10

20

30

40

50

【請求項 1 2】

ワルファリン、アスピリン、ヘパリン、フェニンジオン、フォンダパリヌクス、イドラパリヌクス、アルガトロバン、レピルジン、ビパリルジン、もしくはダビガトランコルチコステロイド、および非ステロイド性抗炎症薬、ピンクリスチン、サイクロスポリン A、メトトレキサート、アムクロッド、 α -アミノカプロン酸、アンチプラスミン - a 1、プロスタサイクリン、デフィブロチド、リツキシマブおよび硫酸マグネシウムからなる群より選択されるさらなる治療薬を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物。

【請求項 1 3】

第 1 のエピトープにおいて C 5 に特異的に結合する第 1 の抗原結合性ドメインと、
 (i) 該第 1 の抗原結合性ドメインとは異なる第 2 のエピトープにおいて C 5 に特異的に結合し、および / または
 (i i)
 C 5 への結合において該第 1 の抗原結合性ドメインと競合しない、
 第 2 の抗原結合性ドメインとを含む、二重特異性もしくはバイパラトピック抗体またはその抗原結合性断片。

10

【請求項 1 4】

I g G である、請求項 1 3 の二重特異性またはバイパラトピック抗体または断片。

【請求項 1 5】

H 4 H 1 2 1 6 1 P x H 4 H 1 2 1 7 7 P 2 ;
 H 4 H 1 2 1 6 6 P x H 4 H 1 2 1 7 7 P 2 ;
 H 4 H 1 2 1 7 0 P x H 4 H 1 2 1 7 7 P 2 ;
 H 4 H 1 2 1 7 1 P x H 4 H 1 2 1 7 7 P 2 ;
 H 4 H 1 2 1 7 5 P x H 4 H 1 2 1 7 7 P 2 ;
 H 4 H 1 2 1 7 6 P 2 x H 4 H 1 2 1 7 7 P 2 ;
 H 4 H 1 2 1 7 6 P 2 x H 4 H 1 2 1 6 1 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 6 P 2 x H 4 H 1 2 1 6 6 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 6 P 2 x H 4 H 1 2 1 7 0 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 6 P 2 x H 4 H 1 2 1 7 1 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 6 P 2 x H 4 H 1 2 1 7 5 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 5 P x H 4 H 1 2 1 6 1 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 5 P x H 4 H 1 2 1 6 6 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 5 P x H 4 H 1 2 1 7 0 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 5 P x H 4 H 1 2 1 7 1 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 1 P x H 4 H 1 2 1 6 1 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 1 P x H 4 H 1 2 1 6 6 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 1 P x H 4 H 1 2 1 7 0 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 0 P x H 4 H 1 2 1 6 1 P ;
 H 4 H 1 2 1 7 0 P x H 4 H 1 2 1 6 6 P ; および
 H 4 H 1 2 1 6 6 P x H 4 H 1 2 1 6 1 P ;

20

30

40

からなる群より選択される二重特異性またはバイパラトピック抗原結合性タンパク質。

【請求項 1 6】

1 つまたはそれ以上の第 1 の抗 C 5 抗原結合性タンパク質に結合した 1 つまたはそれ以上の C 5 ポリペプチドまたはその抗原性断片と、該 C 5 への結合において競合しない 1 つまたはそれ以上のさらなる抗 C 5 抗原結合性タンパク質とを含む複合体。

【請求項 1 7】

(i) 第 1 の単一特異性抗 C 5 抗原結合性タンパク質対第 2 の単一特異性抗 C 5 抗原結合性タンパク質対 C 5 ポリペプチドもしくはその抗原性断片の 1 : 1 : 2、2 : 2 : 4、または 3 : 3 : 6 の比率 ;
 (i i) 二重特異性抗 C 5 抗原結合性タンパク質対 C 5 ポリペプチドもしくはその抗原性

50

断片の 1 : 1、1 : 2、2 : 1、または 2 : 2 の比率 ; または

(i i i) 単一特異性抗 C 5 抗原結合性タンパク質対二重特異性抗 C 5 抗原結合性タンパク質対 C 5 ポリペプチドもしくはその抗原性断片の 1 : 1 : 1、1 : 1 : 2、または 1 : 2 : 2 の比率 ;

を含む複合体。

【請求項 18】

対象における C 5 関連疾患または障害を治療または予防するための、および / またはそのような治療、予防、および / または阻害を必要とする対象における古典的補体経路および副補体経路の両方を阻害するための方法であって、

C 5 に特異的に結合する第 1 の抗原結合性タンパク質および C 5 に特異的に結合する第 2 の抗原結合性タンパク質であって、(a) C 5 上の異なる非重複エピトープに結合し ; および / または (b) C 5 への結合においてお互いに競合しない、前記第 1 および第 2 の抗原結合性タンパク質、

および / または

C 5 に特異的に結合する多重特異性抗原結合性タンパク質であって、(a) C 5 上の異なる非重複エピトープに結合し ; および / または (b) C 5 への結合においてお互いに競合しない第 1 および第 2 の抗原結合性ドメインを含む前記多重特異性抗原結合性タンパク質を該対象に投与する工程を含む前記方法。

【請求項 19】

そのような治療または予防を必要とする対象における C 5 関連疾患または障害を治療または予防する方法であって、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物の有効量、または請求項 13 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の二重特異性またはバイパラトピック抗体または断片を該対象に投与する工程を含む前記方法。

【請求項 20】

C 5 関連疾患または障害は、急性呼吸促迫症候群、成人呼吸促迫症候群、加齢黄斑変性症、アレルギー、アルポート症候群、アルツハイマ病、喘息、アテローム性動脈硬化症、非典型溶血性尿毒症症候群、自己免疫疾患、バルーン血管形成術によって引き起こされた補体活性化、気管支収縮、水疱性類天疱瘡、火傷、C 3 系球体症、毛細管漏出症候群、化学傷害、慢性閉塞性肺疾患、クローン病、糖尿病、糖尿病性黄斑浮腫、糖尿病性腎症、糖尿病性網膜症、呼吸困難、肺気腫、てんかん、線維形成性塵肺症、凍傷、地図状萎縮、糸球体症、グッドパスチャー症候群、ギラン・バレー症候群、血液透析で引き起こされた補体活性化、血液透析合併症、溶血性貧血、喀血、遺伝性血管浮腫、超急性同種移植片拒絶反応、過敏性肺臓炎、免疫複合体障害、免疫複合体関連炎症、自己免疫病の炎症、炎症性障害、遺伝的 C D 5 9 欠損症、不活性粉塵および / または鉱物による損傷、I L - 2 療法の際のインターロイキン - 2 誘発有毒物、ループス腎炎、膜性増殖性糸球体腎炎、膜性増殖性腎臓炎、大動脈再建術後の腸間膜動脈再灌流、感染症後の腸間膜動脈再灌流、敗血症後の腸間膜動脈再灌流、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋梗塞、視束脊髄炎、肥満、眼血管形成、有機性粉末病、寄生虫症、パーキンソン病、発作性夜間血色素尿症、肺炎、虚血後再灌流症状、心肺バイパスまたは腎臓バイパスにおけるポンプ後症候群 (p o s t - p u m p s y n d r o m e)、進行性腎不全、タンパク尿腎臓病、乾癬、肺塞栓症および梗塞症、肺線維症、肺血管炎、腎乏血、腎臓虚血再灌流障害、腎臓移植、関節リウマチ、統合失調症、煙害、卒中、全身性エリテマトーデス、全身性エリテマトーデス腎臓炎、熱傷、脳外傷、ぶどう膜炎、脈管炎、および異種移植拒絶反応からなる群より選択される、請求項 18 ~ 19 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 21】

対象は、1 種またはそれ以上のさらなる治療薬を投与され、および / または 1 つまたはそれ以上の治療手段を施される、請求項 18 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 22】

対象は、C 5 に特異的に結合する抗体または抗原結合性断片であるさらなる治療薬を投与される、請求項 21 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 23】

対象は、

H 2 M 1 1 6 8 3 N ; H 2 M 1 1 6 8 6 N ; H 4 H 1 2 1 5 9 P ; H 4 H 1 2 1 6 3 P ;
H 4 H 1 2 1 6 4 P ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 2 ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 3 ; H 4 H 1 2 1 6 6
P 4 ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 5 ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 6 ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 7 ; H 4 H 1
2 1 6 6 P 8 ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 9 ; H 4 H 1 2 1 6 6 P 1 0 ; H 4 H 1 2 1 6 7 P ;
H 4 H 1 2 1 6 8 P ; H 4 H 1 2 1 6 9 P ; H 4 H 1 2 1 7 6 P 2 ; H 4 H 1 2 1 7 7 P
2 ; H 4 H 1 2 1 8 3 P 2 ; H 2 M 1 1 6 8 2 N ; H 2 M 1 1 6 8 4 N ; H 2 M 1 1 6 9
4 N ; および H 2 M 1 1 6 9 5 N ; またはその抗原結合性断片

からなる群より選択されるか、

または

C 5 に結合する抗体、抗凝血剤、トロンビン阻害剤、抗炎症剤、降圧剤、免疫抑制剤、線維素溶解剤、高脂血症治療薬、ヒドロキシメチルグルタリル C o A レダクターゼの防止剤、抗 C D 2 0 剤、抗 T N F 剤、抗発作剤、C 3 阻害剤、および抗血栓剤からなる群より選択される、

C 5 に結合する抗体である 1 種またはそれ以上のさらなる治療薬を投与され、

および / または

該対象は、透析、血液または血漿輸血または交換、および / または骨髄 / 幹細胞移植 (B M T / S C T) である治療手段を施される、

請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 24】

対象は、エクリズマブ、c o v e r s i n、鉄、抗胸腺細胞グロブリン、成長因子、ワルファリン、アスピリン、ヘパリン、フェニンジオン、フォンダパリヌクス、イドラパリヌクス、アルガトロバン、レピルジン、ビパリルジン、またはダビガトラン、コルチコステロイド、および非ステロイド性抗炎症薬、ピンクリスチン、サイクロスポリン A、メトトレキサート、アンクロッド、 α -アミノカプロン酸、アンチプラスミン - a 1、プロスタサイクリン、デフィプロチド、リツキシマブ、硫酸マグネシウム、アバコパン、ラブリズマブ、およびアバシンカプトドペゴル (a v a c i n c a p t a d p e g o l) からなる群より選択される 1 種またはそれ以上のさらなる治療薬を投与される、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 25】

組み合わせ物の成分の 1 つまたはそれ以上は、皮下、静脈内、皮内、腹腔内、経口、筋肉内、または頭蓋内において対象に投与される、請求項 1 8 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 26】

対象がヒトである、請求項 1 8 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 27】

前記第 1 の抗原結合性タンパク質と；

前記 1 つまたはそれ以上のさらなる抗原結合性タンパク質と；

場合により、1 種またはそれ以上のさらなる治療薬と

をキットへと共パッケージングする工程を含む、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物を製造する方法。

【請求項 28】

前記第 1 の抗原結合性タンパク質と、

前記 1 つまたはそれ以上のさらなる抗原結合性タンパク質と；

場合により、1 種またはそれ以上のさらなる治療薬と；

薬学的に許容される担体と

を単一の医薬製剤へと合剤化する工程と、場合により、該製剤を装置または容器内に導入する工程と

を含む、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の組み合わせ物を製造する方法。

10

20

30

40

50

【請求項 29】

請求項 27 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の方法の製造物である組み合わせ物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2017年12月13日に出願された米国特許仮出願第62/598,023号の恩典を主張するものであり、なお、当該特許仮出願は、参照によってその全体が本明細書に組み入れられる。

【0002】

分野

本発明は、補体因子 C5 に特異的に結合する抗体および抗体の抗原結合性断片を含む組み合わせ物ならびにその使用方法に関する。

【背景技術】

【0003】

補体系は、活性化された場合に標的細胞溶解を生じ、オプソニン化により食作用を促進する、血漿タンパク質のグループである。補体は、3つの主要経路：典型的に免疫複合体によって活性化される古典的経路、保護されていない細胞表面によって引き起こされる副経路、およびマンノース結合レクチン経路、による一連のタンパク質分解性工程を通じて活性化される。補体カスケードの3つ全ての経路は、補体成分 5 (C5) タンパク質のタンパク質分解的切断に集中する。補体成分 5 (C5) の切断は、結果として、断片 C5a および C5b の生成を生じ、それは、補体カスケードの活性化の際に重要なプロセスである。C5a は、その受容体への結合を介して多面的な生理学的反応を生じることができる (非特許文献 1)。C5a は、走化性遊走を引き起こし、細胞付着を高め、酸化的バーストを刺激し、および様々な炎症性媒介物質、例えば、ヒスタミンまたはサイトカインなど、の放出を誘発する、強力な炎症誘発性媒介物質である。C5b は、補体依存性細胞傷害 (CDC) の後期において細胞溶解を引き起こす膜侵襲複合体 (MAC、または C5b-9) の形成を媒介する。さらに、C5b-9 による細胞崩壊に対して抵抗力を有する有核細胞において、C5b-9 の部分溶解 (sublytic) 量は、結果として細胞増殖、炎症誘発性媒介物質の発生、および細胞外マトリックスの生成を生じる細胞活性化を引き起こすことができる。

【0004】

C5 に対するモノクローナル抗体は、当技術分野において既知であり、例えば、特許文献 1、特許文献 2、特許文献 3、特許文献 4、特許文献 5、特許文献 6、特許文献 7、特許文献 8、特許文献 9、特許文献 10、特許文献 11、特許文献 12、特許文献 13、特許文献 14、特許文献 15、特許文献 16、特許文献 17、特許文献 18、特許文献 19、特許文献 20、特許文献 21、ならびに特許文献 22、特許文献 23、特許文献 24、特許文献 25、特許文献 26、特許文献 27、および特許文献 28 に記載されている。

【0005】

高い親和性および生物活性を有する抗 C5 抗体は既知であるが；しかしながら、生物活性における改良は、C5 関連疾患および障害を患う対象のためのより強力な療法につながり得る。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献 1】米国特許第 9 206 251 号

【特許文献 2】米国特許第 9 107 861 号

【特許文献 3】米国特許第 9 079 949 号

【特許文献 4】米国特許第 9 051 365 号

【特許文献 5】米国特許第 8 999 340 号

【特許文献 6】米国特許第 8 883 158 号

10

20

30

40

50

- 【特許文献7】米国特許第8241628号
- 【特許文献8】米国特許第7999081号
- 【特許文献9】米国特許第7432356号
- 【特許文献10】米国特許第7361339号
- 【特許文献11】米国特許第7279158号
- 【特許文献12】米国特許第6534058号
- 【特許文献13】米国特許第6355245号
- 【特許文献14】米国特許第6074642号
- 【特許文献15】米国特許出願公開第20150299305号
- 【特許文献16】米国特許出願公開第20160051673号 10
- 【特許文献17】米国特許出願公開第20160031975号
- 【特許文献18】米国特許出願公開第20150158936号
- 【特許文献19】米国特許出願公開第20140056888号
- 【特許文献20】米国特許出願公開第20130022615号
- 【特許文献21】米国特許出願公開第20120308559号
- 【特許文献23】WO2017218515
- 【特許文献24】WO2015198243
- 【特許文献25】WO2015134894
- 【特許文献26】WO2015120130
- 【特許文献27】EP2563813B1 20
- 【特許文献28】EP2328616B1
- 【特許文献29】EP2061810B1
- 【非特許文献】
- 【0007】
- 【非特許文献1】Monkら 2007, Br. J. Pharmacol. 152: 429~448
- 【発明の概要】
- 【発明が解決しようとする課題】
- 【0008】
- 驚異的で予想外のレベルの生物活性（例えば、赤血球（RBC）溶解の減少）を示す、抗C5抗体および抗原結合性断片の特定の組み合わせ物が特定された。C5結合においてお互いに競合しない抗C5抗体および断片の組み合わせ物は、単一の抗C5抗体または断片に伴う減少を超える、RBC溶解の減少をもたらす。そのような抗C5組み合わせ物に関連する組成物および治療法が、本明細書において提供される。
- 【課題を解決するための手段】
- 【0009】
- 本発明は、C5（例えば、ヒトC5）に特異的に結合する第1の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性断片）と；（i）当該抗原結合性タンパク質とは異なるエピトープにおいてC5に特異的に結合し；および/または（ii）C5への結合において当該第1の抗原結合性タンパク質と競合しない、1つまたはそれ以上のさらなる抗原結合性タンパク質（例えば、ポリペプチド（例えば、conversion）または抗体（例えば、エクリズマブ）またはその抗原結合性断片）を含む組み合わせ物（例えば、キット）を提供する。当該第1の抗原結合性タンパク質および当該さらなる抗原結合性タンパク質は、単一の医薬製剤（例えば、薬学的に許容される担体と共に）へと合剤化することができ、または別々の製剤（例えば、それぞれ、薬学的に許容される担体と共に）へと製剤化することができる。本発明の実施形態において、当該第1の抗原結合性タンパク質および/または当該1つまたはそれ以上のさらなる抗原結合性タンパク質は、プレフィルド注入装置（例えば、プレフィルド注射器またはプレフィルド自動注入器）または容器内に存する。例えば、本発明の実施形態において、当該第1の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体）は、配列番号19に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域のCDR 40
- 50

- H 1、C D R - H 2、およびC D R - H 3と、配列番号27に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域のC D R - L 1、C D R - L 2、およびC D R - L 3とを含む。本発明の実施形態において、当該さらなる抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または抗原結合性断片）は、(i) 配列番号3に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域のC D R - H 1、C D R - H 2、およびC D R - H 3、ならびに配列番号11に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域のC D R - L 1、C D R - L 2、およびC D R - L 3；(i i) 配列番号35に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域のC D R - H 1、C D R - H 2、およびC D R - H 3、配列番号43に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域のC D R - L 1、C D R - L 2、およびC D R - L 3；(i i i) 配列番号51に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域のC D R - H 1、C D R - H 2、およびC D R - H 3、配列番号59に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域のC D R - L 1、C D R - L 2、およびC D R - L 3；(i v) 配列番号67に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域のC D R - H 1、C D R - H 2、およびC D R - H 3、ならびに配列番号75に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域のC D R - L 1、C D R - L 2、およびC D R - L 3；(v) 配列番号87に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域のC D R - H 1、C D R - H 2、およびC D R - H 3、ならびに配列番号95に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域のC D R - L 1、C D R - L 2、およびC D R - L 3；ならびに/または(v i) 配列番号103に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域のC D R - H 1、C D R - H 2、およびC D R - H 3、ならびに配列番号95に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域のC D R - L 1、C D R - L 2、およびC D R - L 3；を含む。本発明の実施形態において、当該第1の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または断片）は、配列番号21に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 1と、配列番号23に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 2と、配列番号25に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 3とを含む重鎖可変領域、および配列番号29に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 1と、配列番号31に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 2と、配列番号33に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 3とを含む軽鎖可変領域を含む。本発明の実施形態において、当該さらなる抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または断片）は、(i) 配列番号5に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 1と、配列番号7に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 2と、配列番号9に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 3とを含む重鎖可変領域、および配列番号13に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 1と、配列番号15に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 2と、配列番号17に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 3とを含む軽鎖可変領域；(i i) 配列番号37に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 1と、配列番号39に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 2と、配列番号41に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 3とを含む重鎖可変領域、および配列番号45に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 1と、配列番号47に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 2と、配列番号49に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 3とを含む軽鎖可変領域；(i i i) 配列番号53に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 1と、配列番号55に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 2と、配列番号57に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 3とを含む重鎖可変領域、および配列番号61に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 1と、配列番号63に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 2と、配列番号65に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 3とを含む軽鎖可変領域；(i v) 配列番号69に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 1と、配列番号71に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 2と、配列番号73に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 3とを含む重鎖可変領域、および配列番号77に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 1と、配列番号79に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 2と、配列番号81に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 3とを含む軽鎖可変領域；(v) 配列番号89に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 1、配列番号91に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 2、配列番号93に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - H 3、配列番号97に記載されるアミノ酸配列を含むC D R - L 1、配列番号99

に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-L2、配列番号101に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-L3 L2；または(vi)配列番号105に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-H1、配列番号107に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-H2、配列番号109に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-H3、配列番号97に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-L1、配列番号99に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-L2、および配列番号101に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-L3；を含む。本発明の実施形態において、組み合わせ物は、随意のさらなる治療薬を含む。例えば、当該さらなる治療薬は、本発明の実施形態において、1つまたはそれ以上の抗C5抗体、例えば、H2M11683N；H2M11686N；H4H12159P；H4H12163P；H4H12164P；H4H12166P2；H4H12166P3；H4H12166P4；H4H12166P5；H4H12166P6；H4H12166P7；H4H12166P8；H4H12166P9；H4H12166P10；H4H12167P；H4H12168P；H4H12169P；H4H12176P2；H4H12177P2；H4H12183P2；H2M11682N；H2M11684N；H2M11694N；またはH2M11695Nなど、またはV_Hおよび/もしくはV_Lを含む抗体もしくは抗原結合性断片；ならびに/またはそのCDR-Hおよび/もしくはCDR-L(2017年6月13日に出願された国際特許出願第PCT/US2017/037226号を参照されたい)；または先述のいずれかの抗原結合性断片(当該組み合わせ物における第1または第2/さらなる抗体または抗原結合性断片)である。本発明の実施形態において、当該さらなる治療薬は、エクリズマブもしくはconversion(既に当該組み合わせ物の成分でない場合)、鉄、抗胸腺細胞グロブリン、成長因子、抗凝血剤、トロンビン阻害剤、抗炎症剤、降圧剤、免疫抑制剤、線維素溶解剤、高脂血症治療薬、ヒドロキシメチルグルタリルCoAレダクターゼの阻害剤、抗CD20剤、抗TNF剤、抗発作剤、C3阻害剤、抗血栓剤、ワルファリン、アスピリン、ヘパリン、フェニンジオン、フォンダパリヌクス、イドラパリヌクス、アルガトロバン、レピルジン、ビバリルジン、もしくはダビガトラン、コルチコステロイド、および非ステロイド性抗炎症薬、ピンクリスチン、サイクロスポリンA、メトトレキサート、アンクロッド、
-アミノカプロン酸、アンチプラスミン-a1、プロスタサイクリン、デフィプロチド、リツキシマブ、ならびに/または硫酸マグネシウムである。

10

20

30

40

50

【0010】

本発明は、第1のエピトープにおいてC5(例えば、ヒトC5)に結合する第1の抗原結合性ドメイン(例えば、H4H12166P抗体由来の1つの抗原結合性ドメイン)と、(i)当該第1の抗原結合性タンパク質とは異なる第2のエピトープにおいてC5に特異的に結合し、および/または(ii)C5への結合において当該第1の抗原結合性ドメインと競合しない第2の抗原結合性ドメイン(例えば、エクリズマブ、H4H12161P、H4H12170P、H4H12171P、H4H12175P、H4H12176P2、またはH4H12177P2抗体からの1つの抗原結合性ドメイン、例えば、H4H12176P2xH4H12177P2)とを含む、二重特異性またはバイパラトピック(biparatopic)抗原結合性タンパク質(例えば、抗体またはその抗原結合性断片(例えば、IgG)、または薬学的に許容される担体を含むその医薬組成物を提供する。本発明は、対象に有効量の本発明の組み合わせ物(および、場合により、1種またはそれ以上のさらなる治療薬、例えば、本明細書において説明されるようなもの)を、(例えば、皮下、静脈内、皮内、腹腔内、経口、筋肉内、または頭蓋内へ)投与する工程を含む、そのような治療または予防を必要とする対象(例えば、ヒトなどの哺乳動物)におけるC5関連疾患または障害を治療または予防する方法、または対象における古典的補体経路および副補体経路(それぞれ、CPおよびAP)の両方を阻害する方法も提供する。そのような疾患または障害は、例えば、急性呼吸促迫症候群、成人呼吸促迫症候群、加齢黄斑変性症、アレルギー、アルポート症候群、アルツハイマ病、喘息、アテローム性動脈硬化症、非典型溶血性尿毒症症候群、自己免疫疾患、バルーン血管形成術によって引き起こされた補体活性化、気管支収縮、水疱性類天疱瘡、火傷、C3系球体症、毛細管漏出症

候群、化学傷害、慢性閉塞性肺疾患、クローン病、糖尿病、糖尿病性黄斑浮腫、糖尿病性腎症、糖尿病性網膜症、呼吸困難、肺気腫、てんかん、線維形成性塵肺症、凍傷、地図状萎縮、糸球体症、グッドパスチャー症候群、ギラン・バレー症候群、血液透析で引き起こされた補体活性化、血液透析合併症、溶血性貧血、喀血、遺伝性血管浮腫、超急性同種移植片拒絶反応、過敏性肺臓炎、免疫複合体障害、免疫複合体関連炎症、自己免疫病の炎症、炎症性障害、遺伝的CD59欠損症、不活性粉塵および/または鉱物による損傷、IL-2療法の際のインターロイキン-2誘発有毒物、ループス腎炎、膜性増殖性糸球体腎炎、膜性増殖性腎臓炎、大動脈再建術後の腸間膜動脈再灌流、感染症後の腸間膜動脈再灌流、敗血症後の腸間膜動脈再灌流、多発性硬化症、重症筋無力症、心筋梗塞、視束脊髄炎、肥満、眼血管形成、有機性粉末病、寄生虫症、パーキンソン病、発作性夜間血色素尿症、肺炎、虚血後再灌流症状、心肺バイパスまたは腎臓バイパスにおけるポンプ後症候群（post-pump syndrome）、進行性腎不全、タンパク尿腎臓病、乾癬、肺塞栓症および梗塞症、肺線維症、肺血管炎、腎乏血、腎臓虚血再灌流障害、腎臓移植、関節リウマチ、統合失調症、煙害、卒中、全身性エリテマトーデス、全身性エリテマトーデス腎臓炎、熱傷、脳外傷、ぶどう膜炎、脈管炎、および異種移植拒絶反応であり得る。例えば、本発明の実施形態において、当該方法は、C5に特異的に結合する第1の抗原結合性タンパク質とC5に特異的に結合する第2の抗原結合性タンパク質とを対象に投与する工程を含み、この場合、当該第1および第2の抗原結合性タンパク質は、(a) C5上の異なる非重複エピトープに結合し、および/または(b)例えば、本明細書において説明される条件下において、C5への結合においてお互いに競合しない。

10

20

【0011】

本発明のキットは、当該第1の抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または断片）と；

上記さらなる抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、ポリペプチド、抗体、または断片）の1つまたはそれ以上と；場合により、1種またはそれ以上のさらなる治療薬と；をパッケージングする工程を含む方法によっても製造することができる。そのような方法の製造物であるキットも、本発明の一部である。

【0012】

本発明の合剤は、上記第1の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または断片）と；上記さらなる抗原結合性タンパク質（例えば、ポリペプチド、抗体、または断片）の1つまたはそれ以上と；場合により、1種またはそれ以上のさらなる治療薬と；薬学的に許容される担体とを、単一の医薬製剤へと合剤化する工程（例えば、混合工程）を含む方法によって製造することができる。そのような方法の製造物である合剤も、本発明の一部である。

30

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1A】血清および抗C5抗体H4H12166P、H4H12170P、H4H12161P、H4H12171P、H4H12175P、H4H12176P2、もしくはH4H12177P2の存在下での赤血球の溶血を示すグラフである。

【図1B】血清およびH4H12166P+H4H12170P；H4H12166P+H4H12161P；H4H12166P+H4H12171P；H4H12166P+H4H12175P；H4H12166P+H4H12176P2；もしくはH4H12166P+H4H12177P2の組み合わせ物の存在下での赤血球の溶血を示すグラフである。

40

【図2A】30分間または120分間インキュベートした、25%の血清およびH4H12166P、H4H12161P、もしくはH4H12166P+H4H12161Pの存在下での赤血球の溶血を示すグラフである。

【図2B】25%または48%の血清の存在下において120分間インキュベートした、赤血球およびH4H12166P、H4H12161P、もしくはH4H12166P+H4H12161Pの溶血を示すグラフである。

50

【図3】30分間または120分間インキュベートした、血清およびH4H12166P；H4H12170PFab、もしくはH4H12166P+H4H12170PFabの存在下での赤血球の溶血。

【図4】30分間インキュベートした、血清およびH4H12176P2；H4H12177P2；もしくはH4H12176P2+H4H12177P2の存在下での赤血球の溶血。

【図5A】30分間インキュベートした、血清およびH4H12170P、H4H12159P；もしくはH4H12170P+H4H12159Pの存在下での赤血球の溶血を示すグラフである。

【図5B】30分間インキュベートした、血清およびH4H12175P、H4H12177P2；もしくはH4H12175P+H4H12177P2の存在下での赤血球の溶血を示すグラフである。

【図5C】30分間インキュベートした、血清およびH4H12176P2、H4H12164P2；もしくはH4H12176P2+H4H12164P2との存在下での赤血球の溶血を示すグラフである。

【図5D】30分間インキュベートした、血清およびH4H12167P、H4H12163P；もしくはH4H12167P+H4H12163Pとの存在下での赤血球の溶血を示すグラフである。

【図6】単独またはC3タンパク質との組み合わせでのH4H12166P、H4H12161Pの存在下での赤血球の溶血。

【図7】H4H12166P；H4H12161P、またはH4H12166P+H4H12161Pの存在下でのC5aの生成。

【図8】溶血アッセイ；30分間インキュベートした25%の正常ヒト血清による副補体経路。

【図9】溶血アッセイ；25%のC5欠損正常ヒト血清による副補体経路；145nMのC5アドバックおよびC5に対する抗体の様々な比率。

【図10A】溶血アッセイ；25%のC5欠損正常ヒト血清による副補体経路；125nMのC5アドバック、およびC5に対する二重特異性抗C5抗体の様々な比率を示すグラフである。

【図10B】溶血アッセイ；25%のC5欠損正常ヒト血清による副補体経路；125nMのC5アドバック、およびC5に対する二重特異性抗C5抗体の様々な比率を示すグラフである。

【図11】二次抗体の非存在下でのH4H12166P：C5複合体(mAb：C5：：1μm：1μmの比率)のA4F-MALLS分析。

【図12】二次抗体(mAb2)、H4H12175P、またはH4H12177P2とのH4H12166P：C5複合体(mAb1：mAb2：C5：：0.5μm：0.5μm：1μmの比率)のA4F-MALLS分析。

【図13】H4H12166P：H4H12161P：hC5；H4H12166P：H4H12176P2：hC5；およびH4H12176P2：H4H12177P2：hC5複合体(mAb1：mAb2：C5：：0.5μm：0.5μm：1μmの比率)のA4F-MALLS分析。

【図14】二次抗体H4H12170PとのH4H12166P：C5複合体(mAb1：mAb2：C5：：0.5μm：0.5μm：1μmの比率)のA4F-MALLS分析。

【図15】二次抗体H4H12171PとのH4H12166P：C5複合体のA4F-MALLS分析(mAb1：mAb2：C5：：0.5μm：0.5μm：1μmの比率)。

【図16】様々な比率でのH4H12176P2×H4H12177P2：C5複合体(mAb：C5：：3：1、1：1または1：3)のA4F-MALLS分析。

【発明を実施するための形態】

10

20

30

40

50

【0014】

詳細な説明

本方法を記載する前に、本発明は、特定の方法、記載される実験条件に限定されず、そのような方法および条件は変わり得ることは理解されたい。本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるため、本明細書において使用される専門用語は、ただ単に特定の実施形態を記載する目的のためのものであり、限定することを意図するものではないことも理解されたい。

【0015】

特に明記されない限り、本明細書において使用される全ての技術的および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書において記載されるものと同様または同等の任意の方法および材料は、本発明の実践または試験において使用することができるが、好ましい方法および材料については、以下において記載する。本明細書において言及される全ての特許、出願、および刊行物は、参照によってその全体が本明細書に組み入れられる。

10

【0016】

定義

用語「表面プラズモン共鳴」は、本明細書において使用される場合、例えば、B I A C O R E (商標) システム (Pharmacia Biosensor AB、ウプサラ、スウェーデンおよびピスカタウェイ、ニュージャージー州) を使用した、バイオセンサマトリックス内でのタンパク質濃度における変化の検出によってリアルタイム生体分子相互作用の分析を可能にする光学現象を意味する。

20

【0017】

用語「 K_D 」は、本明細書において使用される場合、特定の抗体 - 抗原相互作用の平衡解離定数を意味することが意図される。

【0018】

配列同一性は、2つのポリペプチドの配列が最適に並べられている場合に当該2つのポリペプチドのアミノ酸が、等価の位置において同じであることの程度を意味する。配列類似性は、同一の残基と、同一でない生化学的に関連するアミノ酸とを含む。同様の化学的特性の側鎖を有するアミノ酸の基の例としては、1) 脂肪族側鎖：グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシン；2) 脂肪族ヒドロキシル側鎖：セリンおよびトレオニン；3) アミド含有側鎖：アスパラギンおよびグルタミン；4) 芳香族側鎖：フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファン；5) 塩基性側鎖：リシン、アルギニン、およびヒスチジン；6) 酸性側鎖：アスパルテートおよびグルタメート、および7) 硫黄含有側鎖：システインおよびメチオニン、が挙げられる。好ましい保存的アミノ酸置換基は、バリン - ロイシン - イソロイシン、フェニルアラニン - チロシン、リシン - アルギニン、アラニン - バリン、グルタメート - アスパルテート、およびアスパラギン - グルタミンである。あるいは、保存的な置換は、Gonnetら (1992) Science 256: 1443-45において開示されたPAM250対数尤度マトリックスにおいて正の値を有する任意の変化であり、なお、当該文献は、参照によって本明細書に組み入れる。「中程度に保存的な」置換は、PAM250対数尤度マトリックスにおいて負ではない値を有する任意の変化である。

30

40

【0019】

ポリペプチド、例えば、免疫グロブリン鎖またはCDRなど、の「変異体」は、アルゴリズムのパラメータがそれぞれの基準配列の長さ全体にわたってそれぞれの配列の間における最大一致を与えるように選択される(例えば、expect threshold: 10; word size: 3; max matches in a query range: 0; BLOSUM 62 matrix; gap costs: existence 11, extension 1; conditional compositional score matrix adjustment)、BLASTアルゴリズムによって比較が実施される場合に、本明細書に記載される基準アミ

50

ノ酸配列に対して少なくとも約70~99.9% (例えば、70%、72%、74%、75%、76%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%) 同一または同様であるアミノ酸配列を含むポリペプチドを意味する。

【0020】

ポリヌクレオチドの「変異体」は、アルゴリズムのパラメータがそれぞれの基準配列の長さ全体にわたってそれぞれの配列の間における最大一致を与えるように選択される (例えば、`expect threshold: 10; word size: 28; max matches in a query range: 0; match/mismatch scores: 1, -2; gap costs: linear`)、BLASTアルゴリズムによって比較が実施される場合に、本明細書に記載される基準ヌクレオチド配列に対して少なくとも約70~99.9% (例えば、70%、72%、74%、75%、76%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%) 同一または同様であるヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを意味する。

【0021】

以下の参考文献は、配列解析のためにしばしば使用されたBLASTアルゴリズムに関する：BLAST ALGORITHMS: Altschul (2005) FEBS J. 272(20): 5101~5109; Altschul, S. F. (1990) J. Mol. Biol. 215:403~410; Gish, W. (1993) Nature Genet. 3:266~272; Madden, T. L. (1996) Meth. Enzymol. 266:131~141; Altschul, S. F. (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389~3402; Zhang, J. (1997) Genome Res. 7:649~656; Wootton, J. C. (1993) Comput. Chem. 17:149~163; Hancock, J. M. (1994) Comput. Appl. Biosci. 10:67~70; ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M. O. (1978) "A model of evolutionary change in proteins." in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3. M. O. Dayhoff (ed.), 345~352ページ, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.; Schwartz, R. M. (1978) "Matrices for detecting distant relationships." in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3.; M. O. Dayhoff (ed.), 353~358ページ, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.; Altschul, S. F., (1991) J. Mol. Biol. 219:555~565; States, D. J. (1991) Methods 3:66~70; Henikoff, S. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915~10919; Altschul, S. F. (1993) J. Mol. Evol. 36:290~300; ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264~2268; Karlin, S. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873~5877; Dembo, A. (1994)

10

20

30

40

50

Ann. Prob. 22:2022~2039; および Altschul, S. F. "Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments." in Theoretical and Computational Methods in Genome Research (S. Suhai, ed.), (1997) 1~14 ページ, Plenum, NY.

【0022】

本明細書において使用される場合、用語「対象」は、C5 関連疾患または障害、例えば、非典型溶血性尿毒症候群 (aHUS) または発作性夜間血色素尿症 (PNH) など、の改善、予防、および/または治療を必要とする、動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトを意味する。当該用語は、そのような疾患または障害を有するかまたは有する危険性にあるヒト対象を包含する。

10

【0023】

本明細書において使用される場合、「組み合わせ物」は、抗 C5 抗原結合性タンパク質である第 1 の成分 (例えば、抗体または抗原結合性断片) と、抗 C5 抗原結合性タンパク質である 1 種もしくはそれ以上のさらなる成分 (例えば、抗体、抗原結合性断片、またはポリペプチド) とのコロケーションを意味する (例えば、H4H12166P と、H4H12161P、H4H12170P、H4H12171P、H4H12175P、H4H12176P2、または H4H12177P2 のうちの 1 つ)。そのようなコロケーションは、両方の成分を含む、単一の液体 (例えば、水溶性の) または乾燥 (例えば、凍結乾燥された) 組成物、例えば、医薬組成物、であり得る。コロケーションは、2 つまたはそれ以上の別々の容器または装置において各成分を含むキットであってもよい。本明細書において説明される治療または予防の方法に関連して使用される組み合わせ物に関して、当該組み合わせ物における各成分は、他方の成分が投与される時点とは異なる時点において対象に投与することができ; 例えば、各投与は、所定の期間を空けて、非同時に (例えば、別々に、または連続して) 行ってもよい。その上、当該別々の成分は、例えば、抗 C5 抗体は皮下に投与され、他方の抗 C5 抗体が静脈内に投与されるといったように、同じ経路または異なる経路によって対象に投与してもよい。本発明の実施形態において、組み合わせ物の成分は、複数のエピトープにおいて C5 に結合する、共通の分子、例えば、多重特異性分子 (例えば、二重特異性分子) に位置される。例えば、2 種の抗 C5 抗体または抗原結合性断片の組み合わせ物は、C5 上の第 1 のエピトープに結合する第 1 の抗原結合性ドメインと、C5 上の第 2 の異なるエピトープに結合するか、および/または C5 への結合において当該第 1 の抗原結合性ドメインと競合しない (例えば、本明細書においてさらに説明されるような) 第 2 の抗原結合性ドメインとを有する二重特異性またはバイラトピック抗体または断片を含む。

20

30

【0024】

C5

本発明は、C5 (「補体成分 5」または「補体因子 5」)、例えば、ヒト C5、に結合する抗原結合性タンパク質 (例えば、抗体および抗原結合性断片) を含む組み合わせ物に関する (例えば、H4H12166P と、H4H12161P、H4H12170P、H4H12171P、H4H12175P、H4H12176P2、または H4H12177P2 のうちの 1 つ)。

40

【0025】

C5 遺伝子は、炎症、宿主ホメオスタシス、および病原菌に対する宿主防衛において重要な役割を果たす先天性免疫反応の一部である、補体系の成分をコードする。C5 遺伝子産物は、C5 鎖、C5 鎖、C5 a アナフィラトキシン、および C5 b を含む、複数のタンパク質産物を生成するように、タンパク質分解的に処理される。C5 タンパク質は、ジスルフィド架橋によって連結された C5 および 鎖を含む。

【0026】

完全長 C5 タンパク質のアミノ酸配列は、受託番号 NP__001726.2 として Ge

50

n B a n k において提供されるアミノ酸配列（配列番号 1）によって例示される。用語「C 5」は、組換え C 5 タンパク質またはその断片（例えば、N 末端シグナルペプチドを欠く成熟断片）を包含する。当該用語は、例えば、ヒスチジンタグ、マウスもしくはヒト Fc、または R O R 1 などのシグナル配列に結合した、C 5 タンパク質またはその断片も包含する。当該用語は、R 8 8 5 H 変化または R 8 8 5 C 変化を有する完全長 C 5 タンパク質のアミノ酸残基 1 9 ~ 1 6 7 6 に結合した、C 末端においてヒスチジンタグを含むタンパク質変異体も包含する。本発明の実施形態において、ヒト C 5 は、配列番号 1 に記載される当該アミノ酸配列を含む。

【 0 0 2 7 】

抗 C 5 抗体、断片、およびポリペプチド

10

本発明は、C 5 に特異的に結合する第 1 の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性断片）と、(i) 当該第 1 の抗原結合性タンパクとは異なるエピトープにおいて C 5 に特異的に結合し；および/または (i i) C 5 への結合において当該第 1 の抗原結合性タンパク質と競合しない、1 つまたはそれ以上のさらなる抗原結合性タンパク質（例えば、ポリペプチドまたは抗体またはその抗原結合性断片）とを含む組み合わせ物を提供する（例えば、H 4 H 1 2 1 6 6 P と、H 4 H 1 2 1 6 1 P、H 4 H 1 2 1 7 0 P、H 4 H 1 2 1 7 1 P、H 4 H 1 2 1 7 5 P、H 4 H 1 2 1 7 6 P 2、または H 4 H 1 2 1 7 7 P 2 のうちの 1 つ）。

【 0 0 2 8 】

抗 C 5 「抗原結合性タンパク質」は、C 5 ポリペプチドに特異的に結合する、ポリペプチドまたは 2 種以上のポリペプチドの複合体（例えば、四量体 I g G 抗体）、例えば、抗 C 5 抗体または抗原結合性断片、である。

20

【 0 0 2 9 】

例えば、本発明は、抗体 H 4 H 1 2 1 6 6 P（またはその抗原結合性断片）と、H 4 H 1 2 1 6 1 P、H 4 H 1 2 1 7 0 P、H 4 H 1 2 1 7 1 P、H 4 H 1 2 1 7 5 P、H 4 H 1 2 1 7 6 P 2、および H 4 H 1 2 1 7 7 P 2；またはエクリズマブ（「ソリリス」として販売される）；またはポリペプチドであるオルニトドラス・モウバータ（Ornithodoros moubata）OmC I（またはその変異体）または E V 5 7 6（cover sin）から選択される任意の 1 つまたはそれ以上の抗体（またはその抗原結合性断片）とを含む組み合わせ物を含む。国際特許出願公開番号 W O 2 0 0 4 1 0 6 3 6 9、または米国特許出願公開番号 U S 2 0 1 7 0 0 6 5 6 7 7 号、または W O 2 0 0 7 0 2 8 9 6 8 を参照されたい。

30

【 0 0 3 0 】

用語「抗体」は、本明細書において使用される場合、ジスルフィド結合によって相互接続された、4 つのポリペプチド鎖、2 つの重（H）鎖、および 2 つの軽（L）鎖を含む免疫グロブリン分子（すなわち、「完全抗体分子」）である抗原結合性タンパク質、ならびにその多量体（例えば、I g M）またはその抗原結合性断片を意味する。各重鎖は、重鎖可変領域（「H C V R」または「V_H」）と、重鎖定常領域（ドメイン C_{H1}、C_{H2}、および C_{H3} を含む）とを含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（「L C V R」または「V_L」）と、軽鎖定常領域（C_L）とを含む。V_H および V_L 領域はさらに、フレームワーク領域（F R）と呼ばれる、より変異の少ない領域が散在する、「相補性決定領域」（C D R）と呼ばれる超変異性領域にさらに分けることができる。各 V_H および V_L は、以下の順序：F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、F R 4、においてアミノ末端からカルボキシ末端まで整列された 3 つの C D R および 4 つの F R で構成される。本発明のある特定の実施形態において、抗体（またはその抗原結合性断片）の F R は、ヒト生殖系列配列と同一であり得るか、または天然的にもしくは人工的に修飾される。

40

【 0 0 3 1 】

本発明は、第 1 のエピトープにおいて C 5 に結合する第 1 の抗原結合性ドメインと、(i) 当該第 1 の抗原結合性ドメインとは異なる第 2 のエピトープにおいて C 5 に特異的に結合し；および/または (i i) C 5 への結合において当該第 1 の抗原結合性ドメインと

50

競合しない（または、当該第1の抗原結合性ドメインと第2の抗原結合性ドメインが、競合に対して試験された別々の単一特異性（例えば、二価のIgG）タンパク質（例えば、抗体）にある場合に、競合しないであろう）、第2の抗原結合性ドメインを含む、多重特異性（例えば、二重特異性）抗原結合性タンパク質（例えば、抗体およびその抗原結合性断片）である組み合わせ物を含む。二重特異性抗原結合性タンパク質（例えば、抗体）は、当該分子が、同じ抗原（C5）内の2つのエピトープに結合する限りにおいて、バイパラトピックとも呼ばれる。例えば、本発明の実施形態において、当該第1の抗原結合性ドメインは、H4H12166Pの、重鎖および軽鎖CDR（CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3）またはV_HおよびV_Lまたは重鎖および軽鎖を含み、ならびに当該第2の抗原結合性ドメインは、H4H12161P、H4H12170P、H4H12171P、H4H12175P、H4H12176P2、もしくはH4H12177P2の、重鎖または軽鎖CDR（CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3）またはV_HおよびV_Lまたは重鎖および軽鎖を含む。例えば、本発明の実施形態において、当該バイパラトピック抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または抗原結合性断片）は、2つの重鎖/軽鎖対を含む四量体である二重特異性IgG形式（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4（例えば、Ser228Pro変異を有する））である。本発明の実施形態において、そのままならバイパラトピックである抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または断片）に、1つまたはそれ以上の追加の抗原結合性免疫グロブリン（例えば、追加のC5結合性免疫グロブリン）または追加のポリペプチド（例えば、coversin）が付加される。本発明は、当該抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または断片）とは異なるエピトープにおいてC5に結合し、および/またはC5への結合において当該抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または断片）と競合しない、ポリペプチド（例えば、coversin）と連結された抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性断片）も提供する。本発明の実施形態において、当該二重特異性抗原結合性タンパク質は、完全二重特異性抗体（例えば、IgG抗体）のF(ab')₂、例えば、二重特異性IgG抗体のペプシン切断の生成物である。本発明の実施形態において、当該二重特異性抗原結合性タンパク質は、第2のC5エピトープに結合する第2のV_HおよびV_Lに、例えば、リンカ（例えば、ペプチドリムカ）などを介して連結された第1のC5エピトープに結合するV_LおよびV_Hを含む、二価/二重特異性scFvである。

【0032】

本明細書において説明される抗体および抗原結合性断片は、それらの重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、異なるクラスに分類される。免疫グロブリンの少なくとも5つの主要なクラス：IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgM、が存在し、これらのいくつかは、さらに、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4；IgA1およびIgA2、に分けられる。ヒト重鎖定常領域は、Ser228Pro変異を有する - 4（IgG4）であり得る（Schuurman, Jら, Mol. Immunol. 38: 1~8, 2001）。抗体または抗原結合性断片は、軽鎖定常領域、例えば、ヒト軽鎖定常領域（例えば、またはヒト軽鎖領域）などを含むことができる。本明細書において説明される当該抗C5抗体および抗原結合性断片V_H鎖は、本明細書において説明される定常重鎖のいずれかに連結される。本明細書において説明される当該抗C5抗体および抗原結合性断片V_L鎖は、本明細書において説明される定常軽鎖のいずれかに連結される。

【0033】

本明細書において説明される抗体および抗原結合性断片は、本明細書において記載されるV_Hおよび/またはV_Lならびに修飾されたFcを含み得る。そのようなFc修飾の非限定的な例としては、例えば、位置250（例えば、EまたはQ）；250および428（例えば、LまたはF）；252（例えば、L/Y/F/WまたはT）、254（例えば、SまたはT）、および256（例えば、S/R/Q/E/DまたはT）における修飾；

または位置 4 2 8 および / または 4 3 3 (例 えば、 H / L / R / S / P / Q または K) および / または 4 3 4 (例 えば、 A、 W、 H、 F、 または Y [N 4 3 4 A、 N 4 3 4 W、 N 4 3 4 H、 N 4 3 4 F、 または N 4 3 4 Y]) における修飾 ; または位置 2 5 0 および / または 4 2 8 における修飾 ; または位置 3 0 7 もしくは 3 0 8 (例 えば、 3 0 8 F、 V 3 0 8 F)、 および 4 3 4 における修飾が挙げられる。一実施形態において、当該修飾は、 4 2 8 L (例 えば、 M 4 2 8 L) および 4 3 4 S (例 えば、 N 4 3 4 S) 修飾 ; 4 2 8 L、 2 5 9 I (例 えば、 V 2 5 9 I)、 および 3 0 8 F (例 えば、 V 3 0 8 F) 修飾 ; 4 3 3 K (例 えば、 H 4 3 3 K) および 4 3 4 (例 えば、 4 3 4 Y) 修飾 ; 2 5 2、 2 5 4、 および 2 5 6 (例 えば、 2 5 2 Y、 2 5 4 T、 および 2 5 6 E) 修飾 ; 2 5 0 Q および 4 2 8 L 修飾 (例 えば、 T 2 5 0 Q、 および M 4 2 8 L) ; および 3 0 7 および / または 3 0 8 修飾 (例 えば、 3 0 8 F または 3 0 8 P) を含む。さらなる別の実施形態において、当該修飾は、 2 6 5 A (例 えば、 D 2 6 5 A) および / または 2 9 7 A (例 えば、 N 2 9 7 A) 修飾を含む。本発明の実施形態において、組み合わせ物は、 2 5 0 Q および 2 4 8 L (例 えば、 T 2 5 0 Q および M 2 4 8 L) ; 2 5 2 Y、 2 5 4 T、 および 2 5 6 E (例 えば、 M 2 5 2 Y、 S 2 5 4 T、 および T 2 5 6 E) ; 4 2 8 L および 4 3 4 S (例 えば、 M 4 2 8 L および N 4 3 4 S) ; 2 5 7 I および 3 1 1 I (例 えば、 P 2 5 7 I および Q 3 1 1 I) ; 2 5 7 I および 4 3 4 H (例 えば、 P 2 5 7 I および N 4 3 4 H) ; 3 7 6 V および 4 3 4 H (例 えば、 D 3 7 6 V および N 4 3 4 H) ; 3 0 7 A、 3 8 0 A、 および 4 3 4 A (例 えば、 T 3 0 7 A、 E 3 8 0 A、 および N 4 3 4 A) ; ならびに 4 3 3 K および 4 3 4 F (例 えば、 H 4 3 3 K および N 4 3 4 F) からなる群より選択される変異の 1 つまたはそれ以上の対または群を含む F c ドメインを含む 1 つまたはそれ以上の抗 C 5 抗体または抗原結合性断片を含む。本明細書において開示される抗体可変ドメイン内の前述の F c ドメイン変異および他の変異の全ての可能な組み合わせは、本発明の範囲内であることが想定される。

【 0 0 3 4 】

免疫グロブリン鎖内の C D R の識別は、当技術分野において周知である。本発明の実施形態において、各ドメインへのアミノ酸の割り当ては、 Sequences of Proteins of Immunological Interest, Kabat & National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32 : 1 ~ 75 ; Kabat & (1977) J. Biol. Chem. 252 : 6609 ~ 6616 ; Chothia & (1987) J Mol. Biol. 196 : 901 ~ 917 または Chothia & (1989) Nature 342 : 878 ~ 883 の定義に従う。したがって、所定の免疫グロブリン鎖における C D R について言及する場合、本発明の実施形態において、当該 C D R は、上記に列記される慣例および方法のいずれかを使用して識別される。

【 0 0 3 5 】

本発明は、本明細書において詳細に説明される配列ならびにその変異体を含む、抗 C 5 抗体および抗原結合性断片およびポリペプチドに関する。本明細書において開示される抗 C 5 抗体または断片の変異体は、本明細書において記載される対応する特定の配列と比較した場合に、重鎖および / または軽鎖可変ドメインのフレームワークおよび / または C D R 領域における (例 えば、 C D R - H 1、 C D R - H 2、 C D R - H 3、 C D R - L 1、 C D R - L 2 および / または C D R - L 3 の任意の 1 つまたはそれ以上における) 1 つまたはそれ以上 (例 えば、 1、 2、 3、 4、 5、 6、 7、 8、 9、 または 10) のアミノ酸の置換、挿入、および / または欠失を含み得る。本発明の実施形態において、抗 C 5 抗体または断片の変異体は、 1 つまたはそれ以上の保存的置換を有し ; 例 えば、本明細書において詳細に開示される H C V R、 L C V R、 および / または C D R アミノ酸配列のいずれかと比べて 10 以下、 8 以下、 6 以下、 4 以下などの保存的アミノ酸置換を有する H C V R、 L C V R、 および / または C D R アミノ酸配列を有する。本発明の実施形態において

、抗C5抗体、断片、またはポリペプチドは、アルゴリズムのパラメータがそれぞれの基準配列の長さ全体にわたってそれぞれの配列の間における最大の一致を与えるように選択されるBLASTアルゴリズムによって比較が実施される場合（例えば、expect threshold:10;word size:3;max matches in a query range:0;BLOSUM 62 matrix;gap costs:existence 11,extension 1;conditional compositional score matrix adjustment）、本明細書において詳細に記載される、言及されたアミノ酸配列に対して少なくとも70~99.9%（70%、72%、74%、75%、76%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%）同一または同様であるポリペプチド（例えば、免疫グロブリン重鎖および/または軽鎖可変領域）アミノ酸配列を含む変異体である。本発明の実施形態において、そのような変異体は、C5に結合する能力を維持する。

10

20

30

40

50

【0036】

本発明の実施形態において、当該抗C5抗体または抗原結合性断片は、配列番号3、19、35、51、67、82、84、87、または103に記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも70%同一であるアミノ酸を含む重鎖、および/または配列番号11、27、43、59、75、83、85、または95に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも70%同一であるアミノ酸を含む軽鎖を含む。例えば、本発明の実施形態において、免疫グロブリン鎖の配列同一性全体は、基準免疫グロブリン鎖アミノ酸配列と比べて100%未満であるが、当該免疫グロブリン鎖は、当該基準免疫グロブリン鎖におけるCDRに対して100%同一であるCDR1、CDR2、およびCDR3を含む。

【0037】

本発明は、ヒト抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、抗体およびその抗原結合性断片）を含む組み合わせ物にも関する。用語「ヒト抗体」は、本明細書において使用される場合、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する抗体を包含する。本発明のヒトmAbは、例えば、CDRおよび特定のCDR3における、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列（例えば、インビトロでのランダムまたは部位特異的変異誘発によって、またはインビボでの体細胞変異によって導入された変異）によってコードされないアミノ酸残基を含み得る。しかしながら、用語「ヒト抗体」は、本明細書において使用される場合、別の哺乳動物種（例えば、マウス）の生殖系列に由来するCDR配列がヒトFR配列上へと移植されているmAbを包含することは意図しない。当該用語は、非ヒト哺乳動物または非ヒト哺乳動物の細胞において組換えにより産生された抗体を包含する。当該用語は、ヒト対象から単離された、またはヒト対象において産生された抗体を包含することは意図しない。トランスジェニックマウスにおいてヒト抗体を産生させる方法は、当技術分野において既知である。任意のそのような既知の方法は、C5タンパク質に特異的に結合するヒト抗体を作製するために、本発明との関連において使用することができる。VELOCIMMUNE（登録商標）技術（例えば、US 6,596,541、Regeneron Pharmaceuticals、VELOCIMMUNE（登録商標）を参照されたい）、またはモノクローナル抗体を作製するための任意の他の既知の方法を使用することにより、ヒト可変領域とマウス定常領域とを有する、C5に対して高親和性のキメラ抗体を、最初に単離することができる。VELOCIMMUNE（登録商標）技術は、当該マウスが、抗原刺激に応じて、ヒト可変領域とマウス定常領域とを含む抗体を産生するように、内因性マウス定常領域遺伝子座に作動可能に連結されたヒト重鎖および軽鎖可変領域を含むゲノムを有するトランスジェニックマウスの作製を伴う。当該抗体の重鎖および軽鎖可変領域をコードするDNAは、単離して、ヒト重鎖および軽鎖定常領域をコードするDNAに作動可能に連結させることができる。次いで、当該DNAは、完全ヒト抗体を発現することができる細胞において発現される。一般的に、VELOCIMMUNE（登録商標）マウスは、関心対象の抗原を投与され、リンパ球細胞（例えば

、B細胞など)が、抗体を発現するマウスから回収される。当該リンパ球細胞は、不死性ハイブリドーマ細胞株を製造するために、骨髓腫細胞株と融合され、そのようなハイブリドーマ細胞株は、関心対象の抗原に対して特異的な抗体を産生するハイブリドーマ細胞株を識別するために、スクリーニングされ、選択される。重鎖および軽鎖可変領域をコードするDNAは、単離され、当該重鎖および軽鎖における望ましいアイソタイプの定常領域に連結される。そのような抗体タンパク質は、細胞、例えば、CHO細胞など、において産生される。あるいは、抗原特異的キメラ抗体または軽鎖および重鎖の可変ドメインをコードするDNAは、抗原特異的リンパ球から直接単離される。

【0038】

本発明は、組換え抗C5抗原結合性タンパク質(例えば、抗体およびその抗原結合性断片)を含む組み合わせ物にも関する。用語「組換え」は、本明細書において使用される場合、例えば、DNAスプライシングおよびトランスジェニック発現などを含む組換えDNA技術のような当該技術分野において既知の技術または方法によって、作製、発現、単離された、またはそれによって得られた、本発明の抗体またはその抗原結合性断片を意味する。当該用語は、非ヒト哺乳動物(トランスジェニック非ヒト哺乳動物、例えば、トランスジェニックマウスなどを含む)、または細胞(例えば、CHO細胞)発現系において発現された、または組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された、抗原結合性タンパク質、例えば、抗体などを意味する。例えば、米国特許第4816567号;同第6331415号、および同第7923221号を参照されたい。

【0039】

本発明は、阻止または無力化する抗C5抗原結合性タンパク質(例えば、抗体およびその抗原結合性断片ならびにポリペプチド)を含む組み合わせ物にも関する。本明細書において使用される場合、「阻止する」または「無力化する」抗原結合性タンパク質、例えば、抗体、断片、またはポリペプチド(または、「C5活性を無力化する」抗体、断片、もしくはポリペプチド、または「アンタゴニスト」抗体、断片、またはポリペプチド)は、C5への結合が、結果としてC5の少なくとも1つの生物活性の阻害を生じるようなタンパク質を意味することが意図される。例えば、本発明の抗体は、例えば、古典的経路または副経路によって、(例えば、赤血球の)補体媒介性溶血を予防または阻止し得る。

【0040】

本発明は、抗体の抗原結合性断片である抗C5抗原結合性タンパク質を含む組み合わせ物にも関する。抗体の「抗原結合性部分」、抗体の「抗原結合性断片」などの用語は、本明細書において使用される場合、抗原に特異的に結合して複合体を形成する、完全抗体以外の、天然に存在する、酵素により得ることができる、合成の、または遺伝子工学的に操作されたポリペプチドまたは糖タンパク質を包含する。抗体の「抗原結合性断片」、または「抗体断片」なる用語は、本明細書において使用される場合、C5タンパク質に結合する能力を維持する、抗体の1つまたはそれ以上の断片を意味する。抗原結合性断片としては、(i)Fab断片;(ii)F(ab')₂断片;(iii)Fd断片;(iv)Fv断片;(v)単鎖Fv(scFv)分子;(vi)dAb断片;および(vii)抗体の超可変領域(例えば、単離された相補性決定領域(CDR)、例えば、CDR3ペプチドなど)または拘束されたFR3-CDR3-FR4ペプチドを模倣するアミノ酸残基を含む模倣認識ユニット、が挙げられる。他の工学的に操作された分子、例えば、ドメイン特異的抗体、単ドメイン抗体、ドメイン欠失抗体、キメラ抗体、CDR移植抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、ナノボディ(例えば、一価のナノボディ、二価のナノボディなど)、小モジュラー免疫薬(SMIPs)、および、サメ可変IgNARDドメインなど、も、本明細書において使用される表現「抗原結合性断片」に包含される。ある特定の実施形態において、用語「抗原結合性断片」は、多重特異性抗原結合性分子のポリペプチド断片を意味する。抗体の抗原結合性断片は、任意の好適な標準的技術、例えば、抗体可変ドメインおよび(場合により)定常ドメインをコードするDNAの操作および発現を伴う、タンパク質分解的消化または組換え遺伝子工学技術などを使用して、例えば、完全抗体分子から誘導される。そのようなDNAは、既知であり、およ

10

20

30

40

50

び/または、例えば、市販の供給元、DNAライブラリー（ファージ抗体ライブラリーを含む）から容易に入手可能であり、または合成することができる。当該DNAは、配列決定され、例えば、1つまたはそれ以上の可変ドメインおよび/または定常ドメインを好適な立体配置へと整列させるため、または、コドンを導入するため、システイン残基を作り出すため、アミノ酸を修飾、追加、または欠失するために、化学的に、または、分子生物学技術を使用することなどによって、操作される。

【0041】

本発明の実施形態において、抗体の抗原結合性断片は、少なくとも1つの可変ドメインを含む。当該可変ドメインは、任意のサイズまたはアミノ酸組成であり、概して、1つまたはそれ以上のフレームワーク配列に隣接するかまたはインフレームにおける、少なくとも1つのCDRを含む。V_Lドメインが不随するV_Hドメインを有する抗原結合性断片において、当該V_HおよびV_Lドメインは、お互いに対して任意の好適な配置になっている。例えば、当該可変領域は、二量体であり、V_H-V_H、V_H-V_L、またはV_L-V_L二量体を含有する。あるいは、抗体の抗原結合性断片は、モノメリックV_HまたはV_Lドメインを含有し得る。

10

【0042】

ある特定の実施形態において、抗体の抗原結合性断片は、少なくとも1つの定常ドメインに共有結合によって連結された少なくとも1つの可変ドメインを含む。本発明の抗体の抗原結合性断片内に見出される可変ドメインおよび定常ドメインの非限定的な例示の立体配置は、

20

- (i) V_H-C_{H1};
- (ii) V_H-C_{H2};
- (iii) V_H-C_{H3};
- (iv) V_H-C_{H1}-C_{H2};
- (v) V_H-C_{H1}-C_{H2}-C_{H3};
- (vi) V_H-C_{H2}-C_{H3};
- (vii) V_H-C_L;
- (viii) V_L-C_{H1};
- (ix) V_L-C_{H2};
- (x) V_L-C_{H3};
- (xi) V_L-C_{H1}-C_{H2};
- (xii) V_L-C_{H1}-C_{H2}-C_{H3};
- (xiii) V_L-C_{H2}-C_{H3};および
- (xiv) V_L-C_L

30

を含む。上記に一覧した例示的立体配置のいずれかを含む、可変ドメインおよび定常ドメインの任意の立体配置において、当該可変ドメインおよび定常ドメインは、お互いに直接連結されているか、または完全または部分的ヒンジ領域またはリンカ領域によって連結される。ヒンジ領域は、少なくとも2（例えば、5、10、15、20、40、60、またはそれ以上）のアミノ酸からなり得、結果として、単一のポリペプチド分子において、隣接する可変ドメインおよび/または定常ドメインの間に、フレキシブルまたはセミフレキシブルな結合を生じる。その上、本発明の抗体の抗原結合性断片は、（例えば、ジスルフィド結合による）お互いとのおよび/または1つもしくはそれ以上の単量体V_HまたはV_Lドメインとの非共有結合性会合における、上記において一覧した可変ドメインおよび定常ドメインの立体配置のいずれかにおけるホモ二量体またはヘテロ二量体（または他の多量体）を含み得る。

40

【0043】

本発明は、多重特異性（例えば、二重特異性）抗原結合性タンパク質（例えば、抗体、抗原結合性断片、またはポリペプチド）を含む組み合わせ物にも関する。多重特異性なる用語は、マルチパラトピック（およびバイパラトピック）なる用語を包含する。マルチパラトピック分子は、同じ抗原内の複数のエピトープに結合する。抗体の多重特異性抗原結

50

合性断片は、典型的には、少なくとも2つの異なる可変ドメインを含み、この場合、各可変ドメインは、異なる抗原に、または同じ抗原上の異なるエピトープに（例えば、バイパラトピック）、特異的に結合することができる。バイパラトピックIgG抗体は、C5内の2つの異なるエピトープに結合する2つの異なる重鎖/軽鎖対を含む。

【0044】

「単離された」抗原結合性タンパク質、例えば、抗体またはその抗原結合性断片、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、およびベクターは、細胞またはそれらが産生される細胞培養物由来の他の生物学的分子を少なくとも部分的に含有しない。そのような生物学的分子としては、核酸、タンパク質、他の抗体もしくは抗原結合性断片、脂質、炭水化物、または他の物質、例えば、細胞残屑および増殖培地など、が挙げられる。単離された抗体もしくはその抗原結合性断片、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、およびベクターは、さらに、宿主細胞由来の、またはそれらの増殖培地の、発現系成分、例えば、生物学的分子などを少なくとも部分的に含有しない。一般的に、用語「単離された」は、そのような生物学的分子の完全な不在、または水、緩衝液、もしくは塩の不在、または当該抗体もしくはその抗原結合性断片、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、および/またはベクターを含む医薬製剤の成分を意味することを意図しない。

10

【0045】

用語「特異的に結合する (specifically binds)」、または「に特異的に結合する (binds specifically to)」などは、抗原結合性タンパク質、例えば、抗体またはその抗原結合性断片、が、生理的狀態下において比較的安定である抗原と複合体を形成することを意味する。特異的結合は、SPRによって測定した場合の、25 での、C5への結合に対する少なくとも約 1×10^{-8} Mまたはそれ未満（例えば、より小さい K_D は、より強い結合を示す）、例えば、少なくとも 10^{-9} Mもしくは 10^{-10} M、もしくは少なくとも 1.29×10^{-10} M、またはSPRによって測定した場合の、37 での、C5への結合に対する少なくとも 2.62×10^{-10} M、の平衡解離定数によって特徴付けることができる。

20

【0046】

用語「抗C5」は、C5ポリペプチドまたはその免疫原性断片に特異的に結合する抗原結合性タンパク質、例えば、抗体、抗原結合性断片、ポリペプチド、または他の分子を意味する。

30

【0047】

2つの分子が特異的に結合するか否かを特定する方法は、当技術分野において周知であり、そのようなものとして、例えば、平衡透析法、表面プラズモン共鳴法などが挙げられる。本明細書において記載されるように、C5に特異的に結合する抗体は、表面プラズモン共鳴法、例えば、BIACORE（商標）、によって識別された。

【0048】

本発明の実施形態において、抗原結合性タンパク質、例えば、本発明の抗体または抗体断片は、リガンドもしくは治療部分（「免疫複合体」）、第2の第二抗C5抗体、またはC5関連疾患または障害の治療にとって有用な任意の他の治療部分などの部分にコンジュゲートされる。本発明の実施形態において、本明細書において記載されるような、抗C5抗原結合性タンパク質、例えば、抗体またはその抗原結合性断片は、conversionポリペプチドにコンジュゲートされる。

40

【0049】

それぞれがC5結合においてH4H12166Pと競合しないような、抗C5抗体および抗原結合性断片の選択としては、H4H12161P、H4H12170P、H4H12171P、H4H12175P、H4H12176P2、およびH4H12177P2が挙げられる。本発明は、これらの抗体またはその抗原結合性断片の任意の2つまたはそれ以上を含む組み合わせ物を含む。上記において説明したように、組み合わせ物は、一方のそのような抗体の重鎖および軽鎖と、別のそのような抗体の重鎖および軽鎖とを含む多重特異性（例えば、二重特異性）抗体であり得る。例えば、本発明の範囲は、抗原結合性

50

ドメインを形成するために、H4H12161P、H4H12166P、H4H12170P、H4H12171P、H4H12175P、H4H12176P2、およびH4H12177P2のいずれかから選んだ重鎖免疫グロブリンおよび軽鎖免疫グロブリンの組み合わせ物と、異なる抗原結合性ドメインを形成するために、H4H12161P、H4H12166P、H4H12170P、H4H12171P、H4H12175P、H4H12176P2、およびH4H12177P2のいずれかから選んだ異なる重鎖免疫グロブリンおよび異なる軽鎖免疫グロブリンの組み合わせ物とを含む二重特異性抗体またはその抗原結合性断片を含む。本発明のいくつかの二重特異性抗体および抗原結合性断片を構築する軽鎖および重鎖組み合わせ物のまとめが、以下の表Aに記載される。「X」は、水平軸における抗体からの抗原結合性ドメインと、垂直軸における抗体からの抗原結合性ドメインとを含む二重特異性抗体を示している（例えば、H4H12176P2 x H4H12177P2二重特異性抗体）。本明細書において使用される場合、二重特異性抗体は、「A x B」と呼ばれ、この場合、Aは、第1の抗体の抗原結合性ドメインであり、Bは、第2の別の抗体由来の抗原結合性ドメインである。

10

【0050】

【表1】

表A. 例示的二重特異性抗体鎖組み合わせ物*

	H4H12161P	H4H12166P	H4H12170P	H4H12171P	H4H12175P	H4H12176P2	H4H12177P2
H4H12161P							
H4H12166P	X						
H4H12170P	X	X					
H4H12171P	X	X	X				
H4H12175P	X	X	X	X			
H4H12176P2	X	X	X	X	X		
H4H12177P2	X	X	X	X		X	

20

*「X」と共に表Aに示された2つの別々の抗原結合性タンパク質を含む組み合わせ物も本発明の一部である。

【0051】

例えば、「H4H12161P」、「H4H12166P」、「H4H12170P」、「H4H12171P」、「H4H12175P」、「H4H12176P2」、および「H4H12177P2」は、以下において記載される重鎖もしくはV_H（またはその変異体）および軽鎖もしくはV_L（またはその変異体）を含むか、または、そのCDR（CDR-H1（またはその変異体）、CDR-H2（またはその変異体）、およびCDR-H3（またはその変異体））を含むV_Hと、そのCDR（CDR-L1（またはその変異体）、CDR-L2（またはその変異体）、およびCDR-L3（またはその変異体））を含むV_Lとを含む、抗体およびその抗原結合性断片（または、二重特異性抗体または抗原結合性断片との関連において、その抗原結合性ドメイン）を意味し、例えば、その場合、当該免疫グロブリン鎖、可変領域、および/またはCDRは、以下において記載される特定のアミノ酸を含む。そのような用語体系は、WO2017/218515において開示される、他の抗体および抗原結合性断片およびその抗原結合性ドメインを意味するために本明細書において使用される。

30

40

【0052】

したがって、本発明は、これらに限定されるわけではないが、「H4H12161P x H4H12177P2」；「H4H12166P x H4H12177P2」；「H4H12170P x H4H12177P2」；「H4H12171P x H4H12177P2」；「H4H12176P2 x H4H12177P2」；「H4H12176P2 x H4H12161P」；「H4H12176P2 x H4H12166P」；「H4H12176P2 x H4H12170P」；「H4H12176P2 x H4H12171P」；「H4H12176P2 x H4H12175P」；「H4H12175P x H4H12161P」；「H4H12175P x H4H12166P」；「H4H12175P x H4H12

50

170P」；「H4H12175P×H4H12171P」；「H4H12171P×H4H12161P」；「H4H12171P×H4H12166P」；「H4H12171P×H4H12170P」；「H4H12170P×H4H12161P」；「H4H12170P×H4H12166P」；および「H4H12166P×H4H12161P」を含む、多重特異性（例えば、二重特異性またはバイパラトピック）抗体およびその抗原結合性断片を含む。

【0053】

例えば、当該多重特異性（例えば、二重特異性またはバイパラトピック）抗体または抗原結合性断片H4H12176P2×H4H12177P2は、

(1)

配列番号87に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖免疫グロブリンまたはその可変領域のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む重鎖免疫グロブリンまたはその可変領域；またはその変異体と；

配列番号95に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖免疫グロブリンまたはその可変領域のCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む軽鎖免疫グロブリンまたはその可変領域、またはその変異体と；

を含む第1の抗原結合性ドメイン；および、

配列番号103に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖免疫グロブリンまたはその可変領域のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む重鎖免疫グロブリンまたはその可変領域；またはその変異体と；

配列番号95に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖免疫グロブリンまたはその可変領域のCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む軽鎖免疫グロブリンまたはその可変領域、またはその変異体と、

を含む第2の抗原結合性ドメイン；

または

(2)

配列番号89に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-H1と；

配列番号91に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-H2と；

配列番号93に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-H3と

を含む重鎖可変領域；および、

配列番号97に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-L1と；

配列番号99に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-L2と；

配列番号101に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-L3と

を含む軽鎖可変領域

を含む第1の抗原結合性ドメイン、

および

配列番号105に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-H1と；

配列番号107に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-H2と；

配列番号109に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-H3と

を含む重鎖可変領域；および

配列番号97に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-L1と；

配列番号99に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-L2と；

配列番号101に記載されるアミノ酸配列を含むCDR-L3と

を含む軽鎖可変領域

を含む第2の抗原結合性ドメイン；

または、

(3)

(a) 配列番号87に記載されるアミノ酸配列および配列番号87に記載される当該アミノ酸配列に対して少なくとも90%のアミノ酸配列同一性を含む重鎖免疫グロブリンまたはその可変領域のCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む重鎖免疫グロ

10

20

30

40

50

ブリンまたはその可変領域；および/または

(b) 配列番号 95 に記載されるアミノ酸配列および配列番号 95 に記載される当該アミノ酸配列に対して少なくとも 90% のアミノ酸配列同一性を含む軽鎖免疫グロブリンまたはその可変領域の CDR - L1、CDR - L2、および CDR - L3 を含む軽鎖免疫グロブリンまたはその可変領域

を含む第 1 の抗原結合性ドメイン、

(a) 配列番号 103 に記載されるアミノ酸配列および配列番号 103 に記載される当該アミノ酸配列に対して少なくとも 90% のアミノ酸配列同一性を含む重鎖免疫グロブリンまたはその可変領域の CDR - H1、CDR - H2、および CDR - H3 を含む重鎖免疫グロブリンまたはその可変領域；および/または

(b) 配列番号 95 に記載されるアミノ酸配列および配列番号 95 に記載される当該アミノ酸配列に対して少なくとも 90% のアミノ酸配列同一性を含む軽鎖免疫グロブリンまたはその可変領域の CDR - L1、CDR - L2、および CDR - L3 を含む軽鎖免疫グロブリンまたはその可変領域

を含む第 2 の抗原結合性ドメイン

または

(4)

配列番号 87 に記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90% (例えば、100%) のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖免疫グロブリンまたはその可変領域；および/または

配列番号 95 に記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90% (例えば、100%) のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖免疫グロブリンまたはその可変領域；

を含む第 1 の抗原結合性ドメイン；および、

配列番号 103 に記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90% (例えば、100%) のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖免疫グロブリンまたはその可変領域；および/または

配列番号 95 に記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90% (例えば、100%) のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖免疫グロブリンまたはその可変領域

を含む第 2 の抗原結合性ドメイン

を含む。

* 本明細書において記載される免疫グロブリン鎖の他の組み合わせ物を含む類似の多重特異性抗原結合性タンパク質の実施形態も、本発明の一部である。

【0054】

本発明の多重特性 (例えば、二重特異性) 抗原結合性タンパク質は、WO2017/218515 に記載される抗 C5 抗体のいずれか、例えば、H2M11683N；H2M11686N；H4H12159P；H4H12161P；H4H12163P；H4H12164P；H4H12166P；H4H12166P2；H4H12166P3；H4H12166P4；H4H12166P5；H4H12166P6；H4H12166P7；H4H12166P8；H4H12166P9；H4H12166P10；H4H12167P；H4H12168P；H4H12169P；H4H12170P；H4H12171P；H4H12175P；H4H12176P2；H4H12177P2；H4H12183P2；H2M11682N；H2M11684N；H2M11694N、または H2M11695N から選択される 2 つまたはそれ以上の異なる抗原結合性ドメインを含み、本発明の実施形態において、当該抗原結合性ドメインは、この一覧における非競合抗体から選ばれ；本発明の実施形態において、当該抗原結合性ドメインは、この一覧における競合抗体から選ばれる。本明細書の表 1 を参照されたい。なお、WO2017/218515 は、参照によってその全体が本明細書に組み入れられる。本発明の実施形態において、抗原結合性ドメインは、エクリズマブまたは ALXN1210 (ラブリスマブ)

10

20

30

40

50

から選ばれる。

【 0 0 5 5 】

H 4 H 1 2 1 6 1 P

V_H ドメイン (D N A) :

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTGGTCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT
CACCTTCAGTGACCACTATATGGACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGACTGGATTGGCCGTATTAGAAACA
AAGCTAACGCTTATAACACAGAATACGCCGCTCTGTGAGAGGCAGATTCACCATCTCAAGAGATGATTCACAGAATTTA
CTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAAAACCGATGACACGGCCGTATATTATTGTGTTAGAGTCTGGAACCTACGCTACTT
CGCTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

(配列番号 2)

10

V_H ドメイン (ポリペプチド) :

EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFS¹SDHYMDWVRQAPGKGLDWI GR I RNKANAYNTEYAASVRGRFT I SRDDSQLN
LYLQMN²SLKTD³DAVYYCVRVW⁴NYAYFAMDVWGQGT⁵TVVSS

(配列番号 3)

C D R - H 1 (D N A) :

GGA TTC ACC TTC AGT GAC CAC TAT

(配列番号 4)

C D R - H 1 (ポリペプチド) :

G F T F S D H Y

(配列番号 5 (または、 1、 2、 3、 もしくは 4 つの点変異および / または点欠失を有するその変異体))

20

C D R - H 2 (D N A) :

ATT AGA AAC AAA GCT AAC GCT TAT AAC ACA

(配列番号 6)

C D R - H 2 (ポリペプチド) :

I R N K A N A Y N T

(配列番号 7 (または、 1、 2、 3、 もしくは 4 つの点変異および / または点欠失を有するその変異体))

【 0 0 5 6 】

C D R - H 3 (D N A) :

GTT AGA GTC TGG AAC TAC GCC TAC TTC GCT ATG GAC GTC

(配列番号 8)

30

C D R - H 3 (ポリペプチド) :

V R V W N Y A Y F A M D V

(配列番号 9 (または、 1、 2、 3、 もしくは 4 つの点変異および / または点欠失を有するその変異体))

V_L ドメイン (D N A) :

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCCTATCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGTCAAGTCA
GAACATTGGAATCTTTTTAAACTGGTATCAACAAAAACCAGGGGAAGCCCCTAACCTCCTGATCTCCGCTGCATCCAGTT
TACACAGTGGGGTCCCTCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCGGCAGTCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCGACTTACTACTGTCAACAGACGTACAATACCATATTCACCTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAA
A

(配列番号 1 0)

40

V_L ドメイン (ポリペプチド) :

DIQMTQSPSSLSASVGRV¹ITCRSSQNIGIFLNWYQQKPG²EAPNLLI SA³ASSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIGSLQP
EDFATYYCQQT⁴YNTIFTFGPGTKVDIK

(配列番号 1 1)

C D R - L 1 (D N A) :

CAG AAC ATT GGA ATC TTT

(配列番号 1 2)

50

C D R - L 1 (ポリペプチド) :

Q N I G I F

(配列番号 13 (または、 1、 2、 3、 もしくは 4 つの点変異および / または点欠失を有するその変異体))

C D R - L 2 (D N A) :

GCT GCA TCC

(配列番号 14)

【 0057 】

C D R - L 2 (ポリペプチド) :

A A S

(配列番号 15 (または、点変異もしくは点欠失を有するその変異体))

C D R - L 3 (D N A) :

CAA CAG ACG TAC AAT ACC ATA TTC ACT

(配列番号 16)

C D R - L 3 (ポリペプチド) :

Q Q T Y N T I F T

(配列番号 17 (または、 1、 2、 3、 もしくは 4 つの点変異および / または点欠失を有するその変異体))

H 4 H 1 2 1 6 6 P

V_H ドメイン (D N A) :

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGA
CTCCGTCAGTAGTTCCTACTGGACCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGCTATATCTATTACA
GTGGGAGTTCCAACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGCCACCATTTTCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTG
AAGCTGAGTTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCGTATATTACTGTGCGAGAGAAGGGAACGTGGATACAACCTATGATATT
TGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA

(配列番号 18)

V_H ドメイン (ポリペプチド) :

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDSVSSSYWTWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSSNYNPSLKSRRATISVDTSKNQFSL
KLSSVTAADTA~~VYYCAREGNVD~~TTMIFDYWGQGTLLVTVSS

(配列番号 19)

【 0058 】

重免疫グロブリン鎖 h I g G 4 (M 4 2 8 L N 4 3 4 S)

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGDSVSSSYWTWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSSNYNPSLKSRRATISVDTSKNQFSL
KLSSVTAADTA~~VYYCAREGNVD~~TTMIFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQKTYTCNV~~DH~~KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDTLMI~~SRTPEVTCVVDV~~SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKGLPSSIEKTI~~SKAKGQPREPQVY~~TLPSSQEEMTKNQVSLTCLLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDL
DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEALHSHY~~TQK~~SLSLSLGK

(配列番号 82)

C D R - H 1 (D N A) :

GGT GAC TCC GTC AGT AGT TCC TAC

(配列番号 20)

C D R - H 1 (ポリペプチド) :

G D S V S S S Y

(配列番号 21 (または、 1、 2、 3、 もしくは 4 つの点変異および / または点欠失を有するその変異体))

C D R - H 2 (D N A) :

ATC TAT TAC AGT GGG AGT TCC

(配列番号 22)

C D R - H 2 (ポリペプチド) :

10

20

30

40

50

I Y Y S G S S

(配列番号23(または、1、2、3、もしくは4つの点変異および/または点欠失を有するその変異体))

C D R - H 3 (D N A) :

GCG AGA GAA GGG AAC GTG GAT ACA ACT ATG ATA TTT GAC TAC

(配列番号24)

C D R - H 3 (ポリペプチド) :

A R E G N V D T T M I F D Y

(配列番号25(または、1、2、3、もしくは4つの点変異および/または点欠失を有するその変異体))

【0059】

V_Lドメイン(DNA):

GCCATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA
GGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAACAGAAACCAGGGAAAGCCCTAAACTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT
TACAAAGTGGGGTCCCATCGAGGTTCCGCCGCCGTGGATCTGGCACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAAGATTTCAATTACCCGTGGACGTTCCGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAA
A

(配列番号26)

V_Lドメイン(ポリペプチド):

AIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFAGRGSQDFTLTISLQPE
EDFATYYCLQDFNYPWTFGQGTKVEIK

(配列番号27)

軽免疫グロブリン鎖()

AIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFAGRGSQDFTLTISLQPE
EDFATYYCLQDFNYPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(配列番号83)

C D R - L 1 (D N A) :

CAG GGC ATT AGA AAT GAT

(配列番号28)

C D R - L 1 (ポリペプチド) :

Q G I R N D

(配列番号29(または、1、2、3、もしくは4つの点変異および/または点欠失を有するその変異体))

C D R - L 2 (D N A) :

GCT GCA TCC

(配列番号30)

C D R - L 2 (ポリペプチド) :

A A S

(配列番号31(または、点変異もしくは点欠失を有するその変異体))

【0060】

C D R - L 3 (D N A) :

CTA CAA GAT TTC AAT TAC CCG TGG ACG

(配列番号32)

C D R - L 3 (ポリペプチド) :

L Q D F N Y P W T

(配列番号33(または、1、2、3、もしくは4つの点変異および/または点欠失を有するその変異体))

H4H12170P

V_Hドメイン(DNA):

10

20

30

40

50

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATT
CACCTTCAGTGGTTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCACTTATATGGCTTG
ATGGAAGTAATGACTACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGTTATAT
CTGCAAAATGAACAGACTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGCCCGTTGCTGCTATACCCGA
CTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

(配列番号 3 4)

V_H ドメイン (ポリペプチド) :

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSGYGMHWVRQAPGKGLEWVAL I WLDGSNDYYADSVKGRFT I SRDNSKNTLY
LQMNRLRAEDTAVYYCARDGPVAA I PDYWGQGLTVTVSS

(配列番号 3 5)

10

重免疫グロブリン鎖 (I g G 4) :

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSGYGMHWVRQAPGKGLEWVAL I WLDGSNDYYADSVKGRFT I SRDNSKNTLY
LQMNRLRAEDTAVYYCARDGPVAA I PDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPP

(配列番号 8 4)

C D R - H 1 (D N A) :

GGA TTC ACC TTC AGT GGT TAT GGC

(配列番号 3 6)

【 0 0 6 1 】

C D R - H1 (ポリペプチド) :

G F T F S G Y G

20

(配列番号 3 7 (または、 1、 2、 3、 もしくは 4 つの点変異および / または点欠失を有するその変異体))

C D R - H 2 (D N A) :

ATA TGG CTT GAT GGA AGT AAT GAC

(配列番号 3 8)

C D R - H 2 (ポリペプチド) :

I W L D G S N D

(配列番号 3 9 (または、 1、 2、 3、 もしくは 4 つの点変異および / または点欠失を有するその変異体))

30

C D R - H 3 (D N A) :

GCG AGA GAT GGC CCG GTT GCT GCT ATA CCC GAC TAC

(配列番号 4 0)

C D R - H 3 (ポリペプチド) :

A R D G P V A A I P D Y

(配列番号 4 1 (または、 1、 2、 3、 もしくは 4 つの点変異および / または点欠失を有するその変異体))

V_L ドメイン (D N A) :

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCA
GAGTATTAGTAGGTGGTTGGCCTGGTATCAGCTGAAACCAGGAAAGCCCTAAGCTCCTGATCTATAAGGCGTCTAGTT
TAGAAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAACCT
GATGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATACTTATTTCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA
A

40

(配列番号 4 2)

V_L ドメイン (ポリペプチド) :

DIQMTQSPSTLSASVGRVT I TCRASQS I SRWLAWYQLKPGKAPKLL I YKASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLT I SSLQP
DDFATYYCQQYNTYSYTFGQGTKLE I K

(配列番号 4 3)

【 0 0 6 2 】

軽免疫グロブリン鎖 ()

50

DIQMTQSPSTLSASVGDRTVITCRASQSI SRWLAWYQLKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSDFTLTISSLQP
DDFATYYCQQYNTYSYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(配列番号 85)

C D R - L 1 (D N A) :

CAG AGT ATT AGT AGG TGG

(配列番号 44)

C D R - L 1 (ポリペプチド) :

Q S I S R W

(配列番号 45 (または、1、2、3、もしくは4つの点変異および/または点欠失を有するその変異体)) 10

C D R - L 2 (D N A) :

AAG GCG TCT

(配列番号 46)

C D R - L 2 (ポリペプチド) :

K A S

(配列番号 47 (または、点変異もしくは点欠失を有するその変異体))

C D R - L 3 (D N A) :

CAA CAG TAT AAT ACT TAT TCG TAC ACT

(配列番号 48) 20

C D R - L 3 (ポリペプチド) :

Q Q Y N T Y S Y T

(配列番号 49 (または、1、2、3、もしくは4つの点変異および/または点欠失を有するその変異体))

【0063】

H 4 H 1 2 1 7 1 P

V_H ドメイン (D N A) :

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGTGTGGTACGGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT
CACCTTTGATGAATATGGCATGACTTGGGTCCGCCAAGTTCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCTGGTATTACTTGGA
ATGGTGGTTTCACAGATTATACAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCAGCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGTCCCTGTAT
CTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCCGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCGAGAGATGGATATAGCAGCTCGTGGGGGGC
TTATGATATATGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

30

(配列番号 50)

V_H ドメイン (ポリペプチド) :

EVQLVESGGGVVPRGGSRLRSCAASGFTTFDEYGMTWVRQVPGKGLEWVSGITWNGGFTDYTDSVKGRFTSSRDNAKNSLY
LQMNSLRAEDTALYYCARDGYSSSWGAYDIWGQGMVTVSS

(配列番号 51)

C D R - H 1 (D N A) :

GGA TTC ACC TTT GAT GAA TAT GGC

(配列番号 52) 40

C D R - H 1 (ポリペプチド) :

G F T F D E Y G

(配列番号 53 (または、1、2、3、もしくは4つの点変異および/または点欠失を有するその変異体))

C D R - H 2 (D N A) :

ATT ACT TGG AAT GGT GGT TTC ACA

(配列番号 54)

C D R - H 2 (ポリペプチド) :

I T W N G G F T

(配列番号 55 (または、1、2、3、もしくは4つの点変異および/または点欠失を有 50

するその変異体))

C D R - H 3 (D N A) :

GCG AGA GAT GGA TAT AGC AGC TCG TGG GGG GCT TAT GAT ATA

(配列番号 5 6)

【 0 0 6 4 】

C D R - H 3 (ポリペプチド) :

A R D G Y S S S W G A Y D I

(配列番号 5 7 (または、 1、 2、 3、 もしくは 4 つの点変異および / または点欠失を有するその変異体))

V_L ドメイン (D N A) :

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCATCCCTGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA
GAGCATTAGCACCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT
TGCAAAGTGGGGTCCCATTAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACTGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGAAGTTATTTCTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA
A

(配列番号 5 8)

V_L ドメイン (ポリペプチド) :

DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSISTYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPLRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
EDFASYFCQQSYSTPYTFGQGTKLEIK

(配列番号 5 9)

C D R - L 1 (D N A) :

CAG AGC ATT AGC ACC TAT

(配列番号 6 0)

C D R - L 1 (ポリペプチド) :

Q S I S T Y

(配列番号 6 1 (または、 1、 2、 3、 もしくは 4 つの点変異および / または点欠失を有するその変異体))

C D R - L 2 (D N A) :

GCT GCA TCC

(配列番号 6 2)

C D R - L 2 (ポリペプチド) :

A A S

(配列番号 6 3 (または、点変異もしくは点欠失を有するその変異体))

【 0 0 6 5 】

C D R - L 3 (D N A) :

CAA CAG AGT TAC AGT ACC CCG TAC ACT

(配列番号 6 4)

C D R - L 3 (ポリペプチド) :

Q Q S Y S T P Y T

(配列番号 6 5 (または、 1、 2、 3、 もしくは 4 つの点変異および / または点欠失を有するその変異体))

H 4 H 1 2 1 7 5 P

V_H ドメイン (D N A) :

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT
CACCTTTAATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGTCAAGCTCCAGGGAAGGGTCTGGAGTGGGTCTCTCTTATTAGTGGAG
ATGGTGGTAACACATACTATGCAGACTCTGTGAAGGGCCGACTCACCATCTCCAGAGACAACAGCAAAAACTCCCTGTAT
CTGCAAATGAACAGTCTGAGAACAGAGGACACCCGCTTATATTACTGTGCAAAAAGATAAGGGCTGGAACCTCGGTTACTT
CGATCTCTGGGCGGTGGCACCTGGTCACTGTCTCCTCA

(配列番号 6 6)

V_H ドメイン (ポリペプチド) :

10

20

30

40

50

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNDYAMHWVRQAPGKGLEWVSLISGDGGNTYYADSVKGRLTISRDNKNSLY
LQMNSLRTEDTALYYCAKDKGWNFGYFDLWGRGTLVTVSS

(配列番号 67)

C D R - H 1 (D N A) :

GGA TTC ACC TTT AAT GAT TAT GCC

(配列番号 68)

C D R - H 1 (ポリペプチド) :

G F T F N D Y A

(配列番号 69 (または、1、2、3、もしくは4つの点変異および/または点欠失を有するその変異体))

10

【0066】

C D R - H 2 (D N A) :

ATT AGT GGA GAT GGT GGT AAC ACA

(配列番号 70)

C D R - H 2 (ポリペプチド) :

I S G D G G N T

(配列番号 71 (または、1、2、3、もしくは4つの点変異および/または点欠失を有するその変異体))

C D R - H 3 (D N A)

GCA AAA GAT AAG GGC TGG AAC TTC GGT TAC TTC GAT CTC

20

(配列番号 72)

C D R - H 3 (ポリペプチド) :

A K D K G W N F G Y F D L

(配列番号 73 (または、1、2、3、もしくは4つの点変異および/または点欠失を有するその変異体))

V_Lドメイン (D N A) :

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTACATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA
GAACATTGACACCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCTAAACTCCTGATCTATGATGCATCCAGTT
TACAAAGTGGGGTCCCATCACGGTTCAGTGGCAGCGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCACCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCCACTTACTACTGTCAACAGAATGACAATATTCTTCACCCTCTCACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGA
GATCAAA

30

(配列番号 74)

V_Lドメイン (ポリペプチド) :

DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITCRASQNIDTYLNWYQQKPKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSSGSGTDFTLTITSLQP
EDFATYYCQQNDNILHPLTFGGGTKVEIK

(配列番号 75)

C D R - L 1 (D N A) :

CAG AAC ATT GAC ACC TAT

(配列番号 76)

【0067】

40

C D R - L 1 (ポリペプチド) :

Q N I D T Y

(配列番号 77 (または、1、2、3、もしくは4つの点変異および/または点欠失を有するその変異体))

C D R - L 2 (D N A) :

GAT GCA TCC

(配列番号 78)

C D R - L 2 (ポリペプチド) :

D A S

(配列番号 79 (または、点変異もしくは点欠失を有するその変異体))

50

C D R - L 3 (D N A) :

CAA CAG AAT GAC AAT ATT CTT CAC CCT CTC ACT

(配列番号 8 0)

C D R - L 3 (ポリペプチド) :

Q Q N D N I L H P L T

(配列番号 8 1 (または、 1、 2、 3、 もしくは 4 つの点変異および / または点欠失を有するその変異体))

H 4 H 1 2 1 7 6 P 2

V_H ドメイン (D N A) :

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAACCGGGGGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT
CCACTCTAATAGATATTGGATGGACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATAAAGCAAG
ATGGAAGTGAGGAAAATATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCACTTTAT
CTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATCGAAGCACCTCGTGGGTCCCTTA
CTGGTTCTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCCTGGTCACTGTCTCCTCA

10

(配列番号 8 6)

V_H ドメイン (ポリペプチド) :

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFHSNRYWMDWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEENYVDSVKGRFTISRDNAKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCCARDRSTSWVPYWFDDLWGRGTLVTVSS

(配列番号 8 7)

【 0 0 6 8 】

20

C D R - H 1 (D N A) :

GGA TTC CAC TCT AAT AGA TAT TGG

(配列番号 8 8)

C D R - H 1 (ポリペプチド) :

G F H S N R Y W

(配列番号 8 9)

C D R - H 2 (D N A) :

ATA AAG CAA GAT GGA AGT GAG GAA

(配列番号 9 0)

C D R - H 2 (ポリペプチド) :

I K Q D G S E E

30

(配列番号 9 1)

C D R - H 3 (D N A) :

GCG AGA GAT CGA AGC ACC TCG TGG GTC CCT TAC TGG TTC TTC GAT CTC

(配列番号 9 2)

C D R - H 3 (ポリペプチド) :

A R D R S T S W V P Y W F F D L

(配列番号 9 3)

V_L ドメイン (D N A) :

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA
GAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT
TGCAAAGTGGGTCCCGTCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGAACCTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT
TAAA

40

(配列番号 9 4)

【 0 0 6 9 】

V_L ドメイン (ポリペプチド) :

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSSGSGSDFTLTISLQP
EDFATYYCQQSYSTPPITFGQGTRLEIK

(配列番号 9 5)

50

C D R - L 1 (D N A) :

CAG AGC ATT AGC AGC TAT

(配列番号 9 6)

C D R - L 1 (ポリペプチド) :

Q S I S S Y

(配列番号 9 7)

C D R - L 2 (D N A) :

GCT GCA TCC

(配列番号 9 8)

C D R - L 2 (ポリペプチド) :

A A S

(配列番号 9 9)

C D R - L 3 (D N A) :

CAA CAG AGT TAC AGT ACC CCT CCG ATC ACC

(配列番号 1 0 0)

C D R - L 3 (ポリペプチド) :

Q Q S Y S T P P I T

(配列番号 1 0 1)

H 4 H 1 2 1 7 7 P 2

V_H ドメイン (D N A) :

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTACAGCGGGGGAGTCCCTGAGACTCTCCTGTTTCAGCCTCTGACTT

CATCTTTAAAGATTATGCCATGTACTGGGTCCGTCAAATTCAGGGAAGGGTCTAGAGTGGATCTCTCTTATTAGTGGTG

ATGGTGACACTACATGGTATGGAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACAACGAAAACTCCCTCTTT

CTGCAAATGAACGATCTGAGAACTGAGGACACCGCCATGTACTACTGTGCAAGAGATATGGGGTGGAACTTCTTTTCAGTT

GCAATACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA

(配列番号 1 0 2)

【 0 0 7 0 】

V_H ドメイン (ポリペプチド) :

EVQLVESGGGVVQRGESLR¹LSCSASDF¹IFKDYAMYWVRQ¹IPGKGLEW¹ISL¹ISGDGDTTWYGD¹SVKGRFT¹ISRDNNENSLF

LQMN¹DLRTEDTAMYYCARD¹MGNFFQLQYWGQGT¹LVTVSS

(配列番号 1 0 3)

C D R - H 1 (D N A) :

GAC TTC ATC TTT AAA GAT TAT GCC

(配列番号 1 0 4)

C D R - H 1 (ポリペプチド) :

D F I F K D Y A

(配列番号 1 0 5)

C D R - H 2 (D N A) :

ATT AGT GGT GAT GGT GAC ACT ACA

(配列番号 1 0 6)

C D R - H 2 (ポリペプチド) :

I S G D G D T T

(配列番号 1 0 7)

C D R - H 3 (D N A) :

GCA AGA GAT ATG GGG TGG AAC TTC TTT CAG TTG CAA TAC

(配列番号 1 0 8)

C D R - H 3 (ポリペプチド) :

A R D M G W N F F Q L Q Y

(配列番号 1 0 9)

V_L ドメイン (D N A) :

10

20

30

40

50

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA
 GAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAAACCAGGGAAAGCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT
 TGCAAAGTGGGGTCCCGTCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT
 GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT
 TAAA

(配列番号 94)

【0071】

V_Lドメイン(ポリペプチド) :

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIS^{SYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP}
 EDFATYYCQQSYSTPPIITFGQGRLEIK

10

(配列番号 95)

CDR-L1(DNA) :

CAG AGC ATT AGC AGC TAT

(配列番号 96)

CDR-L1(ポリペプチド) :

Q S I S S Y

(配列番号 97)

CDR-L2(DNA) :

GCT GCA TCC

(配列番号 98)

CDR-L2(ポリペプチド) :

A A S

(配列番号 99)

CDR-L3(DNA) :

CAA CAG AGT TAC AGT ACC CCT CCG ATC ACC

(配列番号 100)

CDR-L3(ポリペプチド) :

Q Q S Y S T P P I T

(配列番号 101)

【0072】

WO2017/218515を参照されたい。

【0073】

本発明はさらに、1つまたはそれ以上の抗C5抗原結合性タンパク質に結合したC5ポリペプチドまたはその抗原性断片を含む複合体も含む。例えば、本発明の実施形態において、当該複合体は、1つまたはそれ以上の第1の抗C5抗原結合性タンパク質に結合した1つまたはそれ以上のC5ポリペプチドまたはその抗原性断片と、C5への結合において競合しない1つまたはそれ以上のさらなる抗C5抗原結合性タンパク質とを含む。複合体は、第1の抗原結合性タンパク質対第2の抗原結合性タンパク質対C5の様々な比率において形成することができる。例えば、本発明の範囲は、

(i) 第1の単一特異性抗C5抗原結合性タンパク質(例えば、H4H12166P)対第2の単一特異性抗C5抗原結合性タンパク質対C5ポリペプチドもしくは断片の1:1:2、2:2:4、または3:3:6の比率

(ii) 二重特異性抗C5抗原結合性タンパク質対C5ポリペプチドもしくは断片の1:1、1:2、2:1、または2:2の比率;

(iii) 単一特異性抗C5抗原結合性タンパク質対二重特異性抗C5抗原結合性タンパク質対C5ポリペプチドもしくは断片の1:1:1、1:1:2、または1:2:2の比率;または

(iv) 単一特異性抗C5抗原結合性タンパク質対C5ポリペプチドもしくは断片の1:2の比率;

を含む複合体を包含する。

40

50

【0074】

本発明の実施形態において、当該単一特異性抗C5抗原結合性タンパク質は、エクリズマブ、H4H12166P、H4H12177P2、またはH4H12176P2である。本発明の実施形態において、当該二重特異性抗C5抗原結合性タンパク質は、H4H12176P2 x H4H12177P2である。

【0075】

いくつかの複合体は、不斉性フローフィールドフローフラクシオネーション(A4F-MALLS)の後に溶出する物質の当該計算されたモル質量と、分析された当該混合物中の当該個々の抗体およびC5ポリペプチドの当該計算された平均質量と、に基づいて推測された。これらのデータは、本明細書の図11~16に記載されている。

10

【0076】

エピトープマッピングおよび競合

本明細書において説明されるように、本発明は、C5に特異的に結合する第1の抗原結合性タンパク質(例えば、抗体またはその抗原結合性断片)と、(i)当該第1の抗原結合性タンパクとは異なるエピトープにおいてC5に特異的に結合し;および/または(ii)C5への結合において当該第1の抗原結合性タンパク質と競合しない、1つまたはそれ以上のさらなる抗原結合性タンパク質(例えば、抗体またはその抗原結合性断片またはポリペプチド)(例えば、coversin)を含む組み合わせ物を提供する。

【0077】

二重特異性抗原結合性タンパク質(例えば、抗体およびその抗原結合性断片)は、2つの抗原結合性ドメイン(第1および第2)を有し、この場合、当該第1は、C5のエピトープに特異的に結合し、当該第2は、(i)当該第1の抗原結合性ドメインとは異なるエピトープにおいてC5に特異的に結合し、および/または(ii)C5への結合において当該第1の抗原結合性ドメインと競合しない。そのような抗原結合性ドメインは、本発明の実施形態において、WO2017/218515に記載される抗体または抗原結合性断片から選ばれる。

20

【0078】

2つの抗原結合性タンパク質、例えば、抗体は、当該抗原結合性タンパク質が著しい結合を示すC5抗原に共通のアミノ酸が存在する場合、共通エピトープを有する。

【0079】

抗原結合性タンパク質、例えば、抗体または断片またはポリペプチド、のエピトープを特定する方法としては、アラニンスキャニング変異分析、ペプチドプロット解析(Reineke(2004) Methods Mol. Biol. 248: 443~63)、ペプチド切断解析、結晶学的研究、およびNMR解析が挙げられる。さらに、エピトープ切断、エピトープ解凍、および抗原の化学修飾などの方法を用いることができる(Tomer(2000) Prot. Sci. 9: 487~496)。抗原結合性タンパク質(例えば、抗体または断片またはポリペプチド)(例えば、coversin)が相互作用するポリペプチド内のアミノ酸を特定するために使用することができる別の方法は、質量分光分析法で検出される水素/重水素交換である。一般的には、当該水素/重水素交換法は、関心対象のタンパク質を重水素標識する工程と、その後、当該抗原結合性タンパク質、例えば、抗体または断片またはポリペプチドを、当該重水素標識されたタンパク質に結合させる工程とを伴う。次に、C5タンパク質/抗原結合性タンパク質複合体は水に移され、当該抗体複合体によって保護されたアミノ酸内の交換可能なプロトンが、界面の一部ではないアミノ酸内の交換可能なプロトンよりもゆっくりとした速度で、重水素から水素への逆交換を受ける。その結果、当該タンパク質/抗原結合性タンパク質界面の一部を形成するアミノ酸は、重水素を維持し得、その結果、界面に含まれないアミノ酸と比べて、比較的より高い質量を示す。当該抗原結合性タンパク質(例えば、抗体または断片またはポリペプチド)の解離後、当該標的タンパク質は、プロテアーゼ切断および質量分光分析を施され、その結果、当該抗原結合性タンパク質が相互作用する特定のアミノ酸に対応する、重水素標識された残基が明らかとなる。例えば、Ehring

30

40

50

(1999) *Analytical Biochemistry* 267: 252~259; Engen and Smith (2001) *Anal. Chem.* 73: 256A~265Aを参照されたい。

【0080】

用語「エピトープ」は、パラトープとして知られている、抗原結合性タンパク質における特定の抗原結合部位、例えば、抗体分子の可変領域、と相互作用する抗原決定基（例えば、C5上の）を意味する。単一の抗原が、2つ以上のエピトープを有する場合がある。したがって、異なる抗原結合性タンパク質、例えば、抗体は、抗原上の異なるエリアに結合し得、および異なる生物学的効果を有し得る。エピトープは、非隣接アミノ酸で構成され、「立体配座」と呼ばれ得る。直鎖状エピトープは、隣接するアミノ酸のみを含む。ある特定の実施形態において、エピトープは、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリル基、またはスルホニル基などの、分子の化学的に活性な表面基である決定基を含み得、および、ある特定の実施形態においては、特定の三次元構造特性および/または特定の荷電特性を有し得る。

10

【0081】

例えば、抗体H4H12166Pが結合するエピトープは、(i)配列番号1に含まれる鎖のアミノ酸591から599に対応するアミノ酸配列NMA TGMDSW;および(ii)配列番号1に含まれる鎖に含まれるアミノ酸775から794に対応するアミノ酸配列WEVHLVPRRKQLQFALPDSLによって定義される。例えば、PCT国際出願第PCT/US2017/037226号を参照されたい。エクリズマブのC5エピトープは、Brachetら, *Eculizumab epitope on complement C5: Progress towards a better understanding of the mechanism of action.* *Mol Immunol.* 2016年9月; 77: 126~131において開示されている。

20

【0082】

用語「競合する」は、本明細書において使用される場合、抗原に結合して、別の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性断片）が当該抗原に結合するのを阻害または阻止する、抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性断片）を意味する。当該用語はさらに、両方向での、すなわち、第1の抗体が結合して第2の抗体の結合を阻止するおよびその逆での、2つの抗原結合性タンパク質、例えば、抗体など、の間の競合も包含する。ある特定の実施形態において、当該第1の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体）および第2の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体）は、同じエピトープに結合し得る。あるいは、当該第1および第2の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体）は、異なるが、しかし、例えば、重なるエピトープに結合してもよく、その場合、一方の抗体の結合は、例えば、立体障害によって、第2の抗体の結合を阻害または阻止する。抗原結合性タンパク質（例えば、抗体）の間の交差競合は、当技術分野において既知の方法、例えば、リアルタイムの無標識バイオレイヤ干渉（*bio-layer interferometry*）アッセイなど、によって測定される。本発明の実施形態において、第1および第2の抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、抗体）の間の競合は、第2の抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、抗体）と複合体化された可溶性C5タンパク質に結合する、固定された第1の抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、抗体）（最初、C5タンパク質と複合体化されていない）の能力を測定することによって特定される。複合体化されていないC5タンパク質と比べて、当該複合体化されたC5タンパク質に結合する、当該第1の抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、抗体）の能力の低下は、当該第1および第2の抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、抗体）が競合することを示す。競合の程度は、結合の減少のパーセンテージとして表現することができる。そのような競合は、例えば、Octet RED384バイオセンサ（*Pall ForteBio Corp.*）における、リアルタイム無標識バイオレイヤ干渉アッセイ、ELISA（酵素結合免疫吸着検定法）、またはSPR（表面プラズモン共鳴）を使用することによって測定する

30

40

50

ことができる。

【0083】

抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、モノクローナル抗体（mAb））の間の結合競合は、Octet RED384バイオセンサ（Pall ForteBio Corp.）においてリアルタイムの無標識バイオレイヤ干渉アッセイを使用することによって特定することができる。例えば、2つの抗ヒトC5モノクローナル抗体の間の競合を特定するため、最初に、抗hFc抗体でコーティングされたOctetバイオセンサチップ（Pall ForteBio Corp.、# 18-5060）を抗ヒトC5mAb（以下において、「mAb1」と呼ばれる）の溶液に浸漬することによって、抗C5mAbを、当該チップ上に捕捉することができる。次いで、ブロッキングに対するポジティブコントロールとして、当該抗体を捕捉したバイオセンサチップを、ブロッキングmAbの溶液に浸すことによって、既知のブロッキングアイソタイプコントロールmAb（以下において、「ブロッキングmAb」と呼ばれる）で飽和することができる。次いで、mAb2がmAb1と競合するか否かを特定するために、当該バイオセンサチップを、ある期間において事前にインキュベートしておいた、ヒトC5ポリペプチドと第2の抗ヒトC5mAb（以下において、「mAb2」と呼ぶ）との共複合体化した溶液に次に浸し、C5ポリペプチドへのmAb1の結合を特定することができる。当該実験の各工程の間に、当該バイオセンサチップを緩衝液において洗浄する。実験の過程において、当該リアルタイム結合応答をモニターすることができ、各工程の終了時の結合応答を記録することができる。mAb1/C5結合のmAb2依存性阻害は、C5結合におけるmAb1とmAb2との間の競合を示す。例えば、2017年6月13日に出願された国際特許出願第PCT/US2017/037226号、例えば、その中の実施例5を参照されたい。

10

20

【0084】

本発明の実施形態において、抗原結合性タンパク質、例えば、抗体など、の間の競合は、実施例5において記載される条件下において特定される。例えば、本発明の実施形態において、当該アッセイは、1000rpmの速度で振盪するプレートにより、25および約pH7.4において、例えば、緩衝液（例えば、HEPES）、塩（例えば、NaCl）、界面活性剤（例えば、Tween-20）、およびタンパク質（例えば、ウシ血清アルブミン）、例えば、0.01MのHEPES pH7.4、0.15MのNaCl、0.05% v/vの界面活性剤Tween-20、0.1mg/mLのBSA（Octet HBS-P緩衝液）、の存在下において実施される。

30

【0085】

2017年6月13日に出願された国際特許出願第PCT/US2017/037226号（WO2017/218515）に記載される抗C5抗体の間の競合を、下記の表1にまとめる。したがって、本発明は、表1から選択される2つの抗C5抗体またはその抗原結合性断片を含む組み合わせ物を含み、この場合、当該抗体または断片は、C5結合において競合しない（例えば、H4H12166PおよびH4H12168P；またはH4H12166PおよびH4H12161P；またはH4H12166PおよびH4H11686N）。

【0086】

40

【表 2】

表 1. 選択される抗 C5 抗体の対の間の競合

AHC Octetバイオセンサを使用して捕捉された第1の mAb(mAb1)	mAb1と競合することが示されたmAb2抗体
H4H12183P2	H4H12167P; H4H12166P; H4H12163P
H4H12167P	H4H12183P2; H4H12166P; H4H12163P
H4H12166P	H4H12183P2; H4H12167P; H4H12163P
H4H12163P	H4H12183P2; H4H12167P; H4H12166P
H4H12159P	H4H12169P; H4H11683N; H4H12170P
H4H12169P	H4H12159P; H4H11683N; H4H12170P
H4H11683N	H4H12159P; H4H12169P; H4H12170P
H4H12170P	H4H12159P; H4H12169P; H4H11683N
H4H12175P	H4H12177P2
H4H12177P2	H4H12175P
H4H12176P2	H4H12164P
H4H12164P	H4H12176P2
H4H12168P	なし
H4H12161P	なし
H4H11686N	なし
H4H12171P	なし

WO2017/218515 の表 15 を参照されたい。

【0087】

医薬組成物および投与

本発明の組み合わせ物（例えば、H4H12166Pと、H4H12161P、H4H12170P、H4H12171P、H4H12175P、H4H12176P2、またはH4H12177P2のうちの一つ）は、単一の共通の組成物へ、または複数の/別々の組成物へと製剤化される成分を含む。その上、別々の組成物は、異なる様々な担体と共に製剤化される。例えば、本発明の組み合わせ物の一部である、C5特異的に結合する第1の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性断片）は、(i)当該第

10

20

30

40

50

1の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または断片）とは異なるエピトープにおいてC5に特異的に結合し、および/または（i i）C5への結合において当該第1の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または断片）と競合しない、1つまたはそれ以上のさらなる抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性断片またはポリペプチド）（例えば、cover sin）と共に、単一の組成物（例えば、薬学的に許容される担体と共に）へと合剤化することができる。本発明の実施形態において、当該第1の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または断片）および当該第2の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または断片またはポリペプチド）は、別々の組成物へと（例えば、薬学的に許容される担体と共に）製剤化される。本発明の組み合わせ物において、さらなる治療薬が、さらに別の組成物へと製剤化される。さらなる治療薬を、第1の抗体もしくは断片および第2の抗体もしくは断片もしくはポリペプチドとは別々に、本発明の組み合わせ物に含めてもよい。本発明の別の実施形態において、当該さらなる治療薬は、第1の抗体もしくは断片または第2の抗体もしくは断片またはポリペプチドのどちらか（または両方）へと製剤化される。

10

【0088】

本発明の組み合わせ物の成分を含む医薬組成物または無菌組成物を製造するために、当該成分は、薬学的に許容される担体または賦形剤と混和される。例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences and U.S. Pharmacopeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1984)を参照されたい。そのような組成物を含む組成物は、本発明の一部である。

20

【0089】

本発明の範囲は、乾燥形態、例えば、凍結乾燥された、実質的に水を含まない、1つまたはそれ以上の成分を含む組み合わせ物を包含する。

【0090】

製剤は、例えば、凍結乾燥粉末、スラリー、水溶液、または懸濁液などの形態の、許容可能な担体、賦形剤、または安定剤と混合することによって製造される（例えば、Hardmanら（2001）Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, NY; Gennaro（2000）Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Avisら（eds）（1993）Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Liebermanら（eds.）（1990）Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Liebermanら（eds.）（1990）Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie（2000）Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, NYを参照されたい）。

30

40

【0091】

本発明の組み合わせ物が、対象に投与されるさらなる治療薬を含む場合、当該さらなる治療薬は、医師用添付文書集（Physicians' Desk Reference: PDR）、例えば、医師用添付文書集2003（Thomson Healthcare; 第57版（2002年11月1日））に従って当該対象に投与され、および/または当該PDRに記載されるように製剤化される。

【0092】

組み合わせ物の投与の様式、または組み合わせ物のいずれかの成分は変えることができ

50

る。投与の経路としては、経口、直腸、粘膜、腸、非経口；筋肉内、皮下、皮内、髄内、髄腔内、直接心室内、静脈内、腹腔内、鼻腔内、眼内、吸入、吹送、局所的、皮膚、経皮、または動脈内が挙げられる。

【0093】

本発明は、組み合わせ物またはその成分を投与する方法であって、当該物質を対象の体内に導入する工程を含む当該方法を提供する。例えば、当該方法は、対象の体に注射器の針を刺す工程、および当該対象の体内、例えば、当該対象の静脈、動脈、腫瘍、筋肉組織、または皮下組織内に、当該組み合わせ物またはその成分を注入する工程を含む。

【0094】

本発明は、本発明の組み合わせ物または1つもしくはそれ以上のその成分を含む容器（例えば、例えば蓋を有するプラスチックもしくはガラスバイアル瓶、またはクロマトグラフィカラム、中空の穴を有する針、または注射器シリンダ）を提供する。

【0095】

本発明は、本発明の組み合わせ物からの1つまたはそれ以上の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体、抗原結合性断片、またはポリペプチド）またはその医薬組成物を含む注入装置も提供する。例えば、1つの抗原結合性タンパク質（組み合わせ物からの）は、第1の注入装置に存してもよく、別の抗原結合性タンパク質（当該組み合わせ物からの）は、第2の注入装置に存してもよく；または、両方の抗原結合性タンパク質（当該組み合わせ物からの）が、共通の注入装置に存してもよい。当該注入装置は、キットへと（共）パッケージングされる。注入装置は、物質を、非経口経路、例えば、筋肉内、皮下、または静脈内において、対象の体内へと導入する装置である。例えば、注入装置は、例えば、注入される流体（例えば、当該抗体もしくは断片またはその医薬組成物を含む流体）を保持するためのシリンダまたはパレル、当該流体の注入のために皮膚および/または血管をつなぐための針；および当該針の中空を通してシリンダから当該液体を押し出すためのプランジャを含む注射器（例えば、当該医薬組成物で事前に満たされた装置、例えば、自動注入装置など）であってもよい。本発明の実施形態において、本発明の組み合わせ物からの抗原結合性タンパク質、例えば、抗体もしくはその抗原結合性断片、またはその医薬組成物を含む注入装置は、静脈内（IV）注入装置である。そのような装置は、カニューレまたはトロカール/針によって対象の身体内に導入される流体（例えば、塩水）を保持するためのバックまたはリザーバに取り付けられるチューブに取り付けられるカニューレまたはトロカール/針において、当該抗原結合性タンパク質またはその医薬組成物を含むことができる。当該抗体もしくは断片またはその医薬組成物は、本発明の実施形態において、トロカールおよびカニューレが対象の静脈に挿入されて当該トロカールが挿入されたカニューレから取り外された後に、当該装置内に導入される。当該IV装置は、例えば、末梢静脈（例えば、手または腕における）、上大動脈または下大静脈、心臓の右心房内（例えば、中央IV）；または、鎖骨下静脈、内頸静脈、もしくは大腿静脈中に挿入され、ならびに、例えば、上大動脈または右心房（例えば、中心静脈線）に達するまで心臓に向かって進められる。本発明の実施形態において、注入装置は、自動注入装置；ジェットインジェクタまたは外部輸注液ポンプである。ジェットインジェクタは、対象の体に当該抗体もしくは断片またはその医薬組成物を導入するために表皮を貫通する液体の高圧の細かいジェットを使用する。外部輸注ポンプは、当該抗体もしくは断片またはその医薬組成物を、制御された量において対象の体内に送達する医療装置である。外部輸注ポンプは、電気的または機械的に駆動される。異なるポンプは、異なる方式において作動し、例えば、注射器ポンプは、注射器のリザーバにおいて流体を保持し、可動式ピストンは、流体送達を制御し、エラストマーポンプは、伸縮性のバルーン型リザーバ内に流体を保持し、当該バルーンの弾性壁からの圧力が流体送達を駆動する。せん動ポンプでは、ローラのセットが、フレキシブルチューブを長手方向に下って挟んでいき、流体を押し進める。マルチチャンネルポンプでは、流体を、複数の速度において複数のリザーバから送達することができる。

【0096】

本発明は、

10

20

30

40

50

(1) C5に特異的に結合する第1の抗原結合性タンパク質(例えば、抗体またはその抗原結合性断片)、および(i)当該第1の抗原結合性タンパク質(例えば、抗体または断片)とは異なるエピトープにおいてC5に特異的に結合し、および/または(ii)C5への結合において当該第1の抗原結合性タンパク質(例えば、抗体または断片)と競合しない、1つまたはそれ以上のさらなる抗原結合性タンパク質(例えば、ポリペプチド(例えば、coversin)または抗体またはその抗原結合性断片);または、

(2) C5における異なるエピトープに結合する2つまたはそれ以上の結合性ドメイン(例えば、第1および第2の結合性ドメイン)を含む多重特異性抗原結合性タンパク質(例えば、抗体またはその抗原結合性断片)(例えば、パイパラトピック抗C5 IgG抗体)であって、当該第1の結合性ドメインが、(i)当該第2の結合性ドメインとは異なるエピトープにおいてC5に特異的に結合し、および/または(ii)C5への結合において当該第2の結合性ドメインと競合しない、当該多重特異性抗原結合性タンパク質;

を含む組み合わせ物の治療有効量を、

場合により、さらなる治療薬(例えば、コルチコステロイド)および/または手順(例えば、PNHを患うヒト対象では、例えば、輸血など)を伴って、対象に(例えば、非経口)投与することによって、それを必要とする当該対象(例えば、ヒト)におけるC5関連疾患または障害(例えば、PNHまたはaHUS)を治療する方法を含む。

10

【0097】

「治療する」または「治療すること」は、C5関連疾患または障害の1つまたはそれ以上の症状を有する対象に本発明の組み合わせ物を投与することを意味し、この場合、当該組み合わせ物は、例えば、発作性夜間血色素尿症(PNH)もしくは非定型溶血性尿毒症性症候群(aHUS)を有するか、またはPNHまたはaHUSを有することが疑われる対象の治療において有効である。典型的には、当該組み合わせ物は、有効なまたは治療的な量または用量(本明細書において説明されるような)において投与される。

20

【0098】

本発明の組み合わせ物またはその成分の適切な用量を選択するガイドンスが利用可能である(例えば、Wawrzynczak (1996) *Antibody Therapy*, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.) (1991) *Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis*, Marcel Dekker, New York, N.Y.; Bach (ed.) (1993) *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, New York, N.Y.; Baert̄ (2003) *New Engl. J. Med.* 348:601~608; Milgrom̄ (1999) *New Engl. J. Med.* 341:1966~1973; Slamon̄ (2001) *New Engl. J. Med.* 344:783~792; Beniaminovit̄ (2000) *New Engl. J. Med.* 342:613~619; Ghosh̄ (2003) *New Engl. J. Med.* 348:24~32; Lipskȳ (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1594~1602を参照されたい)。

30

40

【0099】

C5関連疾患または障害を治療するための本発明の組み合わせ物における抗C5抗原結合性タンパク質(例えば、抗体または抗原結合性断片またはポリペプチド)の有効用量または治療有効用量は、そのような徴候および/または症状の後退または排除を引き起こすことによって、またはそのような徴候および/または症状の進行を阻害することによって、当該治療される対象または集団における当該疾患または障害(例えば、補体活性化など、根本にある原因)の1つまたはそれ以上の徴候および/または症状を軽減するのに十分な当該組み合わせ物の量を意味する。当該用量は、投与される対象の年齢およびサイズ、標的の疾患、状態、投与経路などに応じて変わり得る。本発明の実施形態において、例え

50

ば、成人ヒト対象における、C5関連疾患または障害を治療または予防するための、本発明の組み合わせ物の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性断片）の有効用量または治療有効用量は、約0.1から約100mg/体重kg、例えば、約5から約80、例えば、約10から約70、または約20から約50mg/体重kgの一回用量である。当該状態の重篤度に応じて、治療の頻度および期間を調節することができる。ある特定の実施形態において、本発明の組み合わせ物における抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性断片）は、少なくとも約0.1mgから約800mg、約1から約600mg、約5から約500mg、または約10から約400mgの初回用量として投与することができる。ある特定の実施形態において、当該初回用量は、当該初回用量とおよそ同じかまたはより少なくてもよい量での、当該抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性断片）の第2のまたは複数の後続の用量の投与によって後続され、その場合、当該後続の用量は、少なくとも1日から3日；少なくとも1週間；少なくとも2週間；少なくとも3週間；少なくとも4週間；少なくとも5週間；少なくとも6週間；少なくとも7週間；少なくとも8週間；少なくとも9週間；少なくとも10週間；少なくとも12週間；または少なくとも14週間；の間隔を空けられる。

10

【0100】

本発明の実施形態において、coversinは、本発明の組み合わせ物において、第1の用量の場合、0.57mg/kgにおいて投与され、毎日の反復維持用量（repeat maintenance dose）によって後続され、この場合、初回反復用量は、アブレーション用量（ablating dose）の25%である。

20

【0101】

「C5関連」疾患または障害は、C5aおよび/またはC5bによって媒介される炎症、細胞損傷、および/または細胞致死によって（直接的または間接的に）引き起こされる疾患または障害を意味する。

【0102】

C5関連疾患または障害は、非定型溶血性尿毒症性症候群（aHUS）を含む。本発明は、それを必要とする対象（例えば、aHUSを患う対象およびそのような徴候もしくは症状の1つまたはそれ以上を患う対象）に治療有効量の当該組み合わせ物を投与することによって、当該対象における、aHUSを治療もしくは予防するための、またはaHUSの少なくとも1つの徴候または症状、例えば、

30

- ・血小板活性化；
- ・溶血；
- ・全身性血栓微小血管障害（体中の微小血管での血餅の形成）、例えば、卒中に至る；
- ・心発作；
- ・腎不全（例えば、死に至る）；
- ・末期腎不全；
- ・永久的な腎障害；
- ・腹痛；
- ・錯乱；
- ・水腫；
- ・疲労感；
- ・嘔気/嘔吐；
- ・下痢；および/または
- ・微小血管症性貧血

40

の後退もしくは排除を誘起するための、またはそれらの進行を阻害するための方法を提供する。

【0103】

C5関連疾患または障害は、発作性夜間血色素尿症（PNH）を含む。本発明は、それを必要とする対象（例えば、aHUSを患う対象およびそのような徴候もしくは症状の1つまたはそれ以上を患う対象）に治療有効量の当該組み合わせ物を投与することによって

50

、当該対象における、PNHを治療もしくは予防するための、またはPNHの少なくとも1つの徴候または症状、例えば、

- ・赤血球の破壊；
- ・血栓症（例えば、深部静脈血栓症および/または肺塞栓症）；
- ・脈管間溶血性貧血；
- ・尿の赤変；
- ・貧血；
- ・疲労感；
- ・息切れ；
- ・動悸；
- ・腹痛；および/または
- ・嚥下困難；

10

の後退もしくは排除を誘起するための、またはそれらの進行を阻害するための方法を提供する。

【0104】

C5関連疾患または障害としては、神経障害、腎臓病、多発性硬化症、卒中、ギラン・バレー症候群、脳外傷、パーキンソン病、不適当なまたは望ましくない補体活性化の障害、血液透析合併症、超急性同種移植片拒絶反応、異種移植拒絶反応、IL-2療法の際のインターロイキン-2誘発有毒物、炎症性障害、自己免疫病の炎症、クローン病、成人呼吸促迫症候群、火傷または凍傷を含む熱傷、虚血後再灌流症状、心筋梗塞、毛細管漏出症候群、肥満、糖尿病、アルツハイマー病、統合失調症、卒中、てんかん、アテローム性動脈硬化症、脈管炎、水疱性類天疱瘡、C3系球体症、膜性増殖性糸球体腎炎、バルーン血管形成術によって引き起こされた補体活性化、心肺バイパスまたは腎臓バイパスにおけるポンプ後症候群（post-pump syndrome）、血液透析で引き起こされた補体活性化、腎乏血、大動脈再建術後の腸間膜動脈再灌流、感染症または敗血症、免疫複合体障害および自己免疫疾患、糖尿病性腎症、アルポート症候群、進行性腎不全、タンパク尿腎臓病、腎臓虚血再灌流障害、ループス腎炎、糸球体症、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス（SLE）、SLE腎炎、膜性増殖性腎臓炎、溶血性貧血、視束脊髄炎、腎臓移植、遺伝的CD59欠損症、乾癬、および重症筋無力症が挙げられる。本発明は、それを必要とする対象に本発明の組み合わせ物の治療有効量を投与することによって、当該対象における、先述のC5関連疾患または障害のいずれかを治療または予防する方法を含む。

20

30

【0105】

ある特定の他の実施形態において、本発明の組み合わせ物は、肺の疾患および障害、例えば、呼吸困難、喀血、ARDS、喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、肺気腫、肺塞栓症および梗塞症、肺炎、線維形成性塵肺症、不活性粉塵および鉱物による損傷（例えば、シリコン、炭塵、ペリリウム、およびアスベスト）、肺線維症、有機性粉末病、化学傷害（例えば、刺激物ガスおよび化学物質、例えば、塩素、ホスゲン、二酸化硫黄、硫化水素、二酸化窒素、アンモニア、および塩酸に起因する）、煙害、熱傷（例えば、火傷、凍傷）、喘息、アレルギー、気管支収縮、過敏性肺臓炎、寄生虫症、グッドパスチャー症候群、肺血管炎、遺伝性血管浮腫、および免疫複合体関連炎症など、からなる群より選択されるC5関連疾患または障害の少なくとも1つの症状または徴候を治療または予防するために有用である。本発明は、それを必要とする対象に本発明の組み合わせ物の治療有効量を投与することによって、当該対象における、先述のC5関連疾患または障害のいずれかを治療または予防する方法を含む。

40

【0106】

C5関連疾患または障害である眼疾患としては、例えば、加齢黄斑変性症（AMD）、糖尿病性黄斑浮腫（DME）、糖尿病性網膜症、眼血管形成（脈絡膜、角膜、または網膜の組織に影響を及ぼす眼新生血管形成）、地匏状萎縮（GA）、ぶどう膜炎、および視束脊髄炎が挙げられる。本発明は、それを必要とする対象（例えば、眼疾患を患う対象およ

50

びそのような徴候もしくは症状の1つまたはそれ以上を患う対象)に治療有効量の当該組み合わせ物を投与することによって、当該対象における、眼疾患を治療もしくは予防するための、または眼疾患の少なくとも1つの徴候または症状、例えば、

- ・視力喪失の速度増大；
- ・眼におけるドルーゼン（例えば、萎縮型AMDを有する対象の）；
- ・視力喪失；
- ・緩やかな中心視力の低下（例えば、非浸出性網膜黄斑部変性を有する対象の）；
- ・視覚の歪み；
- ・弱光レベルへの順応の困難；
- ・歪んだ中央視覚；
- ・中央および/または全体視覚の不明瞭；
- ・眼の色素変化；
- ・乱視（例えば、直線の格子が波形に見え、当該格子の一部が空白に見える場合のある、変視症）；
- ・滲出性変化（例えば、眼における出血、硬性白斑、網膜下/サブRPE/網膜内の体液）；
- ・眩しい光への曝露後の視力機能の遅い回復（例えば、光ストレス試験において特定されるような）；
- ・初期および/または地図状萎縮
- ・極端に低下した視力（例えば、2レベルまたはそれ以上、例えば、20/20から20/80）；
- ・優先的超視力視野計測変化（例えば、滲出型AMDを有する対象における）；
- ・かすみ目；
- ・視力喪失の急激な発生（例えば、滲出性の網膜黄斑部変性を有する対象における奇形の血管の漏れおよび出血によって引き起こされる）；
- ・中心暗点（影または視覚の失われたエリア）；
- ・色識別の困難（例えば、具体的には暗色と他の暗色および/または明色と他の明色）

10

20

・コントラスト感度の喪失；および/または
 ・直線がアムスラー格子において曲がって見える
 の後退もしくは排除を誘起するための、またはそれらの進行を阻害するための方法を提供する。

30

【0107】

C5関連疾患または障害、例えば、aHUS、PNH、または黄斑変性を発症する危険性のある対象、例えば、50歳を超える対象、網膜黄斑部変性の家族歴を有する対象、喫煙者、ならびに肥満、高コレステロール、心臓血管疾患、および/または不健康な食事を有する対象など、に対して予防的に治療有効量の本発明の組み合わせ物を投与することも、本明細書において想定される。

【0108】

併用療法

本発明は、C5に特異的に結合する第1の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性断片）と、(i)当該第1の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または断片）とは異なるエピトープにおいてC5に特異的に結合し、および/または(ii)C5への結合において、第1の抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または断片）と競合しない（例えば、H4H12166Pと、H4H12161P、H4H12170P、H4H12171P、H4H12175P、H4H12176P2、またはH4H12177P2のうちの一つ）、1つまたはそれ以上のさらなる抗原結合性タンパク質（例えば、ポリペプチドまたは抗体またはその抗原結合性断片）を含む組み合わせ物を提供する。そのような組み合わせ物は、さらに、1種またはそれ以上のさらなる治療薬および/または1種またはそれ以上の治療法を含んでもよい。例えば、当該さらなる治療薬は、本発明の

40

50

組み合わせ物の1つまたはそれ以上の成分を含む単一の組成物へと製剤化してもよく、または当該成分の一方または両方とは別々に製剤化してもよい。本発明は、それを必要とする対象に当該組み合わせ物の治療有効量を投与することによって、場合により、1種またはそれ以上のさらなる治療薬を伴って、当該対象におけるC5関連疾患または障害を治療または予防するための、またはそのような疾患または障害の少なくとも1つの症状または徴候を治療または改善するための方法を提供する。

【0109】

本発明の実施形態において、当該さらなる治療薬は、それ自体は、当該組み合わせ物の第1または第2 /さらなる抗体または断片、例えば、国際PCT特許出願第PCT/US 2017/037226号に記載されるような、H2M11683N; H2M11686N; H4H12159P; H4H12163P; H4H12164P; H4H12166P2; H4H12166P3; H4H12166P4; H4H12166P5; H4H12166P6; H4H12166P7; H4H12166P8; H4H12166P9; H4H12166P10; H4H12167P; H4H12168P; H4H12169P; H4H12176P2; H4H12177P2; H4H12183P2; H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N; およびH2M11695Nから選択される1種またはそれ以上の抗体またはその抗原結合性断片など、ではない別の抗C5抗体またはその抗原結合性断片（またはその変異体、または抗原結合性タンパク質、例えば、先述の抗体のうちのいずれかのCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含む重鎖免疫グロブリンと; CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含む軽鎖免疫グロブリンとを含む抗体または抗原結合性断片）（これらは、当該組み合わせ物における第1または第2 /さらなる抗体または抗原結合性断片ではない）である。

10

20

【0110】

そのようなさらなる治療薬としては、例えば、鉄、抗胸腺細胞グロブリン、成長因子、抗凝血剤、（例えば、ワルファリン、アスピリン、ヘパリン、フェニンジオン、フォンダパリヌクス、イドラパリヌクス、およびトロンピン阻害剤、例えば、アルガトロバン、レピルジン、ピパリルジン、またはダビガトランなど）、抗炎症剤（例えば、コルチコステロイド、および非ステロイド性抗炎症薬）、降圧剤（例えば、アンジオテンシン転換酵素阻害薬）、免疫抑制剤（例えば、ピンクリスチン、サイクロスポリンA、またはメトトレキサート）、線維素溶解剤（例えば、アネクロッド、 α -アミノカプロン酸、抗プラスミン-a1、プロスタサイクリン、およびデフィブロチド）、高脂血症治療薬、例えば、ヒドロキシメチルグルタリルCoAレダクターゼの防止剤（例えば、アトルバスタチン）など、抗CD20剤、例えば、リツキシマブなど、抗TNF 剤、例えば、インフリキシマブ、抗発作剤（例えば、硫酸マグネシウム）、C3阻害剤、抗血栓剤、アバコパン（CCX168; CAS#: 1346623-17-3）、ラプリズマブ、またはZimura（アバシンカプタドペゴル（avacincaptad pegol）; CAS# 1491144-00-3）など、が挙げられる。

30

【0111】

本発明の実施形態において、当該さらなる治療薬は、C5の活性; またはC5aおよびC5bへのC5の切断; またはC5の発現を阻害する薬剤である。本発明の実施形態において、当該さらなる治療薬は、C5に結合するC5 RNAi分子またはポリペプチド、例えば、モノクローナル抗体またはペプチド（例えば、環状ペプチド）、である。

40

【0112】

抗C5抗体または抗原結合性断片またはポリペプチドを伴って対象に投与されるさらなる治療薬は、本発明の実施形態において、医師用添付文書集、例えば、医師用添付文書集2003（Thomson Healthcare; 第57版（2002年11月1日））に従って当該対象に投与される。

【0113】

当該さらなる治療薬は、本発明の組み合わせ物の成分の投与と連続してまたは同時に対象に投与される。「同時」投与は、単一の共通の製剤での、または同じ治療セッションの

50

間に投与される別々の製剤での、2種またはそれ以上の物質の投与（例えば、注入）を意味する。「連続」投与は、（時間によって実質的に離された）別々の治療セッションの間における2種またはそれ以上の物質の投与を意味する。例えば、第1の成分は、連続投与計画において、第2の成分「の前に」投与されると考えられ、例えば、当該第1の成分は、当該第2の成分の投与の1週間前、72時間前、60時間前、48時間前、36時間前、24時間前、12時間前、6時間前、5時間前、4時間前、3時間前、2時間前、1時間前、または30分前に投与される。他の実施形態において、当該追加の治療的に活性な成分は、本発明の抗C5抗体の投与の後に、対象に投与される。

【0114】

本発明の実施形態において、当該対象はさらに、例えば、C5関連疾患または障害、例えば、PNSまたはaHUSなど、の治療を対象とした、治療手段、例えば、透析、血液または血漿輸血または交換、および/または骨髄/幹細胞移植（BMT/SCT）を施される。

10

【0115】

本発明は、さらなる治療薬、例えば、本明細書において説明されるもの（例えば、医薬組成物またはそのキット）を伴う、本明細書において説明されるような多重特異性またはマルチパラトピック抗原結合性タンパク質、ならびにC5関連疾患または障害、例えば、本明細書において説明されるものを治療または予防するためにそのようなタンパク質を使用する方法を含む。

20

【0116】

キット

本発明は、本発明の組み合わせ物の1つまたはそれ以上の成分を、場合により、1種またはそれ以上のさらなる治療薬、例えば、本明細書において説明されるもの（例えば、H4H12166Pと、H4H12161P、H4H12170P、H4H12171P、H4H12175P、H4H12176P2、またはH4H12177P2のうちの1つ）と共に含むキットを提供する。本発明の一実施形態において、当該キットは、ある装置（例えば、プレフィルド注射器）または容器（例えば、無菌ガラスまたはプラスチックバイアル瓶）における本発明の抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性断片）またはその医薬組成物と、別の装置（例えば、プレフィルド注射器）または容器（例えば、無菌ガラスまたはプラスチックバイアル瓶）における本発明の別の抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、抗体、または抗原結合性断片）またはその医薬組成物とを含む。

30

【0117】

別の実施形態において、当該キットは、単一の共通の容器または装置における、2種またはそれ以上の抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または抗原結合性断片）またはその医薬組成物を含む本発明の組み合わせ物を含む。

【0118】

当該キットが、対象への非経口投与のための医薬組成物を含む場合、当該キットは、そのような投与を実施するための装置を含むことができる。例えば、当該キットは、1つまたはそれ以上の皮下注射用の注射針または上記において説明したような他の注入装置を含むことができる。したがって、本発明は、注入装置と、本発明の1つまたはそれ以上の抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性断片）を含むキットであって、例えば、当該注入装置が、当該抗体または断片を含むか、または当該抗体または断片が別々の容器に入れられた、当該キットを含む。

40

【0119】

当該キットは、当該キット中の当該医薬組成物および投薬形態に関する情報を含む添付文書を含むことができる。一般的に、そのような情報は、当該封入された医薬組成物および投薬形態を効率的におよび安全に使用する際に、患者/対象および医者支援する。例えば、本発明の組み合わせ物に関する以下の情報が、添付文書において提供される：薬物動力学、薬動力学、臨床試験、効能パラメータ、指示と用法、禁忌症、警告、注意事項、

50

有害反応、過量、適切な投与量および投与、供給量、適切な貯蔵条件、参考文献、製造元／販売業者の情報、ならびに特許情報。

【0120】

本発明は、本発明の組み合わせ物を含むキットを作製する方法を含む。そのような方法は、第1の抗C5抗原結合性タンパク質（例えば、抗体または抗原結合性断片）を、上記さらなる抗原結合性タンパク質（例えば、ポリペプチド、抗体、または抗原結合性断片）の1つまたはそれ以上と共に、キットへと共パッケージングする工程を含む。当該方法は、場合により、1種またはそれ以上のさらなる治療薬および／または他の材料（例えば、本明細書で考察されるもの）を当該キットに含ませる工程を含む。

【実施例】

【0121】

以下の実施例は、本発明の方法および組成物を作製および使用する方法的完全な開示および説明を当業者に提供するために示されており、ならびに、本発明者らが本発明として見なす範囲を限定することを意図しない。使用される数（例えば、量、温度など）に関する正確性を確保するための努力が為されているが、いくらかの実験誤差および偏差は考慮されるべきである。特に明記されない限り、部は重量部であり、分子量は平均分子量であり、温度は摂氏であり、室温は約25℃であり、圧力は、大気圧または大気圧付近である。本明細書において記載される任意の抗体組み合わせ物または多重特異性抗体は、本発明の一部を形成する。

【0122】

実施例1：二重の、しかし、単一ではない、抗C5mAb処理は、副補体経路活性化の完全な阻害を達成する。

様々な条件下における、個別でのまたは他の薬剤との組み合わせでの様々な抗C5抗体の、溶血を阻害する能力について調査した。

【0123】

材料および方法

副経路溶血アッセイ。ウサギ赤血球（RbRBC）の溶解を阻止する、抗C5mAbの能力を評価するために、補体活性化の手段として副経路溶血アッセイを使用した。膜侵襲複合体によるウサギ赤血球の溶解は、補体活性化が実験的に測定される当該アッセイの基礎である。

【0124】

所望の数のRbRBCを、GVBMg²⁺/EGTA緩衝液において洗浄し、2×10⁸細胞/mlにおいて再懸濁させた。単一の抗C5mAbまたは抗C5mAbの組み合わせ物のどちらかの効能を試験するために、正常なヒト血清を、RBCに加えたときに25～48%の最終濃度を達成するように、GVBMg²⁺/EGTA緩衝液において50～96%に希釈した。溶血活性を測定するために、丸底96ウェルプレートを使用した。合計で100μlのRbRBC（2×10⁸細胞/ml）を、37℃において96ウェルプレートに播種し、その後、100μlの希釈した血清を加えた。細胞を穏やかに混ぜ、37℃において30～120分間インキュベートした。インキュベーション時間の後、当該細胞を4℃において1250×gの遠心分離によって遠沈させた。合計で100μLの当該上澄みを、新しい96平底プレートに移し、Spectramaxマイクロプレートリーダーにおいて412nmで読み取った。溶血のパーセントの計算は、以下に記載されるように行った。

【0125】

溶血の割合は、以下の式を使用することによって吸光度を用いて計算した。

10

20

30

40

【数 1】

$$\text{溶血\%} = 100 \times \frac{(\text{実験細胞溶解} - \text{バックグラウンド細胞溶解})}{(\text{最大細胞溶解} - \text{バックグラウンド細胞溶解})}$$

【0126】

この式において、「バックグラウンド細胞溶解」は、血清を含有しないだけの G V B - M g ²⁺ / E G T A 緩衝液においてインキュベートした細胞からの A _{412nm} での O D であった。「最大細胞溶解」は、水で処理した細胞からの A _{412nm} での O D であった。溶解の最大阻害は、最高値の割合として表現された曲線における最低値と最高値との間の差として計算した。データは、平均 ± 平均の標準誤差として表した。

10

【0127】

試験した抗 C 5 モノクローナル抗体。H 4 H 1 2 1 6 6 P、H 4 H 1 2 1 7 0 P、H 4 H 1 2 1 7 1 P、H 4 H 1 2 1 7 5 P、H 4 H 1 2 1 7 7 P 2、H 4 H 1 2 1 7 6 P 2、H 4 H 1 2 1 6 1 P、H 4 H 1 2 1 8 3 P 2、H 4 H 1 2 1 5 9 P、H 4 H 1 2 1 6 4 P、H 4 H 1 2 1 6 7 P、および H 4 H 1 2 1 6 3 P を含む 1 2 の抗 C 5 m A b のパネルを試験した。H 4 H 1 2 1 7 0 P の F a b 変種も、当該アッセイにおいて評価した。

【0128】

結果

他の抗 C 5 m A b と組み合わせた H 4 H 1 2 1 6 6 P は、副経路活性化を介した R b R B C の溶血を完全に阻止する。図 1 A および表 2 A に示されるように、25% の N H S (正常なヒト血清) および 30 分のインキュベーション時間による標準的アッセイ条件下において、全ての単一の m A b 処理は、A P 溶血のおよそ 80% 阻害 (またはそれ未満) において横這い状態になった。しかしながら、H 4 H 1 2 1 6 6 P との 1 : 1 のモル比において使用した場合、全ての組み合わせ物は、実質的にゼロまで A P 溶血を妨げた (図 2 B および表 2 B)。

20

【0129】

【表 3】

表 2A. 単一の抗体の存在下での赤血球溶解

抗体	溶解の最大阻害 %
H4H12166P	81.25
H4H12170P	88.66
H4H12161P	59.24
H4H12171P	36.63
H4H12175P	77.83
H4H12176P2	62.80
H4H12177P2	76.21

30

40

【0130】

50

【表 4】

表 2B. 抗体組み合わせ物の存在下での赤血球溶解

抗体組み合わせ物	溶解の最大阻害	
	%	
H4H12166P + H4H12170P	97.59	
H4H12166P + H4H12161P	98.11	
H4H12166P + H4H12171P	98.16	
H4H12166P + H4H12175P	98.10	
H4H12166P + H4H12176P2	97.29	
H4H12166P + H4H12177P2	98.14	

10

【0131】

20

組み合わせ物抗 C 5 m A b による阻害は、高い血清濃度またはより長いインキュベーション時間においても維持される。インキュベーション時間を 30 分から 120 分へ（図 2 A および表 3 A）または血清濃度を 25% から 48%（120 分のインキュベーション）へ（図 2 B および表 3 B）と増加させることは、両方とも、単一の m A b による阻害の効能を著しく減少させる。しかしながら、H 4 H 1 2 1 6 6 P は、H 4 H 1 2 1 6 1 P との組み合わせにおいて、依然として、より高い血清濃度またはより長いインキュベーション時間にもかかわらず、A P 溶血を完全に妨げることができ、妨害はロバストで完全であることを実証した。

【0132】

【表 5】

30

表 3A. 30 分または 120 分インキュベートした抗体の存在下での赤血球溶解

抗体	溶解の最大阻害	
	%	
	30 分	120 分
H4H12166P	82.79	57.21
H4H12161P	59.24	43.55
H4H12166P + H4H12161P	98.11	98.05

40

【0133】

【表 6】

表 3B. 抗体および 25%分もしくは 48%の血清の存在下での赤血球溶解

抗体	溶解の最大阻害	
	%	
	25% NHS 120 分	48% NHS 120 分
H4H12166P	57.21	30.00
H4H12161P	43.55	17.37
H4H12166P + H4H12161P	98.05	96.26

10

【0134】

組み合わせ効果は、mAb だけではなく Fab によっても観察され、やはり H4H12166P に依存しないが、異なるエピトープビン (epitope bin) からの組み合わせ mAb を必要とする。H4H12166P との 2 : 1 のモル比において使用される場合の H4H12170P の Fab 変種も、30 分および 120 分の両方のインキュベーション時間において、完全な遮断を達成した (図 3 および表 4)。次に、当該観察された組み合わせ効果に H4H12166P が必要であるか否かを試験した。図 4 および表 5 に示されるように、抗体 H4H12176P2 および H4H12177P2 の異なる組み合わせも、副経路を介した RbRBC 溶血の完全な遮断を提供し、当該組み合わせ効果が、H4H12166P に依存しないことを示した。しかしながら、図 5 に示されているように、同じエピトープビンからの組み合わせ mAb (H4H12170P + H4H12159P、H4H12175P + H4H12177P2、H4H12176P2 + H4H12164P、H4H12167P + H4H12163P) を試験する場合、溶血の最大抑制は観察されず、異なる結合部位がこの観察された効果に必要なことを示していた。

20

30

【0135】

【表 7】

表 4. H4H12166P と 2:1 のモル比において使用する場合の H4H12170P の Fab 変種の存在下での赤血球溶解

抗体	溶解の最大阻害	
	%	
	30 分	120 分
H4H12166P	65.88	42.31
H4H12170P	76.42	36.19
H4H12166P 8 + H4H12170P	98.14	98.10

40

【0136】

【表 8】

表 5. H4H12176P2 および/または H4H12177P2 の存在下での赤血球溶解

抗体	溶解の最大阻害 %
H4H12176P2	61.88
H4H12177P2	75.12
H4H12176P2 + H4H12177P2	98.05

10

【0137】

C3の追加は、単一の抗C5の阻止効果の減少を引き起こしたが、組み合わせmAbではそうではなかった。H4H12166PまたはH4H12161PmAbを伴う1 μ M濃度において、余剰のヒトC3タンパク質の追加は、結果として、単一のAP活性の部分的回復をもたらしたが、組み合わせmAb条件ではそうではなく、このことは、C3の追加は、単一の抗C5mAbの効果に打ち勝つが、抗C5mAbの組み合わせ物ではそうではないことを示唆していた(図6)。

20

【0138】

組み合わせ抗C5mAbによる阻害は、単一の抗C5mAbと比べて、C5a発生のさらなる抑制を生じない。図7に示されるように、C5a発生に対する当該阻止効果は、単一(H4H12166PまたはH4H12161P)と組み合わせ抗C5mAb(H4H12166P+H4H12161P)との間において異なるようには見えない。

【0139】

実施例2：C5二重特異性抗体は、抗C5mAbの組み合わせ物と同様の副補体経路活性化の完全な阻害を実現する

ウサギ赤血球(RbRBC)の溶血を阻止する、抗C5mAbの能力を評価するために、補体活性化の手段として副経路溶血アッセイを使用した。膜侵襲複合体によるウサギ赤血球の溶解は、補体活性を実験的に測定する当該アッセイの基礎である。

30

【0140】

所望の数のRbRBCを、GVB-Mg²⁺/EGTA緩衝液において洗浄し、2 \times 10⁸細胞/mlにおいて再懸濁させた。単一の抗C5mAbまたは抗C5mAbの組み合わせ物の効能を試験するために、正常なヒト血清を、GVB-Mg²⁺/EGTA緩衝液において50~96%に希釈して、RBCに加えるときに25~48%の最終濃度を達成した。溶血活性を測定するために、丸底96ウェルプレートを使用した。合計で100 μ lのRbRBC(2 \times 10⁸細胞/ml)を、37において96ウェルプレートに播種し、その後、100 μ lの希釈した血清を加えた。細胞を穏やかに混ぜ、37において30~120分間インキュベートした。インキュベーション時間の後、当該細胞を、4において1250 \times gの遠心分離によって遠沈させた。合計で100 μ lの当該上澄みを、新しい96平底プレートに移し、Spectramaxマイクロプレートリーダーにおいて412nmで読み取った。溶血のパーセントの計算は、以下に記載されるように行った。

40

【0141】

溶血の割合は、以下の式を使用して吸光度によって計算した。

【数 2】

$$\% \text{溶血} = 100 \times \frac{(\text{実験細胞溶解} - \text{バックグラウンド細胞溶解})}{(\text{最大細胞溶解} - \text{バックグラウンド細胞溶解})}$$

【0142】

この式において、「バックグラウンド細胞溶解」は、血清を含有しないだけの GVB - Mg²⁺ / EGTA 緩衝液においてインキュベートした細胞からの A_{412nm}での OD であった。「最大細胞溶解」は、水で処理した細胞からの A_{412nm}での OD であった。溶解の最大阻害は、最高値の割合として表現された曲線における最低値と最高値との間の差として計算した。データは、平均 ± 平均の標準誤差として表した。

10

【0143】

mAb / C5 のモル比を調べる実験のため、125 nM または 145 nM の固定濃度の C5 (CompTech Inc. から購入) を、C5 欠損正常ヒト血清 (CompTech Inc. から購入) に加え、様々な濃度の抗体に対して滴定した後、副経路溶血アッセイにおいて試験した。

【0144】

試験した抗 C5 モノクローナル抗体

・ H412176P2

・ H412177P2

・ H412176P2 と H412177P2 とから作製した二重特異抗体 (「H412176P2 x H412177P2」)

20

【0145】

C5 二重特異性抗体である H412176P2 x H412177P2 は、副経路活性化を介した RbRBC の溶血を完全に阻止した。図 8 および表 6 に示されるように、25% の NHS および 30 分間のインキュベーション時間による標準的アッセイ条件下において、H412176P2 または H412177P2 の単一の mAb 処理は、AP 溶血の部分的阻害をもたらした。しかしながら、1:1 のモル比において使用した場合、H412176P2 + H412177P2 の組み合わせ物は、実質的にゼロに下がるまで、AP 溶血を阻止した。H412176P2 および H412177P2 の重鎖および軽鎖 Ig から作製した二重特異性抗体である H412176P2 x H412177P2 も、当該組み合わせ物と同様の、mAb の AP 溶血の完全な抑制を示した。

30

【0146】

【表 9】

表 6. 溶解阻害の割合

ABPID	溶解の最大阻害 %
H4H12176P2	27.45
H4H12177P2	42.65
H4H12176P2 + H4H12177P2	98.10
H412176P2xH412177P2	98.06

40

【0147】

ほぼモル当量の抗体の組み合わせ物または C5 - 二重特異性は、副経路活性化を介した

50

R b R B C の溶血を完全に阻止するのに十分である。図 9 に示されるように、組み合わせ m A b (H 4 1 2 1 7 6 P 2 + H 4 1 2 1 7 7 P 2) または C 5 二重特異性 (H 4 1 2 1 7 6 P 2 x H 4 1 2 1 7 7 P 2) の約 1 . 2 9 の m A b / C 5 比は、ゼロ近くまで溶血を阻止した。この比率またはさらにそれを超える比率の個々の m A b は、部分的阻害しか提供しなかった。H 4 1 2 1 7 6 P 2 x H 4 1 2 1 7 7 P 2 によるさらなる実験は、1 . 0 ~ 1 . 5 の間の m A b / C 5 比率が副経路溶血アッセイを完全に阻止することを示した (図 1 0 A および 1 0 B) 。

【 0 1 4 8 】

実施例 3 : マルチアングルレーザ光散乱 (A 4 F - M A L L S) に接続された非対称フローフィールドフローフラクシオネーションによる、h C 5 と抗 h C 5 モノクローナル抗体 (m A b) との間において形成されたインビトロ複合体のサイズ分析

当該 A 4 F - M A L L S システムは、紫外線 (U V) ダイオードアレイ検出器、W y a t t T e c h n o l o g y D a w n H E L E O S (登録商標) I I レーザ光散乱装置 (L S)、および O p t i l a b (登録商標) T - r E X 示差屈折計 (R I) 検出器を備える A g i l e n t 1 2 0 0 S e r i e s H P L C システムに接続された E c l i p s e (商標) 3 + A 4 F S e p a r a t i o n S y s t e m で構成される。当該検出器は、以下の順 : U V - L S - R I において連続して接続した。L S および R I 検出器を、W y a t t T e c h n o l o g y によって提供される使用説明書に従って較正した。

【 0 1 4 9 】

設定された量の抗 h C 5 m A b を、それぞれ、ヒト補体 C 5 (h C 5 ; E M D M i l l i p o r e) と組み合わせ、1 X D P B S、p H 7 . 4 において希釈して、表 7 に一覧される最終モル比を得た。全ての試料を周囲温度で 2 時間インキュベートし、4 で非ろ過に維持し、その後、1 0 k D a の M W C O N a d i r 再生セルロース膜を使用して、W 3 5 0 スペーサホイル (3 5 0 μ m のスペーサ厚、2 . 2 c m のスペーサ幅) に取り付けられた E c l i p s e (商標) ショートチャンネルに注入した。当該チャンネルは、各試料の注入前に、移動相緩衝液 (1 0 m M のリン酸ナトリウム、5 0 0 m M の塩化ナトリウム、p H 7 . 0 ± 0 . 1) で事前に平衡化しておいた。ウシ血清アルブミン (B S A ; 2 m g / m L ; 1 0 μ g の試料ロード) を別々に注入し、システム適性コントロールとして含ませた。

【 0 1 5 0 】

分取方法は、4 つの工程 : 注入、フォーカシング、溶出、およびチャンネルの「洗い流し」工程からなつた。当該 A 4 F - M A L L S 移動相 (1 0 m M のリン酸ナトリウム、5 0 0 m M の塩化ナトリウム、p H 7 . 0 ± 0 . 1) を当該分取方法全体を通して使用した。各試料 (7 μ g の総タンパク質ロード) を、0 . 2 m L / 分の流量で 1 分間注入し、その後、1 . 5 m L / 分のフォーカス流量によって 2 分間フォーカスした。当該試料を、4 5 分間にわたって 1 . 0 m L / 分のチャンネル流量および 3 . 0 m L / 分から 0 m L / 分の直線勾配のクロスフローで溶出させた。最後に、当該クロスフローを、さらに 5 分間、0 m L / 分に維持して、当該チャンネルを洗い流した。同じパラメータ設定を使用して、B S A を分取した。

【 0 1 5 1 】

10

20

30

40

【表 10】

表 7. 試料製造のための各成分の濃度

試料	mAb1:mAb2:hC5 モル比 (μM : μM : μM)	図	表
H4H12166P:hC5	1:1	11	9
H4H12166P: H4H12175P:hC5	0.5:0.5:1	12	10
H4H12166P: H4H12177P2:hC5	0.5:0.5:1	12	10
H4H12166P: H4H12161P:hC5	0.5:0.5:1	13	10
H4H12166P: H4H12176P2:hC5	0.5:0.5:1	13	10
H4H12176P2: H4H12177P2:hC5	0.5:0.5:1	13	10
H4H12166P: H4H12170P:hC5	0.5:0.5:1	14	10
H4H12166P: H4H12171P:hC5	0.5:0.5:1	15	10
H4H12176P2xH4H12177P2 二重特異性 Ab:hC5	3:1	16	11
H4H12176P2xH4H12177P2 二重特異性 Ab:hC5	1:1	16	11
H4H12176P2xH4H12177P2 二重特異性 Ab:hC5	1:3	16	11

10

20

【0152】

A4F-MALLSデータ解析。ASTRA Vソフトウェア(バージョン5.3.4.14、Wyatt Technology)を使用して、データを解析した。当該データを、過剰な散乱光を溶質濃度および重量平均モル質量Mwに関連付ける方程式に当てはめた(Kendrick BS, Kerwin BA, Chang BS, Philo JS. (2001). Anal Biochem. 299(2), 136~46, 「Online Size-Exclusion High-Performance Liquid Chromatography Light Scattering and Differential Refractometry Methods to Determine Degree of Polymer Conjugation to Proteins and Protein-Protein or Protein-Ligand Association States」; Wyatt, PJ. (1993) Anal. Chim. Acta 272(1), 1~40, 「Light Scattering and the Absolute Characterization of Macromolecules」)。

30

【0153】

【数3】

$$\text{方程式 1: } \frac{K^*c}{R(\theta,c)} = \frac{1}{MwP(\theta)} + 2A_2c$$

40

式中、cは、溶質濃度であり、R(、c)は、散乱角および濃度の関数としての溶質からの過剰なローリー比であり、Mwは、モル質量であり、P()は、散乱光の角度依存性を記載し(<50nmの回転半径における粒子の場合は約1)、A₂は、浸透圧の展開式における二次ビリアル係数であり(測定は希釈溶液において実施されるため、無視することができる)、およびK*は、方程式2によって定義され、

【数 4】

$$\text{方程式 2: } K^* = \frac{4\pi^2 n_0^2}{N_A \lambda_0^4} \left(\frac{dn}{dc} \right)^2$$

【0154】

式中、 n_0 は、溶媒の屈折率を表し、 N_A は、アボガドロ数であり、 λ_0 は、真空での入射光の波長であり、および dn/dc は、溶質に対する比屈折率の増分を表す。

【0155】

光散乱検出器に対する正規化係数、検出器間遅延量、およびバンド拡大項は、用いた A 4 F - M A L L S 条件に対して収集した B S A クロマトグラムから計算した。これらの値は、これらの項を修正するために、全ての他の試料に対して収集したデータファイルに適用した。 10

【0156】

dn/dc 値および 215 nm での吸光係数（グリコシル化に対して修正される）は、A s t r a ソフトウェアにおいて提供されるタンパク質コンジュゲート解析を使用して、実験的に特定した。修正された吸光係数および dn/dc 値は、全てのタンパク質 - タンパク質複合体試料を分析するために使用した。B S A モノマーのモル質量は、データ収集の際の光散乱および示差屈折率検出器の較正定数を評価するのに役立った（システム適性チェック）。U V および R I 検出器から特定した B S A の平均モル質量の相対標準誤差は、5.0%であった。 20

【0157】

抗 h C 5 抗体と h C 5 との間において形成された複合体の相対サイズ分布を評価するために、A 4 F - M A L L S を使用した。それらの予測される化学量論による可能性のある m A b : h C 5 複合体の理論上のモル質量を、表 8 に提供する。

【0158】

抗 h C 5 m A b 組み合わせ物の初期スクリーニングは、h C 5 によって形成された複合体のサイズ分布における差を強調する。二次 m A b の不在において、H 4 H 1 2 1 6 6 P は、等モル量において混合した場合に、h C 5 と共に正準な 1 : 1 および 1 : 2 複合体を形成した（図 1 1、表 9）。全体的に、調査した全ての m A b 組み合わせ物は、h C 5 と異種複合体を形成する能力を示し、その場合、ほとんどの組み合わせ物では、試験した条件下において、2 : 2 の m A b : h C 5 の異種複合体に一致するより小さい離散的な種が優勢だった（ピーク 1、図 1 2 および 1 3 ; 表 1 0）。少量のより大きい離散的な複合体も、この試料において検出することができるが（ピーク 2）、「ペーパーリング（paper-ringing）」と呼ばれるプロセスである、非常に大きな異種の拡張された抗体 - 抗原格子（> 約 1500 kDa ; ピーク 3 ~ 4）は限定的であった。対照的に、H 4 H 1 2 1 6 6 P と H 4 H 1 2 1 7 0 P とによる組み合わせ物では、試験された他の組み合わせ物と比べてより高い程度の「ペーパーリング」を示す h C 5 とのより大きな異種の複合体が優勢だった（図 1 4 ; 表 1 0）。最後に、H 4 H 1 2 1 6 6 P と H 4 H 1 2 1 7 1 P とによる組み合わせ物は、この試料において検出される遊離 m A b および 1 : 1 の m A b : h C 5 ホモノマー性複合体（*）の存在によって証明されるような、h C 5 との異種複合体を形成する傾向の低下を示した（図 1 5 ; 表 1 0）。このことは、この組み合わせ物において、片方の m A b の結合が、h C 5 に対するもう片方の親和性（および/または解離速度（off-rate））に影響を及ぼすことを示唆し得る。あるいは、このことは、試験された他の組み合わせ物と比較して、分取プロセスの際の、この試料における当該異種複合体の安定性の低下を示し得る。 30 40

【0159】

H 4 1 2 1 7 6 P 2 x H 4 1 2 1 7 7 P 2（二重特異性抗 h C 5 m A b）と h C 5 との間において形成された複合体の分析は、安定な 1 : 1 の H 4 1 2 1 7 6 P 2 x H 4 1 2 1 7 7 P 2 : h C 5 複合体が全ての条件下において優勢であることを明らかにした。様々な 50

モル比において混合した場合、H412176P2 × H412177P2 二重特異性抗体は、hC5との安定な1:1複合体を主に形成し、このことは、H412176P2 × H412177P2の両方のアームが、hC5の単一分子と結合することを好むことを示唆しており、これは、一夫一婦の二価の相互作用と呼ばれる(図16;表11)。1:2、2:1、および2:2のmAb:hC5に一致する少量の追加の離散的な複合体が、様々な条件下において検出することができるが、さらなるより高次の複合体は観察されず、このことは、H412176P2 × H412177P2が、hC5との「ペーパードーリング」を促進しないことを示している。

【0160】

【表11】

10

表 8. mAb:hC5 複合体の理論上のモル質量

mAb:hC5 複合体	理論上のモル質量(kDa)
1:0	150
0:1	195
1:1	345
2:1	495
1:2	540
2:2	690
3:2	840
2:3	885
3:4	1230
4:4	1380
5:5	1725
6:5	1875
5:6	1920
6:6	2070

20

【0161】

【表12】

30

表 9. H4H12166P 単独との hC5 複合体のおよそのモル質量および保持時間のまとめの表

試料	モル比 (μM : μM)	ピーク 1		ピーク 2	
		[mAb] ₁ : [hC5] ₁ 複合体		[mAb] ₁ : [hC5] ₂ 複合体	
		R _t , 分	M _w , kDa	R _t , 分	M _w , kDa
H4H12166P:hC5	1:1	13.7	341.1	15.3	498.7

R_t: 保持時間; M_w: 重量平均モル質量; min:分; kDa: キロダルトン;

40

【0162】

【表 1 3】

表 10. 抗 hC5mAb 組み合わせ物との hC5 複合体のおよそのモル質量および保持時間の
まとめの表

試料	モル比 (μM : μM : μM)	ピーク 1		ピーク 2		ピーク 3		ピーク 4	
		[mAb] ₁₋₂ : hC5] ₂ 複合体		[mAb] ₃₋₄ : [hC5] ₄ 複合体		[mAb] ₅₋₆ : [hC5] ₅₋₆ 複合体		より高次の 異種複合体 ([mAb] _{≥7} : [hC5] _{≥7})	
		R _t , 分	M _w , kDa	R _t , 分	M _w , kDa	R _t , 分	M _w , kDa	R _t , 分	M _w , kDa
H4H12166P: H4H12175P: hC5	0.5:0.5:1	16.0	684.4	18.5	1342.4	20.1	1876.0	21.5	~2250- 3560
H4H12166P: H4H12177P2: hC5	0.5:0.5:1	16.1	687.7	18.5	1327.4	20.1	1865.6	21.5	~2380- 4250
H4H12166P: H4H12161P: hC5	0.5:0.5:1	16.4	684.7	18.4	1261.8	NA	NA	20.2	~1700- 2700
H4H12166P: H4H12176P2: hC5	0.5:0.5:1	15.7	685.9	17.7	1319.8	19.4	1849.8	20.6	~2300- 3800
H4H12176P2: H4H12177P2: hC5	0.5:0.5:1	15.8	687.7	17.8	1333.8	19.3	1871.6	20.6	~2300- 3600
H4H12166P: H4H12170P: hC5	0.5:0.5:1	15.5	664.8	19.2	1304.3	21.9	1901.1	23.6	~2300- 4100
H4H12166P: H4H12171P: hC5	0.5:0.5:1	15.9	649.6	19.1	1288.2	ND	ND	20.6	~1700- 2300

R_t: 保持時間; M_w: 重量平均モル質量; min:分; kDa: キロダルトン; ND: 検出されず

10

20

30

【 0 1 6 3 】

【表 1 4】

表 11. H412176P2xH412177P2(抗 hC5 二重特異性 mAb)との hC5 複合体のおよそのモル質量および保持時間のまとめの表

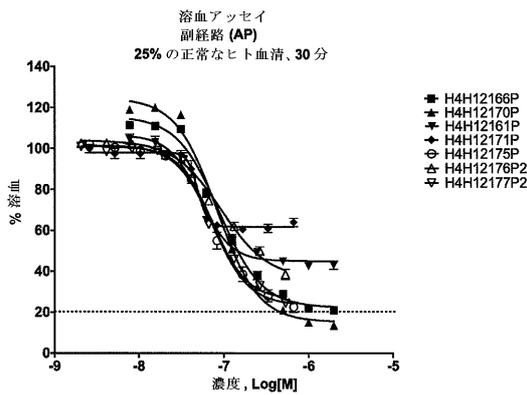
試料	モル比 (μM : μM)	ピーク 1		ピーク 2		ピーク 3		ピーク 4	
		[mAb] ₁ : [hC5] ₁ 複合体		[mAb] ₂ : [hC5] ₁ 複合体		[mAb] ₁ : [hC5] ₂ 複合体		[mAb] ₂ : [hC5] ₂ 複合体	
		R _t , 分	M _w , kDa	R _t , 分	M _w , kDa	R _t , 分	M _w , kDa	R _t , 分	M _w , kDa
H412176P2x H412177P2: hC5	3:1	11.2	359.3	11.9	506.5	N/A	N/A	N/A	N/A
H412176P2x H412177P2: hC5	1:1	11.2	347.2	ND	ND	N/A	N/A	12.3	681.3
H412176P2x H412177P2: hC5	1:3	11.1	350.9	N/A	N/A	12.2	559.5	ND	ND

R_t: 保持時間; M_w: 重量平均モル質量; min:分; kDa: キロダルトン; ND: 検出されず

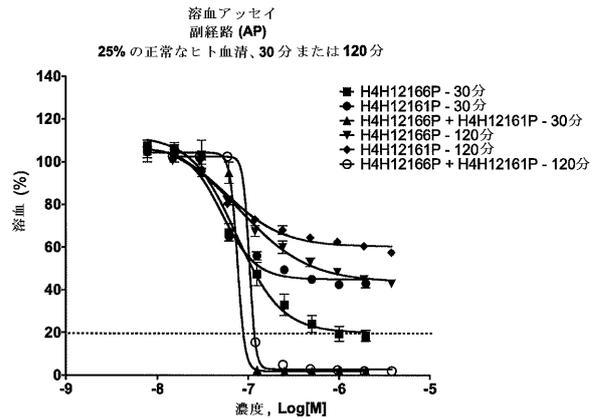
10

20

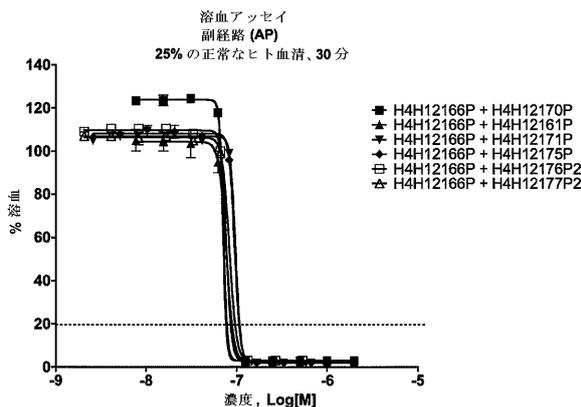
【図 1 A】



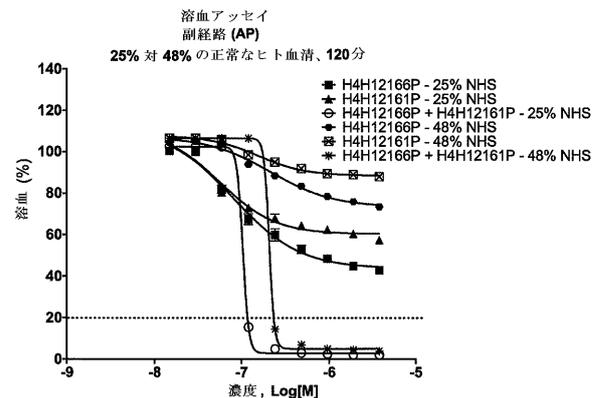
【図 2 A】



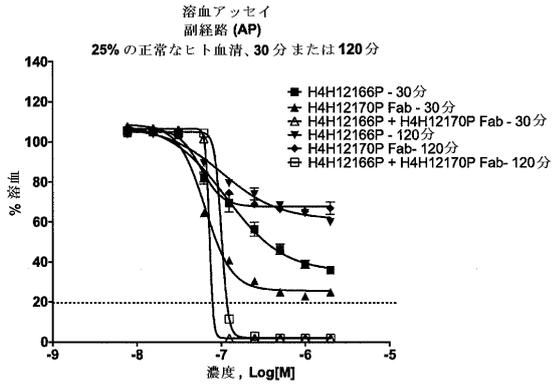
【図 1 B】



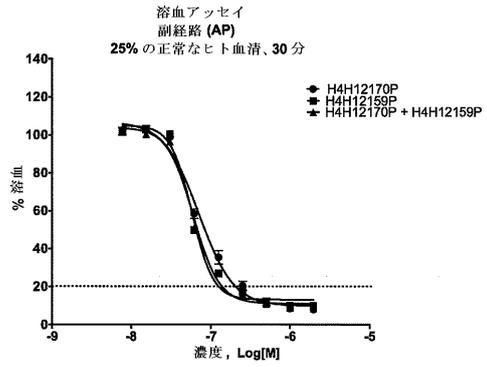
【図 2 B】



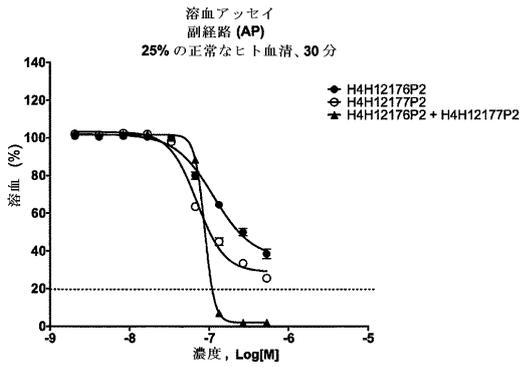
【 図 3 】



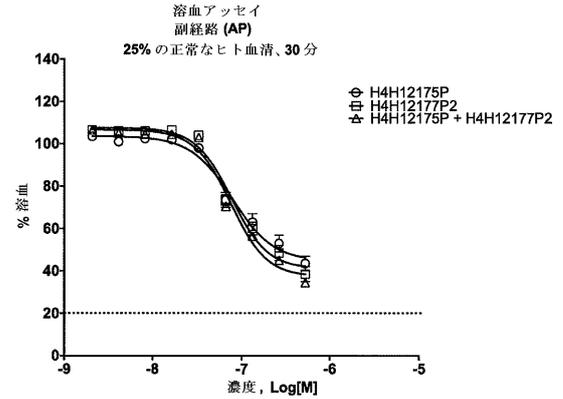
【 図 5 A 】



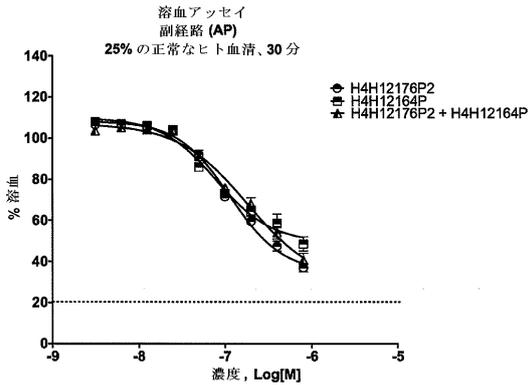
【 図 4 】



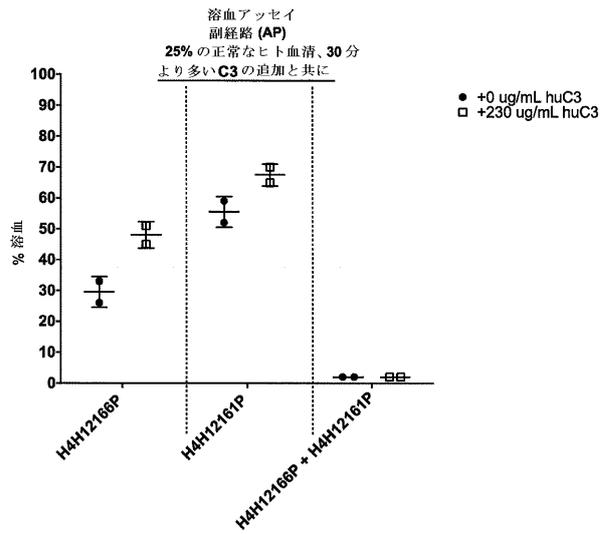
【 図 5 B 】



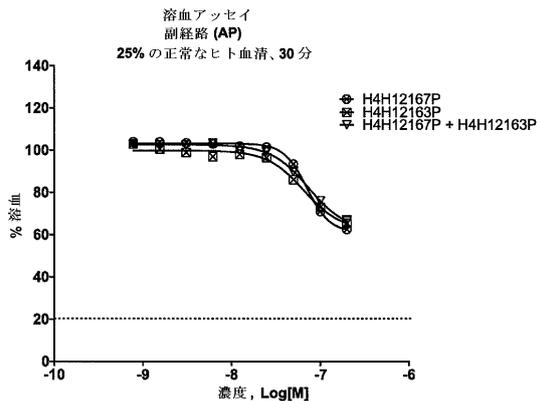
【 図 5 C 】



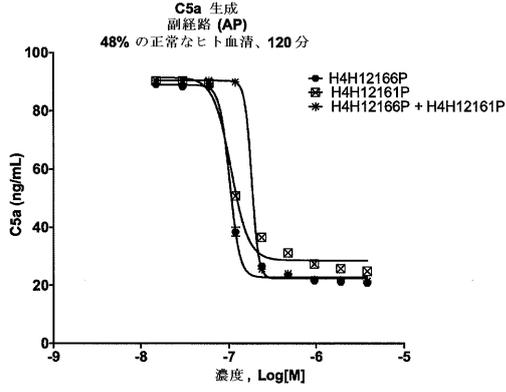
【 図 6 】



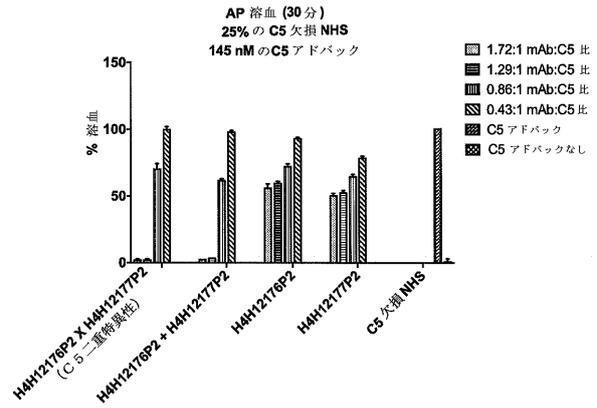
【 図 5 D 】



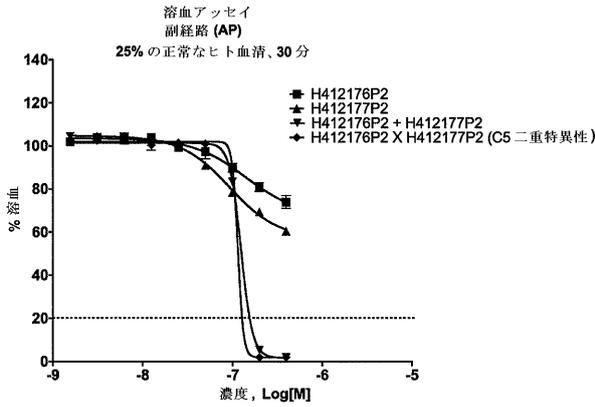
【 図 7 】



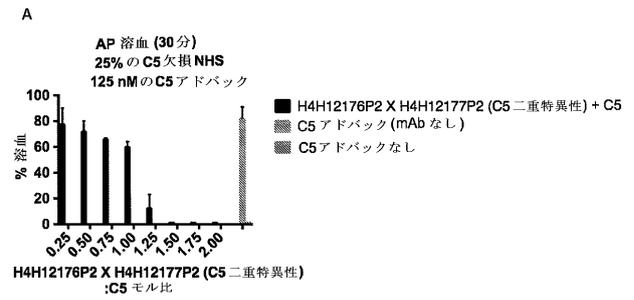
【 図 9 】



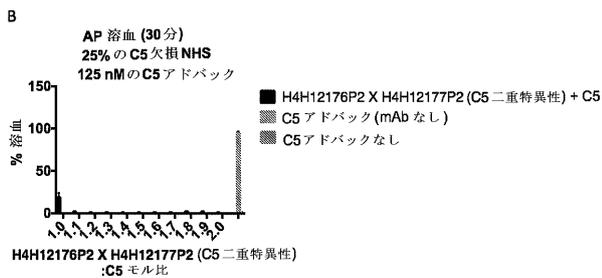
【 図 8 】



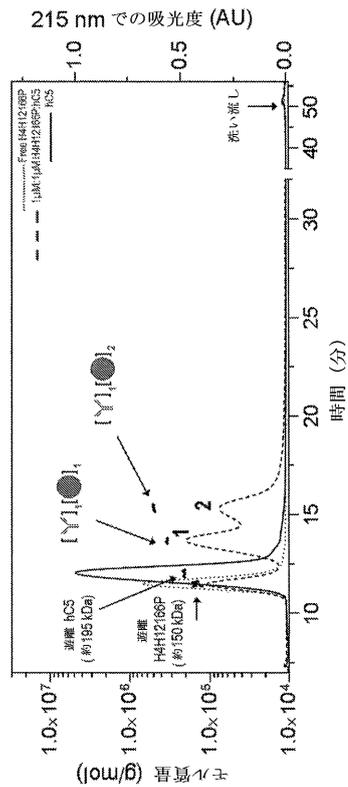
【 図 10 A 】



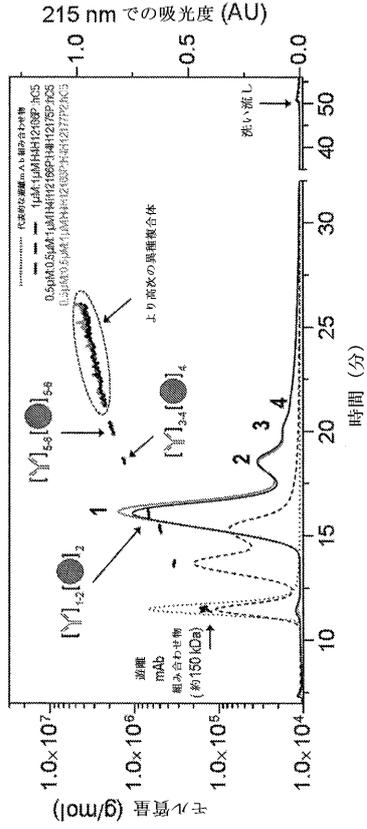
【 図 10 B 】



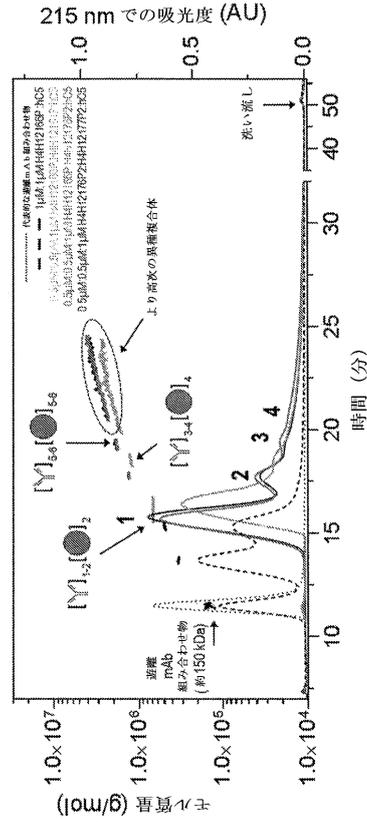
【 図 11 】



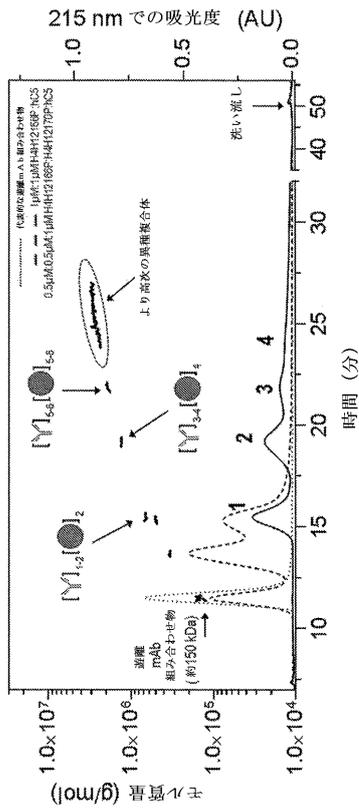
【 図 1 2 】



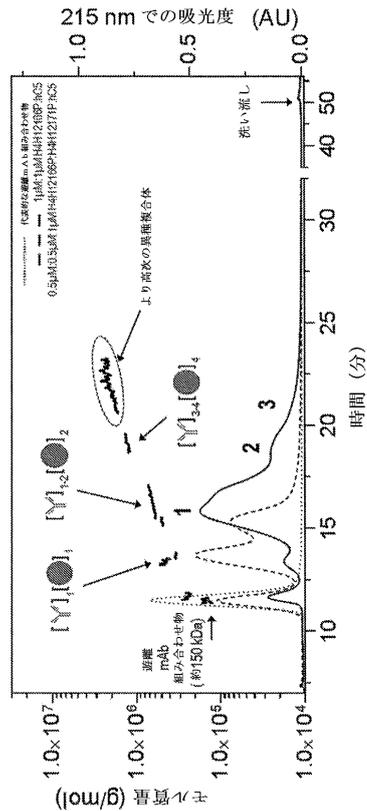
【 図 1 3 】



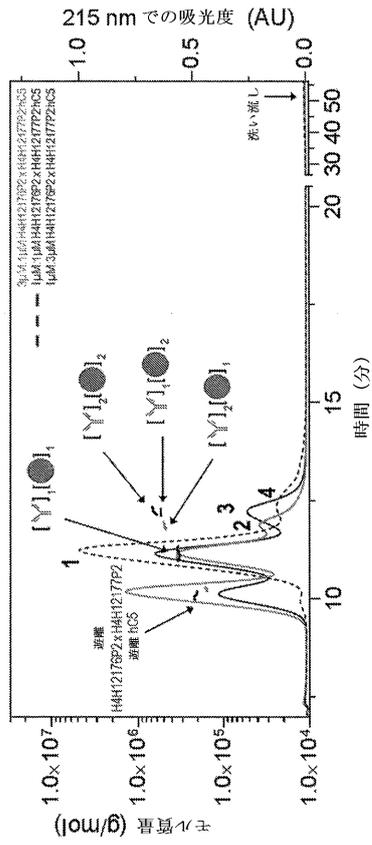
【 図 1 4 】



【 図 1 5 】



【 図 1 6 】



【 配 列 表 】

2021506241000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2018/065123

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/18 A61K39/395 A61P43/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K A61P		
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, 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, P	WO 2017/218515 A1 (REGENERON PHARMA [US]) 21 December 2017 (2017-12-21) [012], [0155-0157], [0176], [0231]; claim 39; figures 1-16 -----	1-6, 9-29
Y	WO 2008/069889 A2 (ALEXION PHARMA INC [US]; BELL LEONARD [US]; ROTHER RUSSELL P [US]) 12 June 2008 (2008-06-12) claims 1,2,10,18,32-40 -----	1-6, 9-29
Y	WO 2014/047500 A1 (ALEXION PHARMA INC [US]; TAMBURINI PAUL P [US]) 27 March 2014 (2014-03-27) claims 1-155 -----	1-6, 9-29
Y	US 2012/230982 A1 (ZHOU XIAO-HONG [US] ET AL) 13 September 2012 (2012-09-13) claims 1-35 -----	1-6, 9-29
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date		"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
"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)		"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
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
16 May 2019	31/05/2019	
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 Klee, Barbara	

5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2018/065123

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2010/151526 A1 (ALEXION PHARMA INC [US]; TAMBURINI PAUL P [US]) 29 December 2010 (2010-12-29) claims 2,64,85 -----	1-6,9-29
Y	WO 2016/201301 A1 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS INC [US]) 15 December 2016 (2016-12-15) claims 1-69 -----	1-6,9-29
X	WO 2016/117346 A1 (CHUGAI PHARMACEUTICAL CO LTD [JP]) 28 July 2016 (2016-07-28) claims 1-20 -----	1-6,9-29

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2018/065123

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
1-6, 9-29

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ US2018/ 065123

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-3, 6, 9-14, 16-29(all partially)

H2M11683N

2-3. claims: 1-3, 9-14, 16-29(all partially)

H2M11686N; H4H12159P

4. claims: 1-6, 9-29(all partially)

H4H12161P

5-16. claims: 1-3, 6, 9-14, 16-29(all partially)

H4H12164P; H4H12166P2;
H4H12166P3;H4H12166P4;H4H12166P5;H4H12166P6;H4H12166P7;H4H12
166P8; H4H12166P9;H4H12166P10;H4H12168P;H4H12169P

17-21. claims: 1-6, 9-29(all partially)

H4H12170P;H4H12171P;H4H12175P;H4H12176P;H4H12177P2

22-25. claims: 1-3, 9-14, 16-29(all partially)

H2M11682N; H2M11684N; H2M11694N;H2M11695N

26. claims: 7(completely); 1-3, 6, 9-14, 16-29(partially)

CONVERSIN

27. claims: 8(completely); 1-3, 6, 9-14, 16-29(partially)

ECULIZUMAB

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2018/065123

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017218515 A1	21-12-2017	AU 2017283470 A1	03-01-2019
		CA 3027487 A1	21-12-2017
		CL 2018003563 A1	22-02-2019
		CN 109563159 A	02-04-2019
		CO 2018014413 A2	08-03-2019
		EP 3468990 A1	17-04-2019
		KR 20190018166 A	21-02-2019
		SG 112018109330 A	30-01-2019
		US 2017355757 A1	14-12-2017
		WO 2017218515 A1	21-12-2017
WO 2008069889 A2	12-06-2008	AU 2007328435 A1	12-06-2008
		BR PI0718830 A2	04-02-2014
		CA 2669735 A1	12-06-2008
		EP 2089058 A2	19-08-2009
		JP 2010509338 A	25-03-2010
		KR 20090076960 A	13-07-2009
		US 2007116710 A1	24-05-2007
		WO 2008069889 A2	12-06-2008
		WO 2014047500 A1	27-03-2014
US 2015247849 A1	03-09-2015		
WO 2014047500 A1	27-03-2014		
US 2012230982 A1	13-09-2012	AU 2012201364 A1	20-09-2012
		NZ 598610 A	25-07-2014
		US 2012230982 A1	13-09-2012
		US 2014056888 A1	27-02-2014
		US 2016215044 A1	28-07-2016
		US 2016272700 A1	22-09-2016
		US 2017151328 A1	01-06-2017
WO 2010151526 A1	29-12-2010	AU 2010264520 A1	19-01-2012
		CA 2766565 A1	29-12-2010
		CN 102597005 A	18-07-2012
		EP 2445937 A1	02-05-2012
		JP 2012531418 A	10-12-2012
		KR 20120105405 A	25-09-2012
		NZ 597259 A	30-04-2014
		RU 2012102021 A	27-07-2013
		US 2011002931 A1	06-01-2011
		WO 2010151526 A1	29-12-2010
WO 2016201301 A1	15-12-2016	EP 3307316 A1	18-04-2018
		US 2018169132 A1	21-06-2018
		WO 2016201301 A1	15-12-2016
WO 2016117346 A1	28-07-2016	CN 107428823 A	01-12-2017
		EP 3247723 A1	29-11-2017
		JP 2018511557 A	26-04-2018
		US 2018016327 A1	18-01-2018
		WO 2016117346 A1	28-07-2016

フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)
A 6 1 P 43/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 1 2 1

(81) 指定国・地域 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, 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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

(72) 発明者 キショー・デヴァララジャ - ナラシムハ
 アメリカ合衆国ニューヨーク州 1 0 5 9 1 . タリータウン . オールドソーミルリバーロード 7 7 7
 . リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド

F ターム (参考) 4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01
 4C085 AA13 AA14 BB11 DD62 EE01 GG01
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 DA76 EA28 FA74