

明 細 書

発明の名称：神経変性疾患の治療剤

技術分野

[0001] 本発明は、機能異常ミクログリア数を低減させる活性、及び／又は、アミロイドβオリゴマー及び／又はリン酸化タウ及び／又はシヌクレイン（αシヌクレイン、βシヌクレイン、γシヌクレイン）を除去する活性、及び／又は、シナプス数を回復させる活性、及び／又は、認知機能及び／又は運動機能の低下を抑制し、又は回復させる活性を有する抗g p NMB抗体（中でもヒト化抗体）、及び、斯かる活性を有する成分を含む医薬に関する。

背景技術

[0002] 1. 神経変性疾患

神経変性疾患とは、毒性を有する蛋白質（構造変化による多量体化や凝集体形成などを起こし、細胞内で分解できなくなった蛋白質）が神経細胞内に蓄積することにより、神経細胞の神経伝達機能や細胞内クリアランスの機能が障害され、さらには神経細胞死が起こり、認知機能低下、記憶障害、精神障害、又は運動機能低下などを呈する進行性の神経疾患である。神経変性疾患は根本的な治療薬が無く、疾患に伴う症状を緩和する薬剤が使用されている。こうした「神経変性疾患」は、そのほとんどが「中枢神経変性疾患」である。

[0003] 神経変性疾患に分類される疾患は、（1）タウオパチー（主にタウが蓄積して神経変性を起こす疾患）：具体的には、アルツハイマー病、前頭側頭葉変性症（FTLD-Tau）、前頭側頭型認知症（FTD）、原発性加齢関連タウオパチー（PART）、慢性外傷性脳症（CTE）、ピック病、大脳皮質基底核変性症（CBD又はCBS）、進行性核上性麻痺（PSP）、球状グリア性タウオパチー（GGT）、嗜銀顆粒性認知症（AGD）（嗜銀性顆粒病）、加齢性関連タウアストログリオタウオパチー（ARTAG）、家族性英国認知症（FBD）、家族性デンマーク認知症（FDD）、FTDP

17、認知症を伴う多系統タウオパチー（MST-D）、神経原線維変化型認知症、石灰沈着を伴うびまん性神経原線維変化病（DN-TC）、球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー（WMT-GGI）等が挙げられる。（2）タウオパチー以外の神経変性疾患：具体的には、パーキンソン病（ α シヌクレインなどの蓄積）、ハンチントン病（変異型ハンチンチンなどの蓄積）、脊髄小脳変性症（ポリグルタミン酸蛋白質などの蓄積）、遺伝性脊髄小脳失調症（ポリグルタミン酸蛋白質などの蓄積）、球脊髄性筋萎縮症（ポリグルタミン酸蛋白質などの蓄積）、レビー小体型認知症（ α シヌクレインなどの蓄積）、クロイツフェルト・ヤコブ病（異常プリオン蛋白質、 β シヌクレインなどの蓄積）、筋萎縮性側索硬化症（ALS）（SOD、TDP43、FUS（Fused in sarcoma）、 α シヌクレイン、 γ シヌクレインなどの蓄積）、前頭側頭葉変性症（FTLD-TDP、FTLD-FUS:TDP43、FUSなどの蓄積）等が挙げられる。

[0004] 2. アルツハイマー病（アルツハイマー型認知症）

世界的な高齢化の流れの中で、認知症は大きな問題であると認識されている。アルツハイマー病インターナショナルが実施した調査によると、世界中の認知症患者の数は、2030年には約7600万人に、その後2050年には1億3900万人に増加すると予測されている。

[0005] 世界保健機関（WHO）によれば、認知症の約60～70%がアルツハイマー病であると報告されている（<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>）。アルツハイマー病には2大病理が報告されている。

1つは老人斑（アミロイド沈着）であり、もう1つが神経原線維変化（タウ蓄積）である。

[0006] 家族性のアルツハイマー病患者がアミロイドの産生亢進に関わる遺伝子変異を有することから、アミロイドを構成する成分であるアミロイド β （A β ）に対する抗体やワクチンの研究が進められている。既に、アミロイド沈着を除去する様々な抗A β 抗体（非特許文献1）や毒性が強いとされるA β オリゴマーをターゲットとする薬剤（非特許文献2）が臨床開発され、202

3年にレカネマブ（Lecanemab）（非特許文献3、非特許文献72）がFDAから承認を受けている。しかしながら、アミロイドを対象としたこれらの医薬の効果は限定的で、副作用などのリスクも高いことが報じられている。

[0007] 一方、もうひとつの神経原線維変化の構成成分であるタウに関しても、近年の脳内画像解析によって、タウ蓄積と臨床症状や病態進行との相関が確認され、創薬標的として注目されている。現在、様々なエピトープに対する抗タウ抗体の臨床試験が進行中である（非特許文献4、非特許文献84）。

[0008] さらにアルツハイマー病治療を目的とする抗体を脳内へ効率よく移行させる技術としては、トランスフェリン受容体など血液脳関門（BBB）に発現する膜蛋白質に対する抗体や親和性を有するペプチドを定常領域に付加あるいはアミノ酸変異導入で結合性を付与することで効率よくBBBを通過する抗体が創製されている（非特許文献5）。

[0009] しかしながら現在、認知機能の低下抑制又は改善に対する有効な薬剤は未だ存在せず、有効なアルツハイマー病治療薬の創製は、世界的に喫緊の課題である。

[0010] 3. ミクログリア

ミクログリアは、アストロサイトやオリゴデンドロサイトと同じグリア細胞の一つであるが、アストロサイトやオリゴデンドロサイトなどとは異なり、胎生期卵黄嚢で発生する前駆細胞を起源とする。ミクログリアは脳内のマクrophage様細胞であり、中枢神経の免疫担当細胞として働き、例えば脳内におけるアミロイド β や凝集タウなどの毒性蛋白質を除去する役割を担っていると考えられている。また、神経障害時などにおいて神経修復あるいは保護的に働くことが報告されている。更に、シナプス剪定など神経ネットワークの維持にも重要な役割を担っていることが明らかとなってきた。一方で活性化されたミクログリアは炎症性サイトカインなどを放出して脳内炎症を誘導する。近年の遺伝子解析技術の進歩により、様々なミクログリアサブタイプの存在が報告され、それぞれの疾患との関りが今後の研究課題となっている。

- [0011] ミクログリアとアルツハイマー病理とのかかわりにおいては、アルツハイマー病患者脳を使用した免疫組織染色において、変性ミクログリアがタウ蓄積と相関するとの報告がなされていた（非特許文献6）。さらに、アルツハイマー病における機能不全ミクログリアのサブタイプを免疫組織学的手法（single cell histology）によって同定した報告もある（非特許文献7）。しかしながら、機能不全ミクログリアがどのように疾患を修飾しているのかは不明であった。また、機能不全ミクログリアであることの判別は一般的にはその形態によりなされているが、研究者によっては機能不全ミクログリア様のミクログリアを「変性ミクログリア」とか「老化ミクログリア」とも呼称しており（非特許文献8）、その意味するところは必ずしも定まっていない。
- [0012] また、ミクログリアが活性化された際に発現が上昇するTSPO（translocator protein）に対するリガンドを使用したアルツハイマー病患者の脳の画像解析も行われており、TSPO-PET（Positron Emission Tomography）によって検出されたシグナルがアルツハイマー病患者で高いとの報告（非特許文献9）や、タウやアミロイド病理と相関するとの報告（非特許文献10）もある。しかしながら、これらTSPO-PETリガンドの活性化ミクログリアに対する特異性などに関して、研究は発展途上であり（非特許文献11）、共通見解が得られる状況に至っていない。
- [0013] 近年、アルツハイマー病のGWAS（Genome Wide Association Study）解析（非特許文献12）において疾患関連遺伝子の多くがミクログリアに発現していることが解明された。このため、ミクログリアを標的としたアルツハイマー病治療薬の研究開発が進められている。例えば、TREM2の機能が失われるLOF（Loss of Function）遺伝子変異（R47H）を有するヒトはアルツハイマー病の発症リスクが高くなる（非特許文献13）。現在、ミクログリア標的の抗体医薬品候補としては、ミクログリアを活性化させることでA β やタウなどの毒性タンパク質のクリアランスを促進させることを期待して、ミクログリアを活性化させる作用を有する抗TREM2アゴニスト

抗体（非特許文献14）及び抗CD33阻害抗体（非特許文献15）に対する臨床試験が行われている（NCT04592874、NCT03822208）。一方で、グリオシスの抑制という観点で活性化ミクログリアを抑制する抗Sema4D抗体（非特許文献16）も臨床試験が実施されている（NCT04381468）。

[0014] 近年、アルツハイマー病モデルマウスにおけるミクログリアのscRNAseq（single-cell RNA sequencing）解析によって、アルツハイマー病態に関連して出現するミクログリアサブタイプが存在することが明らかとなった。斯かるミクログリアサブタイプとしては、DAM（Disease Associated Microglia、非特許文献17）、ARM（Activated Response Microglia、非特許文献18）、及びMGnD（microglial neurodegenerative phenotype、非特許文献19）等が報告されている。しかしながら、これらDAM等の疾患関連ミクログリアを特異的に調節する方法が存在しないことから、これらの疾患関連ミクログリアがアルツハイマー病をどのように修飾しているか、つまりどのように作用しているかは、未だ明らかになっていない。さらに、明らかとなった疾患特異的ミクログリアのうち、どのサブタイプのミクログリアが病態を抑制し、どのサブタイプが病態を亢進させているかも不明である。また、mRNA発現レベルでは、細胞が変性蛋白質を蓄積しているかどうかの情報を直接得ることができないため、機能不全ミクログリアがどのサブタイプに分類されるのか、あるいはどのサブタイプ中に含まれるのかも不明であった。

[0015] 4. gpNMB

gpNMB（Glycoprotein nonmetastatic melanoma protein B）（別名：Osteoactivin、DC-HIL、非特許文献20）は、1回膜貫通型の糖タンパク質であり、ヒトでは12か所もの糖鎖付加部位を有する。通常は細胞内小器官（小胞体、ライソゾーム、ゴルジ体、メラノソーム）などに発現している（非特許文献21）。しかし、過剰発現すると細胞膜上にも発現することが報告されている（非特許文献22）。gpNMBは、がん

細胞においても発現が報告されており（非特許文献23）、KLD（kringle-like domain）が細胞増殖に重要であることや、細胞内ITIMモチーフがシグナルを誘導することなどの報告もある（非特許文献24）。

[0016] さらに、gpNMBは、ファミリー蛋白質のPMEL（Premelanosome Protein）のCAF（Core Amyloid Fragment）領域（非特許文献25）と相同性を有する領域（以下、PMEL-CAF様（PMEL Core Amyloid Fragment-like）ドメインと呼ぶ）やPKD（Polycystic Kidney Disease homology）ドメインを有する。PKDドメインは、3つのストランドからなる β シートと4つのストランドから成る β シートとが折り畳まれるように β サンドイッチ構造を形成しているドメインである。多発性嚢胞腎の原因遺伝子であるポリシスチン1（polycystin-1）が有する特徴的な構造であることから、PKDドメインと命名された（非特許文献26）。

[0017] gpNMBはファゴソームやライソゾームの機能に重要であり（非特許文献27）、gpNMB欠損マウスにおいては、ライソゾームの機能が低下することが報告されている（非特許文献28）。またgpNMBを欠損したマウスにおいて、虹彩の異常や緑内障発症が報告されており（非特許文献29）、gpNMBを欠損したヒトは皮膚アミロイドーシスとなることが報告されている（非特許文献30）。

[0018] gpNMBはADAM10などの膜型プロテアーゼで切断されて可溶性gpNMBとして遊離することが知られており（非特許文献31）、可溶性gpNMBは神経保護（非特許文献32）や抗炎症（非特許文献21）及び細胞増殖（非特許文献33）に関与することが報告されている。さらに可溶性gpNMB（細胞外領域gpNMB）を過剰発現させたトランスジェニックマウスで神経機能が向上したことが報告され（非特許文献34）、レンチウイルスベクターを使用してgpNMBを発現させることでオートファジーを亢進させると、アルツハイマー病モデルマウス（APP/PS1）の認知機能が上昇したとの報告もある（非特許文献35）。

[0019] 一方で、マウスgpNMBの一部のアミノ酸配列を有するマウスgpNM

B特異的ワクチンペプチドの投与によって、老化した血管内皮細胞や線維芽細胞が低減され、高脂肪食負荷モデルマウスにおけるインスリン抵抗性改善や動脈硬化改善、老化促進マウスにおける生存期間延長などが報告されている。また、その際に抗体依存性細胞傷害（ADCC: antibody dependent cellular cytotoxicity）活性が重要であると報告されており、老化細胞除去に有効なgpNMB部分ペプチド配列が開示されている（特許文献1、非特許文献36）。また、同様に高脂肪食負荷モデルマウスにおいてマウスgpNMBに対するポリクローナル抗体を投与することで、肝臓から産生される可溶性gpNMBを阻害することによって、肥満やインスリン抵抗性が改善されたとの報告がある（非特許文献37）。

[0020] 抗gpNMB抗体としては、抗ヒトgpNMB特異的ヒト抗体であるグレンバツムマブ（Glebatumumab）（特許文献2）が知られている。グレンバツムマブと抗がん剤とのコンジュゲートであるグレンバツムマブ・ベドチン（Glebatumumab Vedotin）は、がん治療薬候補として第2相試験まで進んだが、開発中止となった。また、癌細胞の表面に発現するgpNMBに結合し、免疫毒素で癌を治療する別の抗gpNMB抗体も開示されている（特許文献3）。更には、別の抗ヒトgpNMB特異的抗体の取得に関する報告もあり、ヒト由来がん細胞に対する診断や治療への応用が述べられている（非特許文献38）。また、活性化ラットミクログリア特異的な抗ラットgpNMB特異的抗体も報告されている（非特許文献39）。また、抗マウスDC-HIL特異的抗体が細胞内へシグナルを入れるとの報告もある（非特許文献40）。

[0021] アルツハイマー病（AD）におけるgpNMB発現に関しては、免疫組織染色とRNA発現解析及び脳脊髄液中濃度の報告がある。免疫組織染色に関しては、AD患者脳において、gpNMB発現ミクログリアのApoE陽性Aβプラークへの集積が報告された（非特許文献41）。

[0022] RNA発現に関しては、AppNL-G-FマウスのscRNAseq解析において、ミクログリアのサブタイプ分類を行い、ARM（Activated Res

ponse Microglia) が、組織修復遺伝子である g p NMBなどを産生しているとの報告があり、TREM2産生亢進、CD33産生低下が確認されている（非特許文献18）。また、アルツハイマー病モデルマウス5XFADにおいて、MGnDにおいてg p NMBの発現が上昇するとの報告もあり、神経保護的に働く役割があるのではないかと記されている（非特許文献19）。一方で、アルツハイマー病モデルマウスのscRNAseq解析において機能不全ミクログリアにg p NMBが発現しているとの報告もある（非特許文献42）。さらに、アルツハイマー病患者脳のサンプルを使用したsnRNAseq (single-nucleus RNA sequencing) において、毒性タンパク質除去に働くと考えられている貪食能を有する活性化ミクログリアにおいて、TREM2、ITGAX、g p NMB、FLT1、SPP1などの発現が報告されている（非特許文献43）。1型ミクログリアとアルツハイマー病の関連性と、g p NMBの2面的機能の可能性についての報告もなされている（非特許文献44）。しかしながら、非特許文献18及び非特許文献43で示しているように、多くのミクログリアサブタイプが存在することが知られている。

[0023] 更に、g p NMBがオートファジー機能に関与し、ADモデルマウス（APP-PS1）のA β 沈着を軽減し、モリス水迷路試験により認知機能を改善することが報告されている（非特許文献35）。

[0024] 脳脊髄液中の可溶性g p NMB濃度とアルツハイマー病との関係に関しては、ADで濃度が上昇しているとの報告（非特許文献19）がある一方で、関連性がないとする報告（非特許文献45）もある。近年の報告によれば、脳脊髄液中のg p NMBがALS（筋萎縮性側索硬化症）、PD、ADなどの病態や臨床症状と相関するとの報告がある（非特許文献80、81、82）。

[0025] また、近年のGWAS (Genome-wide association studies) 解析によってg p NMBはパーキンソン病のリスク遺伝子として報告されており（非特許文献46）、パーキンソン病の原因物質である α シヌクレインの伝播に対す

る関与も示唆されている（非特許文献47）。一方で、g p NMBを欠損してもシヌクレイン関与の病理に変化はないとの報告もある（非特許文献48）。免疫組織染色に関しては、アルツハイマー病患者および那須ハコラ病患者脳において、g p NMB発現ミクログリアの検出が報告された（非特許文献41）。パーキンソン病においても黒質における免疫組織染色と蛋白質レベルでg p NMBの発現上昇が報告されている（非特許文献49）。

[0026] 5. アルツハイマー病モデルマウス

現在、様々なアルツハイマー病モデルマウスが開発され、研究に使用されている（非特許文献50）。代表的なモデルマウスの一つに5 X F A Dマウス（非特許文献51）がある。これは、アミロイド β の中でも最も毒性が強いとされるA β オリゴマーを産生し、神経細胞内にもA β オリゴマーを蓄積するモデルマウスである。また、A P P o s kマウス（非特許文献52）は、5 X F A Dモデルマウスと同様に神経細胞内にA β オリゴマーを蓄積するモデルマウスであり、これまでリファンピシンの経鼻投与による病理の改善、シナプス数の回復、及び認知機能の改善が報告されている（非特許文献53）。しかしながら、細胞内に蓄積したA β オリゴマー又はA β を貪食若しくは蓄積した細胞を、抗A β 抗体などの抗体によってクリアランスした報告は無い。さらに、神経機能や神経伝達の指標となる神経細胞のシナプス数の回復を示した抗体の報告も無かった。

[0027] T g 2 5 7 6は、A P P (A m y l o i d前駆体蛋白質、アイソフォーム695) 遺伝子のスウェーデン変異(K M 6 7 0 / 6 7 1 N L) 体遺伝子が過剰発現するT gマウスであり、9か月齢程度でアミロイドプラーク（アルツハイマー病患者脳における老人斑）を呈することが報告されているA Dモデルマウスであり（非特許文献54）、アミロイド病理の研究に汎用されている。

[0028] T a u 2 6 4はヒトタウを発現するT gマウスであり、単独ではT a u病理を呈さないが（非特許文献55）、A P P o s kマウスとの掛け合わせにより、リン酸化タウの蓄積が誘導されることが報告されており（非特許文献

56)、変異のない野生型T a uのリン酸化と蓄積を呈する点でヒトのアルツハイマー病に近い病理を呈するモデルマウスと考えられる。

[0029] 6. 神経機能評価

神経機能回復の評価として、i n v i v oでは、一般的に空間参照機能や記憶などを評価するモリス水迷路試験やY迷路、新規物質探索などの行動試験が行われる。

[0030] また、i n v i t r oでは、免疫組織染色による評価として、神経細胞の指標となるN e u N染色による神経細胞数の解析、シナプス数の指標となるシナプトフィジン染色によるシナプス数の解析が一般的に行われる。

[0031] 多くのアルツハイマー病モデルマウスでは、神経細胞死にまで至らない状態で評価を行うので、シナプトフィジン染色によるシナプス数の解析による神経機能の評価を行う。

[0032] I n v i t r oにおけるシナプトフィジン量とi n v i v o神経機能は相関関係にあることが多くの論文で報告されており（非特許文献57、非特許文献58、非特許文献59）、シナプトフィジン染色などによるシナプトフィジン蛋白質の定量化により、神経機能回復を評価することが可能である。

[0033] 7. α -シヌクレイノパチー

パーキンソン病（P D）やレビー小体型認知症（D L B）、パーキンソン症候群である多系統萎縮症（multiple system atrophy: M S A）では、脳及び全身に α -シヌクレインというタンパク質の凝集体が病的に出現し神経細胞死を引き起こすことが知られている。これらの疾患は、凝集しやすい異常構造型 α -シヌクレインが脳に蓄積し神経細胞が脱落する疾患で、 α -シヌクレイノパチーと総称される。

[0034] なかでも、パーキンソン病は種々の行動障害と自律神経症状を特徴とする疾患であり、中脳の黒質にある神経細胞が進行性に脱落することにより、ドーパミンが不足することで症状が引き起こされる。日本では人口10万人当たり約100人にみられ、男女差はなく、50歳～60歳台以上の高齢者に

発症することが多い。その多くは孤発性で原因は不明であり、加齢や環境因子、遺伝的因子など複数の要因の関与が推定されている。稀に遺伝性PDも認められる。根本的な治療薬は無く、症状を改善する薬剤のみであり、病状に基づいた根本的な治療薬の創製が世界的な喫緊の課題である。

[0035] 2018年のJAMA Neurology誌における報告によると、パーキンソン病患者数の増加は非常に急速で、アルツハイマー病の増加を凌ぐものになっている。1990年から2015年にかけて世界のパーキンソン病の有病率は2倍以上、死亡率も2倍以上になった。パーキンソン病は高齢化とともに増加するため、今後さらに、指数関数的に発症者数が増加するものと推測されている。2014年のメタ解析の結果から、全世界におけるパーキンソン病患者数は2015年の690万人から、2040年には2倍以上の1420万人に増加すると推定されている（非特許文献73）。

[0036] 8. パーキンソン病モデルマウス

現在、様々なパーキンソン病モデルマウスが開発され、研究に使用されている（非特許文献74）。代表的なモデルマウスの一つにA53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス（非特許文献75）がある。これは、A53T変異ヒト α シヌクレインのトランスジェニックマウスであり、シヌクレイン凝集体の中でも最も毒性が強いとされる α シヌクレインオリゴマーを産生し、海馬および黒質内にも α シヌクレインオリゴマーを蓄積するモデルマウスである（非特許文献76）。本モデルマウスは、黒質よりも先に海馬に α シヌクレインオリゴマーを蓄積するため、認知機能障害が先に現れ、その後黒質に α シヌクレインオリゴマーを蓄積して行動障害が現れる。

[0037] これまで抗 α シヌクレイン抗体などによるモデルマウスの治療効果が報告されている（非特許文献77）が、長期に投与が必要であり、また治療効果は明確ではない。既にパーキンソン病の臨床試験へ進んだ抗 α シヌクレイン抗体薬が数種類あるが、既に2種の抗体は中止となっている（非特許文献78、79）。

[0038] 9. 運動機能評価

モデルマウスの運動機能を評価する方法としては、ロータロッド (Rotarod) 試験、及び、インバーテッドスクリーン (Inverted Screen) 試験が知られている。

[0039] ＜ロータロッド (Rotarod) 試験＞

げっ歯類における協調運動と運動学習を測定するテストで、特に実験動物の神経疾患や薬物作用の検討に用いられる。回転する棒(ロッド)の上にマウスをのせると、マウスは落ちないようにロッドの上を歩く。ロッドの回転スピードを徐々に速くして、マウスが落下するまでの時間を測定する。

[0040] ＜インバーテッドスクリーン (Inverted Screen) 試験＞

反転スクリーンテストは、運動強度/調整力を測定するために使用される。訓練されていないマウスを、金属棒上に水平に取り付けられた正方形 (7.5 cm × 7.5 cm) のワイヤーメッシュスクリーン (12 mmの正方形で構成されたメッシュ) の上に個別に置く。次に、マウスがスクリーンの下部に来るようにスクリーンを180度反転させて、落ちるまでの時間を計測する。

先行技術文献

特許文献

[0041] 特許文献1：国際公開第2021/020047号

特許文献2：特許第6334496号公報

特許文献3：国際公開第2007/053718号

非特許文献

[0042] 非特許文献1：Avgerinos et al., Ageing Res. Rev., (2021), 68:101339

非特許文献2：Tolar et al., Int. J. Mol. Sci. (2021), 22[12]:6355

非特許文献3：Jeremic et al., Ageing Res. Rev., (2021), 72:101496

非特許文献4：Ji et al., Drugs, (2021), 81[10]:1135-1152

非特許文献5：Pardridge et al., Pharmaceuticals (2022), Vol.15Article 3, Internet <<https://doi.org/10.3390/ph15010003>>

非特許文献6：Streit et al., Acta Neuropathol., (2009), 118[4]:475-85

- 非特許文献7 : Swanson et al., *Acta Neuropathol. Commun.*, (2020), 8:170
- 非特許文献8 : Shahidehpour et al., *Neurobiol. Aging.*, (2021), 99:19-27
- 非特許文献9 : Malpetti et al., *Brain*, (2020), 143:1588-1602
- 非特許文献10 : Dani et al., *Brain*, (2018), 141[9]:2740-2754
- 非特許文献11 : Gouilly et al., *Eur. J. Neurosci.*, (2022), doi: 10.1111/ejn.15613
- 非特許文献12 : Jansen et al., *Nat. Genet.*, (2019), 51[3]:404-413
- 非特許文献13 : Wang et al., *Cell*, (2015), 160[6]:1061-1071
- 非特許文献14 : Wang et al., *J. Exp. Med.*, (2020), .217[9]:e20200785
- 非特許文献15 : Griciuc et al., *Curr. Opin. Neurol.*, (2021), 34[2]:228-236
- 非特許文献16 : Mao et al., *Int. J. Mol. Sci.*, (2021), 22:9465
- 非特許文献17 : Keren-Shaul et al., *Cell*, (2017), 169:1276-1290
- 非特許文献18 : Frigerio et al., *Cell Rep.*, (2019), .27[4]:1293-1306
- 非特許文献19 : Huettenrauch et al., *Acta Neuropathol. Commun.*, (2018), 6:108
- 非特許文献20 : Shikano et al., *J. Biol. Chem.*, (2001), 276[11]:8125-8134
- 非特許文献21 : Ripoll et al., *J. Immunol.*, (2007), 178:6557-6566
- 非特許文献22 : Tse et al., *Clin. Cancer Res.*, (2006), 12[4]:1373-1382
- 非特許文献23 : Maric et al., *OncoTargets Ther.*, (2013), 6:839-852
- 非特許文献24 : Xie et al., *Cancer Sci.*, (2019), 110[7]:2237-2246
- 非特許文献25 : Hee et al., *Scientific Reports*, (2017), 7:44064
- 非特許文献26 : Bycroft et al., *EMBO J.*, (1999), 18[2]:297-305
- 非特許文献27 : Li et al., *FASEB J.*, (2010), 24[12]:4767-4781
- 非特許文献28 : Robinet et al., *Scientific Reports*, (2021), 11:10249
- 非特許文献29 : Anderson et al., *Nat. Genet.*, (2002), 30:81-85
- 非特許文献30 : Yang et al., *Am. J. Hum. Genet.*, (2018), 102[2]:219-232

- 非特許文献31 : Rose et al., PLoS One, (2010), 5[8]:e12093
- 非特許文献32 : Nakano et al., Neuroscience, (2014), 277:123-131
- 非特許文献33 : Wang et al., Cancer Sci., (2021), 112:4187-4197
- 非特許文献34 : Murata et al., J. Neurochem., (2015), 132:583-594
- 非特許文献35 : Zhu et al., Neurosci. Lett., (2022), 767:136300
- 非特許文献36 : Suda et al., Nat. Aging, (2021), 1:1117-1126
- 非特許文献37 : Gong et al., Nat. Metab., (2019), 1[5]:570-583
- 非特許文献38 : Zhang et al., Monoclon. Antibodies Immunodiagn. Immunother., (2013), 32[4]:265-269
- 非特許文献39 : Kawahara et al., Glia, (2016), 64[11]:1938-1961
- 非特許文献40 : Chung et al., J. Immunol., (2019), 183[5]:5190-5198
- 非特許文献41 : Satoh et al., Intractable Rare Dis. Res., (2019), 8[2]:120-128
- 非特許文献42 : Krasemann et al., Immunity, (2017), 47:566-581
- 非特許文献43 : Gerrits et al., Acta Neuropathol., (2021), 141:681-696
- 非特許文献44 : 川原, 月刊「細胞」, (2022), 54[2]:110-114
- 非特許文献45 : Aichholzer et al., Alzheimers Res. Ther., (2021), 13:94
- 非特許文献46 : Murthy et al., Neurogenetics, 2017, 18:121-133
- 非特許文献47 : Diaz-Ortiz et al., Science, 2022, 377:833
- 非特許文献48 : Grendza et al., Neurobiol. Dis., 2021, 159:105494
- 非特許文献49 : Moloney et al., Neurobiol. Dis., 2018, 120:1-11
- 非特許文献50 : FBRI LLC, "ALZFORUM: NETWORKING FOR A CURE", "RESEARCH MODELS", [online], (1996), [Searched in 2022], Internet <<https://www.alzforum.org/research-models/alzheimers-disease>>
- 非特許文献51 : Oakley et al., J. Neurosci., (2006), 26[40]:10129-10140
- 非特許文献52 : Umeda et al., J. Neurosci. Res., (2011), 89:1031-1042
- 非特許文献53 : Umeda et al., Front. Neurosci., (2021), 15:763476
- 非特許文献54 : Hsiao et al., Science, (1996), 274[5284]:99-102

- 非特許文献55 : Umeda et al., Am. J. Clin. Pathol., 2013, 183[1]:211-225
- 非特許文献56 : Umeda et al., Acta Neuropathol., (2014), 127:685-698
- 非特許文献57 : Shi et al., Front. Pharmacol., (2021), 12:794458
- 非特許文献58 : Umeda et al., Biomedicines 2022, 10, 297
- 非特許文献59 : Hafez et al., Neuroscience, (2012), 223:465-472
- 非特許文献60 : EMBL-EBI, "AlphaFold Protein Structure Database", "Transmembrane glycoprotein NMB", [online], (2021), [Searched in 2022], Internet <<https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/Q99P91>>
- 非特許文献61 : Woollacott et al., J. Neuroinflammation, (2020), 17:234
- 非特許文献62 : Kushwaha et al., Ann. Neurosci., (2018), 25:223-233
- 非特許文献63 : Quek et al., J. Neuroinflammation, (2022), 19:58
- 非特許文献64 : Boi et al., Int. J. Mol. Sci., (2020), 21[22]:8535
- 非特許文献65 : Ishijima et al., Science Progress, (2021), 104[4]:1-21
- 非特許文献66 : Cai et al., Bioengineered, (2021), 12[2]:11390-11398
- 非特許文献67 : Paasila et al., Brain Pathology, (2019), 29:726-740
- 非特許文献68 : Hajj et al., J. Neuroinflammation, (2019), 16:87
- 非特許文献69 : Stratoulis et al., EMBO J., (2019), 38:e101997
- 非特許文献70 : Alexander et al., Pigment Cell Melanoma Res. (2013), 26[4]:470-486
- 非特許文献71 : Chrystal et al., Molecules (2021), 26, Article_3529
- 非特許文献72 : Yadollahikholes et al., Neurotherapeutics (2023) 20:914-931
- 非特許文献73 : Dorsey et al., JAMA Neurol., 2018, 75:9-10
- 非特許文献74 : Dovonov et al., Transl. Neurodegener., 2023, 12:Art_36
- 非特許文献75 : Lee et al., PNAS USA, 2022, 99[13]:8968-8973
- 非特許文献76 : Umeda et al., Int. J. Mol. Sci., 2021, 22[16]:8453
- 非特許文献77 : Nordstrom et al. Neurobiology of Disease, 2021, Vol.161

, Art_105543.

非特許文献78 : Xiao et al. J Transl Med 2023, Vol.21, Art_178.

非特許文献79 : Chatterjee et al. Neurobiol Dis 2019, Vol.132, Art_104587.

非特許文献80 : Zhu et al., J Mol Neurosci 2019, Vol.69, pp643-657.

非特許文献81 : Hansson et al., EMBO Mol Med 2023, Vol.15, e16359.

非特許文献82 : Doroszkiewicz et al., J Clin Med 2023, 12:4689.

非特許文献83 : Kawahara et al., J. Neurochem., (2024), Vol.00, 1-23

非特許文献84 : Panza et al., Expert Opin. Investig. Drugs, 2023, Vol.32, pp.625-634.

非特許文献85 : Barreto et al., Glia, 2024, Vol.72, No.7, pp.1319-1339

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0043] 神経変性疾患の症状改善薬はあるが治療薬は無い。一方で、神経変性疾患において、特異的に出現する疾患関与ミクログリアの存在が *scRNAseq* などによって明らかにされてきたが、どれが病態を進行させているミクログリアなのか不明であった。また、病態を進行させている機能異常ミクログリアを特定して特異的に除去することが神経細胞内の毒性蛋白質の除去や神経機能回復などの治療効果につながるかどうか不明であった。
- [0044] そうしたなか、背景技術として記載したように、機能異常ミクログリアで発現する遺伝子のうちオートファゴソームやライソゾームの機能に関与する遺伝子の一つとして *gpNMB* が挙げられるものの、*gpNMB* 高発現ミクログリアが病態を進行させるのか保護的に働くのか、病態に関与するか否かすら不明であった。
- [0045] また、上述のようにアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患モデルマウスにおいても疾患関与ミクログリアの存在がいくつか報告されていたが、疾患関与ミクログリアを特異的に調節する方法は存在しなかった為、疾患関与ミクログリアがどのように疾患を修飾しているのかが不明であ

った。

[0046] 更に、上述のように疾患関与ミクログリアで発現する g p N M B は神経保護的に作用するとの報告や機能異常ミクログリアで発現するなどの報告がなされていたが、これまで疾患モデル動物に投与して薬効を評価し得る、生体内の生理的条件下で高い親和性で結合し得る抗 g p N M B モノクローナル抗体の報告例は無かった。ましてや、脳内で作用し得る高親和性の抗 g p N M B モノクローナル抗体をアルツハイマー病モデルマウスへ投与し、効果を解析した報告は無かった。

[0047] g p N M B は、糖鎖に富む糖タンパク質であり、ヒトでは 1 2 か所の糖鎖付加部位が存在する。そのため、細胞に発現する g p N M B を認識しうるモノクローナル抗体の創生は容易では無く、前述のように、グレンバツムマブと抗がん剤とのコンジュゲートであるグレンバツムマブ・ベドチンについて、g p N M B 高発現のがん種（メラノーマや乳癌など）に関する臨床試験が実施されたのみである。グレンバツムマブはヒト g p N M B 特異的な抗体であるため、疾患モデルマウスや疾患モデルラットにおける内因性の g p N M B への効果を評価することはできなかった。

[0048] 一方で、抗マウス g p N M B ポリクローナル抗体による肝臓発現可溶性 g p N M B の阻害による高脂肪食負荷モデルマウスの肥満やインスリン抵抗性改善（非特許文献 3 7）やマウス g p N M B 特異的ワクチンペプチドによる老化細胞除去による高脂肪食負荷モデルマウスの動脈硬化・インスリン抵抗性改善及び老化促進モデルマウスの生存期間延長が報告されていた（特許文献 1、非特許文献 3 6）。

[0049] 一方で、アルツハイマー病の治療薬を創生することを目的としたマウス・ヒト交差反応性を有する抗 g p N M B 抗体の創製は、g p N M B が非常に多くの糖鎖を付加していることとマウス・ヒト相溶性が 7 0 % 程度と相溶性も低く、複雑な立体構造を有している（非特許文献 5 7）ことから、生体内の立体構造を認識する抗体の取得は非常に難易度が高く、上述のようにこれまで報告が無い。さらに、糖鎖の修飾は発現する細胞や組織によって異なるこ

とから、ミクログリアで発現している g p N M B に対して特異的に作用する抗体取得は非常に困難であることが想定され、ましてや、細胞膜上に発現している g p N M B に結合し、マウス・ヒト交差反応性を有する抗 g p N M B 抗体（中でもヒト化抗体）の創製は、極めて困難であると考えられていた。

[0050] 本発明は上記課題に鑑みてなされたもので、機能異常ミクログリアを特異的に調節する手段、特に抗 g p N M B 抗体（中でもヒト化抗体）を提供すると共に、斯かる手段を用いた新たな作用機序に基づく医薬を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0051] 本発明者等は、アルツハイマー病モデルマウスやタウオパチーモデルマウス、パーキンソン病モデルマウスにおいて、 $A\beta$ 、タウ、又は α シヌクレインを細胞内に蓄積、あるいはこれらを貪食したミクログリアが存在することを見出した。さらに、本発明者らは、こうしたミクログリアのほとんどが、g p N M B 陽性であること、すなわち抗 g p N M B 抗体と抗 I b a 1 抗体による免疫組織染色で二重染色される細胞であることを発見した（図 2 4）。

[0052] また、ラミファイド構造に基づいて変性（機能異常）のレベルをスコア化する方法が報告されていたところ（非特許文献 6 1）、これらのミクログリアは、形態においてラミファイド構造が低減しており、変性したものと評価していた。このほか、老化細胞に観察される Lipofuscin の蓄積も観察されていた。これらのことから、これらのミクログリアは凝集蛋白質を分解できない機能異常ミクログリアあるいは凝集蛋白質を異常に貪食する機能亢進ミクログリアであると考えられた。これら凝集蛋白質を蓄積あるいは貪食した機能異常ミクログリアは、神経保護的作用を失い、神経変性病態を導くとの考えも提示されている（非特許文献 6 2、非特許文献 7）。

[0053] さらに、本発明者らは、こうした機能異常ミクログリアのほとんどが、g p N M B 陽性であること、すなわち抗 g p N M B 抗体と抗 I b a 1 抗体による免疫組織染色で二重染色される細胞であることを発見した。一例として、A P P o s k マウスの脳内の免疫組織学的解析において、細胞内に $A\beta$ を蓄

積した g p N M B 陽性細胞が、抗 g p N M B 抗体と抗 I b a 1 抗体陽性の細胞すなわち g p N M B 高発現ミクログリアであることを発見した。なお、本明細書において「機能異常ミクログリア」とは、抗 g p N M B 抗体及び抗 I b a 1 抗体による免疫組織染色で二重染色される細胞を意味する。

[0054] ここで、「機能異常ミクログリア」が意味するところについては、前述のように研究者間で必ずしも一致はないが、本明細書における「機能異常ミクログリア」とは、次に挙げる特徴のうちの少なくとも一つを有するミクログリアをいう。

- 1) その食食機能及び／又は毒性蛋白質分解機能が低下あるいは異常に亢進している。
- 2) (例えば脳内炎症などの) 病態を進行させる炎症性サイトカインを放出している。
- 3) 正常ミクログリアと比較してラミファイド構造が減少している。

[0055] このうち 1) については、食食の対象となる例えば A β 、タウ、 α シヌクレイン、L i p o f u s c i n、L - F e r r i t i n、T D P 4 3、S O D、ポリグルタミン酸蛋白質などの疾患によって異なるさまざまな凝集蛋白質が知られており、その蓄積あるいは食食がミクログリア内に観察されることから確認できる(非特許文献 6 3、非特許文献 6 4)。具体的には、ミクログリアのマーカーである I b a 1 による染色と同時に、凝集蛋白質に対する抗体(例えば抗 A β 抗体や抗タウ抗体など)での検出、あるいは自家蛍光(L i p o f u s c i n) の検出により同定可能である。また、2) については当該サイトカインの検出(非特許文献 6 5、非特許文献 6 6)により確認でき、3) については免疫組織染色(非特許文献 6 7)や電子顕微鏡(Electron Microscopy)(非特許文献 6 8)による形態観察により確認できる(非特許文献 6 9)。

[0056] 一方、本明細書における「正常ミクログリア」とは、前記した機能異常ミクログリアの特徴がいずれもなく、生体内の恒常性維持に働いているミクログリアをいう。

[0057] 本発明者らは、上記の状況に鑑みて鋭意検討を重ねた結果、g p NMBのP M E L－C A F様ドメインからP K Dドメインにわたる領域の少なくとも1箇所の特異的に結合する抗g p NMB抗体（中でもヒト化抗体）の取得に成功し、斯かる抗体が、機能異常ミクログリアの数の減少、アミロイドβオリゴマー及び／又はリン酸化タウ及び／又はシヌクレインオリゴマーの除去、シナプス数の増加、及び／又は、認知機能や運動機能の低下の抑制又は回復などの予想外の活性を有することを通して、アルツハイマー病やパーキンソン病等の神経変性疾患の治療又は予防等の各種用途に利用できることを見出した。更には当該抗体のように、機能異常ミクログリアの数を減少させる任意の手段を用いることにより、アミロイドβオリゴマー及び／又はリン酸化タウ及び／又はシヌクレインオリゴマーの除去、シナプス数の増加、及び／又は、認知機能及び／又は運動機能の低下の抑制又は回復などの効果を得ることが可能となり、各種の神経変性疾患の治療又は予防という予想外の効果が達成される可能性も見出し、本発明を完成させた。

[0058] 即ち、本発明は以下に関する。

[項1] ヒトg p NMB (glycoprotein nonmetastatic melanoma protein B) のP M E L－C A F様 (PMEL Core Amyloid Fragment-like) ドメインからP K Dドメインにわたる領域の少なくとも1箇所に特異的に結合する、抗g p NMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[項2] 配列番号209のアミノ酸配列を有するヒトg p NMBのD 2 8 7および／またはH 3 0 1のアミノ酸残基を含む領域に特異的に結合する、項1に記載の抗g p NMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[項3] 配列番号209のアミノ酸配列を有するヒトg p NMBのR 2 1 4および／またはR 2 1 5のアミノ酸残基を含む領域に特異的に結合する、項1又は2に記載の抗g p NMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

〔項4〕 配列番号209のアミノ酸配列を有するヒトg p NMBのK257及び／又はD258のアミノ酸残基を含む領域、H268及び／又はD269のアミノ酸残基を含む領域、K282のアミノ酸残基を含む領域、K316のアミノ酸残基を含む領域、K186のアミノ酸残基を含む領域、並びに、H216および／またはR218のアミノ酸残基を含む領域のうち、1又は2以上の領域にも特異的に結合する、項2又は3に記載の抗g p NMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

〔項5〕 前記抗g p NMB抗体が、マウスg p NMBのPMEL-CAF様ドメインからPKDドメインにわたる領域の少なくとも1箇所にも特異的に結合する、項1～4の何れか一項に記載の抗g p NMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

〔項6〕 機能異常ミクログリアの数を減少させる活性、アミロイドβオリゴマー及び／又はリン酸化タウ及び／又はシヌクレインオリゴマーを除去する活性、シナプス数を増加させる活性、及び、認知機能及び／又は運動機能の低下を抑制し、又は回復させる活性から選択される1又は2以上の活性を有する、項1～5の何れか一項に記載の抗g p NMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

〔項7〕 モノクローナル抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体である、項1～6の何れか一項に記載の抗g p NMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

〔項8〕 少なくとも重鎖可変領域を含み、前記重鎖可変領域が、

（1）CDR-H1として、配列番号1に記載のアミノ酸配列、または、配列番号1に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号1に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、CDR-H2として、配列番号3に記載のアミノ酸配列、または、配列番号3に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミ

ノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号3に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号5に記載のアミノ酸配列、または、配列番号5に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号5に記載のアミノ酸配列と66.6%以上、75.0%以上、83.3%以上、もしくは91.6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

(2) CDR-H1として、配列番号17に記載のアミノ酸配列、または、配列番号17に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号17に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号19に記載のアミノ酸配列、または、配列番号19に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号19に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号21に記載のアミノ酸配列、または、配列番号21に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号21に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配

列、あるいは、

(3) CDR-H1として、配列番号33に記載のアミノ酸配列、または、配列番号33に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号33に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号35に記載のアミノ酸配列、または、配列番号35に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号35に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号37に記載のアミノ酸配列、または、配列番号37に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号37に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

(4) CDR-H1として、配列番号49に記載のアミノ酸配列、または、配列番号49に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号49に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号51に記載のアミノ酸配列、または、配列番号51に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所の

アミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号51に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号53に記載のアミノ酸配列、または、配列番号53に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号53に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、68.7%以上、75.0%以上、81.2%以上、87.5%以上、もしくは93.7%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

(5) CDR-H1として、配列番号65に記載のアミノ酸配列、または、配列番号65に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号65に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号67に記載のアミノ酸配列、または、配列番号67に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号67に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号69に記載のアミノ酸配列、または、配列番号69に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、もしくは5か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号69に記載のアミノ酸配列と64.2%以上、71.4%以上、78.5%以上、85.7%以上、もしくは92.8%以上の

相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（６）ＣＤＲ－Ｈ１として、配列番号８１に記載のアミノ酸配列、または、配列番号８１に記載のアミノ酸配列のいずれか１か所、２か所、３か所、もしくは４か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号８１に記載のアミノ酸配列と６０．０％以上、７０．０％以上、８０．０％以上、もしくは９０．０％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

ＣＤＲ－Ｈ２として、配列番号８３に記載のアミノ酸配列、または、配列番号８３に記載のアミノ酸配列のいずれか１か所もしくは２か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号８３に記載のアミノ酸配列と７１．４％以上もしくは８５．７％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

ＣＤＲ－Ｈ３として、配列番号８５に記載のアミノ酸配列、または、配列番号８５に記載のアミノ酸配列のいずれか１か所、２か所、３か所、もしくは４か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号８５に記載のアミノ酸配列と６３．６％以上、７２．７％以上、８１．８％以上、もしくは９０．９％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（７）ＣＤＲ－Ｈ１として、配列番号９７に記載のアミノ酸配列、または、配列番号９７に記載のアミノ酸配列のいずれか１か所、２か所、もしくは３か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号９７に記載のアミノ酸配列と６２．５％以上、７５．０％以上、もしくは８７．５％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

ＣＤＲ－Ｈ２として、配列番号９９に記載のアミノ酸配列、または、配列番号９９に記載のアミノ酸配列のいずれか１か所、２か所、もしくは３か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号９９に記載のアミノ酸配列と６２．５％以上、７５．０％以上、もし

くは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号101に記載のアミノ酸配列、または、配列番号101に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号101に記載のアミノ酸配列と60.0%以上もしくは80.0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（8）CDR-H1として、配列番号113に記載のアミノ酸配列、または、配列番号113に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号113に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、70.0%以上、80.0%以上、もしくは90.0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号115に記載のアミノ酸配列、または、配列番号115に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号115に記載のアミノ酸配列と71.4%以上もしくは85.7%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号117に記載のアミノ酸配列、または、配列番号117に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号117に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（9）CDR-H1として、配列番号129に記載のアミノ酸配列、または、配列番号129に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ

酸配列、または、配列番号 129 に記載のアミノ酸配列と 60.0%以上、70.0%以上、80.0%以上、もしくは 90.0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号 131 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 131 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所もしくは 2 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 131 に記載のアミノ酸配列と 71.4%以上もしくは 85.7%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号 133 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 133 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、4 か所、5 か所、もしくは 6 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 133 に記載のアミノ酸配列と 60.0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは 93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

(10) CDR-H1として、配列番号 145 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 145 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 145 に記載のアミノ酸配列と 62.5%以上、75.0%以上、もしくは 87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号 147 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 147 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 147 に記載のアミノ酸配列と 62.5%以上、75.0%以上、もしくは 87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号 149 に記載のアミノ酸配列、または、配列

番号149に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号149に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

(11) CDR-H1として、配列番号161に記載のアミノ酸配列、または、配列番号161に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号161に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、70.0%以上、80.0%以上、もしくは90.0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号163に記載のアミノ酸配列、または、配列番号163に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号163に記載のアミノ酸配列と71.4%以上もしくは85.7%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号165に記載のアミノ酸配列、または、配列番号165に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号165に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

(12) CDR-H1として、配列番号255に記載のアミノ酸配列、または、配列番号255に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号255に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.

0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号257に記載のアミノ酸配列、または、配列番号257に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号257に記載のアミノ酸配列と71.4%以上もしくは85.7%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号259に記載のアミノ酸配列、または、配列番号259に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号259に記載のアミノ酸配列と66.6%以上もしくは83.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

(13) CDR-H1として、配列番号283に記載のアミノ酸配列、または、配列番号283に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号283に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号285に記載のアミノ酸配列、または、配列番号285に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号285に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H3として、配列番号287に記載のアミノ酸配列、または、配列番号287に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号287に記載のアミノ酸配列と60.

0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（14）CDR-H1として、配列番号311に記載のアミノ酸配列、または、配列番号311に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号311に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、70.0%以上、80.0%以上、もしくは90.0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号313に記載のアミノ酸配列、または、配列番号313に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号313に記載のアミノ酸配列と71.4%以上もしくは85.7%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H3として、配列番号315に記載のアミノ酸配列、または、配列番号315に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号315に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（15）CDRグラフトリング領域-H1として、配列番号271に記載のアミノ酸配列、または、配列番号271に記載のアミノ酸配列のうち、第27位のチロシン、第32位のアスパラギン、及び第33位のトリプトファン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDRグラフトリング領域-H2として、配列番号273に記載のアミノ酸配列、または、配列番号273に記載のアミノ酸配列のうち、第55位のア

スパラギン酸、第57位のフェニルアラニン、第58位のスレオニン、第59位のアスパラギン、第60位のチロシン、及び第61位のアスパラギン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDRグラフティング領域-H3として、配列番号275に記載のアミノ酸配列、または、配列番号275に記載のアミノ酸配列のうち、第98位のアルギニン、第100位のグリシン、及び第109位のグリシン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、あるいは、

(16) CDRグラフティング領域-H1として、配列番号299に記載のアミノ酸配列、または、配列番号299に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDRグラフティング領域-H2として、配列番号301に記載のアミノ酸配列、または、配列番号301に記載のアミノ酸配列のうち、第52位のアスパラギン酸、第54位のトリプトファン、第58位のアスパラギン酸、及び第63位のプロリン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDRグラフティング領域-H3として、配列番号303に記載のアミノ酸配列、または、配列番号303に記載のアミノ酸配列のうち、第99位のアルギニン、第100位のトレオニン、第102位のチロシン、第105位のチロシン、第107位のチロシン、及び第110位のメチオニン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列

を有する、請求項1～7のいずれか一項に記載の抗gpNMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[項9] 少なくとも重鎖可変領域を含み、前記重鎖可変領域が、

- (1) 配列番号13に記載のアミノ酸配列、または、配列番号13に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
- (2) 配列番号29に記載のアミノ酸配列、または、配列番号29に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
- (3) 配列番号45に記載のアミノ酸配列、または、配列番号45に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
- (4) 配列番号61に記載のアミノ酸配列、または、配列番号61に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
- (5) 配列番号77に記載のアミノ酸配列、または、配列番号77に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
- (6) 配列番号93に記載のアミノ酸配列、または、配列番号93に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
- (7) 配列番号109に記載のアミノ酸配列、または、配列番号109に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
- (8) 配列番号125に記載のアミノ酸配列、または、配列番号125に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
- (9) 配列番号141に記載のアミノ酸配列、または、配列番号141に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
- (10) 配列番号157に記載のアミノ酸配列、または、配列番号157に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
- 、
- (11) 配列番号173に記載のアミノ酸配列、または、配列番号173に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
- 、
- (12) 配列番号267に記載のアミノ酸配列、または、配列番号267に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
- 、
- (13) 配列番号295に記載のアミノ酸配列、または、配列番号295に

記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

(14) 配列番号323に記載のアミノ酸配列、または、配列番号323に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有する、項1～7の何れか一項に記載の抗g p NMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[項10] 前記重鎖可変領域が、フレームワーク配列として、ヒト免疫グロブリンの何れかのクラスのフレームワーク配列を含む、項8または9に記載の抗g p NMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[項11] 更に重鎖定常領域を含み、前記重鎖定常領域が、ヒト免疫グロブリンの何れかのクラスの重鎖定常領域のアミノ酸配列を有する、項8～10の何れか一項に記載の抗g p NMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[項12] 少なくとも軽鎖可変領域を含み、前記軽鎖可変領域が、

(1) CDR-L1として、配列番号7に記載のアミノ酸配列、または、配列番号7に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号7に記載のアミノ酸配列と66.6%以上もしくは83.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号9に記載のアミノ酸配列、または、配列番号9に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号9に記載のアミノ酸配列と66.6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号11に記載のアミノ酸配列、または、配列番号11に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配

列番号 11 に記載のアミノ酸配列と 66. 6%以上、77. 7%以上、もしくは 88. 8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（2）CDR-L1として、配列番号23に記載のアミノ酸配列、または、配列番号23に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号23に記載のアミノ酸配列と60. 0%以上もしくは80. 0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号25に記載のアミノ酸配列、または、配列番号25に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号25に記載のアミノ酸配列と66. 6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号27に記載のアミノ酸配列、または、配列番号27に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号27に記載のアミノ酸配列と66. 6%以上、77. 7%以上、もしくは88. 8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（3）CDR-L1として、配列番号39に記載のアミノ酸配列、または、配列番号39に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号39に記載のアミノ酸配列と60. 0%以上もしくは80. 0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号41に記載のアミノ酸配列、または、配列番号41に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号41に記載のアミノ酸配列と66. 6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配

列、および、

C D R－L 3として、配列番号43に記載のアミノ酸配列、または、配列番号43に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号43に記載のアミノ酸配列と66、6%以上、77、7%以上、もしくは88、8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（4）C D R－L 1として、配列番号55に記載のアミノ酸配列、または、配列番号55に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号55に記載のアミノ酸配列と66、6%以上もしくは83、3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

C D R－L 2として、配列番号57に記載のアミノ酸配列、または、配列番号57に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号57に記載のアミノ酸配列と66、6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

C D R－L 3として、配列番号59に記載のアミノ酸配列、または、配列番号59に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号59に記載のアミノ酸配列と66、6%以上、77、7%以上、もしくは88、8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（5）C D R－L 1として、配列番号71に記載のアミノ酸配列、または、配列番号71に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号71に記載のアミノ酸配列と60、0%以上もしくは80、0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号73に記載のアミノ酸配列、または、配列番号73に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号73に記載のアミノ酸配列と66.6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号75に記載のアミノ酸配列、または、配列番号75に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号75に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、70.0%以上、80.0%以上、もしくは90.0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

(6) CDR-L1として、配列番号87に記載のアミノ酸配列、または、配列番号87に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号87に記載のアミノ酸配列と66.6%以上もしくは83.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号89に記載のアミノ酸配列、または、配列番号89に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号89に記載のアミノ酸配列と66.6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号91に記載のアミノ酸配列、または、配列番号91に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号91に記載のアミノ酸配列と66.6%以上、77.7%以上、もしくは88.8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

(7) CDR-L1として、配列番号103に記載のアミノ酸配列、または

、配列番号 103 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所もしくは 2 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 103 に記載のアミノ酸配列と 66.6% 以上もしくは 83.3% 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2 として、配列番号 105 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 105 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 105 に記載のアミノ酸配列と 66.6% 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3 として、配列番号 107 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 107 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 107 に記載のアミノ酸配列と 66.6% 以上、77.7% 以上、もしくは 88.8% 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

(8) CDR-L1 として、配列番号 119 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 119 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 119 に記載のアミノ酸配列と 63.6% 以上、72.7% 以上、81.8% 以上、もしくは 90.9% 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2 として、配列番号 121 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 121 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 121 に記載のアミノ酸配列と 66.6% 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3 として、配列番号 123 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 123 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か

所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 2 3 に記載のアミノ酸配列と 6 6. 6 %以上、7 7. 7 %以上、もしくは 8 8. 8 %以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（9）CDR-L 1 として、配列番号 1 3 5 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 3 5 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 3 5 に記載のアミノ酸配列と 6 3. 6 %以上、7 2. 7 %以上、8 1. 8 %以上、もしくは 9 0. 9 %以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L 2 として、配列番号 1 3 7 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 3 7 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 3 7 に記載のアミノ酸配列と 6 6. 6 %以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L 3 として、配列番号 1 3 9 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 3 9 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 3 9 に記載のアミノ酸配列と 6 6. 6 %以上、7 7. 7 %以上、もしくは 8 8. 8 %以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（10）CDR-L 1 として、配列番号 1 5 1 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 5 1 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 5 1 に記載のアミノ酸配列と 6 0. 0 %以上、7 0. 0 %以上、8 0. 0 %以上、もしくは 9 0. 0 %以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L 2 として、配列番号 1 5 3 に記載のアミノ酸配列、または、配列

番号 1 5 3 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 5 3 に記載のアミノ酸配列と 6 6. 6 % 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

C D R - L 3 として、配列番号 1 5 5 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 5 5 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 5 5 に記載のアミノ酸配列と 6 6. 6 % 以上、7 7. 7 % 以上、もしくは 8 8. 8 % 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

(1 1) C D R - L 1 として、配列番号 1 6 7 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 6 7 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 6 7 に記載のアミノ酸配列と 6 3. 6 % 以上、7 2. 7 % 以上、8 1. 8 % 以上、もしくは 9 0. 9 % 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

C D R - L 2 として、配列番号 1 6 9 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 6 9 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 6 9 に記載のアミノ酸配列と 6 6. 6 % 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

C D R - L 3 として、配列番号 1 7 1 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 7 1 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 7 1 に記載のアミノ酸配列と 6 6. 6 % 以上、7 7. 7 % 以上、もしくは 8 8. 8 % 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

(1 2) C D R - L 1 として、配列番号 2 6 1 に記載のアミノ酸配列、また

は、配列番号 261 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 261 に記載のアミノ酸配列と 63. 6%以上、72. 7%以上、81. 8%以上、もしくは 90. 9%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号 263 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 263 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 263 に記載のアミノ酸配列と 66. 6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号 265 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 265 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 265 に記載のアミノ酸配列と 66. 6%以上、77. 7%以上、もしくは 88. 8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

(13) CDR-L1として、配列番号 289 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 289 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所もしくは 2 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 289 に記載のアミノ酸配列と 60. 0%以上もしくは 80. 0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号 291 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 291 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 291 に記載のアミノ酸配列と 66. 6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号 293 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 293 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か

所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号293に記載のアミノ酸配列と66.6%以上、77.7%以上、もしくは88.8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（14）CDR-L1として、配列番号317に記載のアミノ酸配列、または、配列番号317に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号317に記載のアミノ酸配列と63.6%以上、72.7%以上、81.8%以上、もしくは90.9%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号319に記載のアミノ酸配列、または、配列番号319に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号319に記載のアミノ酸配列と66.6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号321に記載のアミノ酸配列、または、配列番号321に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号321に記載のアミノ酸配列と66.6%以上、77.7%以上、もしくは88.8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（15）CDRグラフトリング領域-L1として、配列番号277に記載のアミノ酸配列、または、配列番号277に記載のアミノ酸配列のうち、第29位のイソロイシン、第31位のチロシン、及び第33位ヒスチジン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDRグラフトリング領域-L2として、配列番号279に記載のアミノ酸配列、または、配列番号279に記載のアミノ酸配列のうち、第50位のス

レオニン以外のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDRグラフティング領域-L3として、配列番号281に記載のアミノ酸配列、または、配列番号281に記載のアミノ酸配列のうち、第88位のヒスチジン、第89位のグルタミン、第90位のトリプトファン、第92位のセリン、第93位のチロシン、第94位のプロリン、及び第95位のシステイン以外のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、あるいは、

(16) CDRグラフティング領域-L1として、配列番号305に記載のアミノ酸配列、または、配列番号305に記載のアミノ酸配列のうち、第31位のロイシン、第37位のチロシン及び第39位のグルタミン酸以外のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDRグラフティング領域-L2として、配列番号307に記載のアミノ酸配列、または、配列番号307に記載のアミノ酸配列のうち、第55位のリジン以外のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDRグラフティング領域-L3として、配列番号309に記載のアミノ酸配列、または、配列番号309に記載のアミノ酸配列のうち、第94位のフェニルアラニン以外のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列

を有する、項1～11のいずれか一項に記載の抗gpNMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[項13] 少なくとも軽鎖可変領域を含み、前記軽鎖可変領域が、

(1) 配列番号15に記載のアミノ酸配列、または、配列番号15に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

(2) 配列番号31に記載のアミノ酸配列、または、配列番号31に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

(3) 配列番号 47 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 47 に記載のアミノ酸配列と 60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

(4) 配列番号 63 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 63 に記載のアミノ酸配列と 60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

(5) 配列番号 79 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 79 に記載のアミノ酸配列と 60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

(6) 配列番号 95 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 95 に記載のアミノ酸配列と 60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

(7) 配列番号 111 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 111 に記載のアミノ酸配列と 60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

(8) 配列番号 127 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 127 に記載のアミノ酸配列と 60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

(9) 配列番号 143 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 143 に記載のアミノ酸配列と 60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

(10) 配列番号 159 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 159 に記載のアミノ酸配列と 60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

、

(11) 配列番号 175 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 175 に記載のアミノ酸配列と 60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

、

(12) 配列番号 269 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 269 に記載のアミノ酸配列と 60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

、

(13) 配列番号 297 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 297 に記載のアミノ酸配列と 60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、

、

(14) 配列番号 325 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 325 に記載のアミノ酸配列と 60%以上の相同性を有するアミノ酸配列

を有する、項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の抗 g p N M B 抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[項 1 4] 前記軽鎖可変領域が、フレームワーク配列として、ヒト免疫グロブリンの何れかのクラスのフレームワーク配列を含む、項 1 2 または 1 3 に記載の抗 g p N M B 抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[項 1 5] 更に軽鎖定常領域を含み、前記軽鎖定常領域が、ヒト免疫グロブリンの何れかのクラスの軽鎖定常領域のアミノ酸配列を有する、項 1 2 ～ 1 4 の何れか一項に記載の抗 g p N M B 抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[項 1 6] F a b、s c F v、D i a b o d y、N a n o b o d y、V H H、二重特異性抗体、もしくは多重特異性抗体、またはそれらの誘導体である、項 1 ～ 1 5 の何れか一項に記載の抗 g p N M B 抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[項 1 7] g p N M B の P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインにわたる領域の少なくとも 1 箇所への結合に対して、項 1 ～ 1 6 の何れか一項に記載の抗 g p N M B 抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体と競合結合する、抗 g p N M B 抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[項 1 8] 項 1 ～ 1 7 の何れか一項に記載の抗 g p N M B 抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体をコードするポリヌクレオチド配列からなる核酸分子。

[項 1 9] 項 1 8 に記載の核酸分子を少なくとも一つ含むクローニングベクターまたは発現ベクター。

[項 2 0] 項 1 9 に記載のベクターが導入された組換え体細胞。

[項 2 1] 項 1 ～ 1 7 の何れか一項に記載の抗 g p N M B 抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体を製造するための方法であって、項 2 0 に記載の組換え体細胞を培養することを含む製造方法。

[項22] 項1～17の何れか一項に記載の抗g p NMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体を製造するための方法であって、配列番号209のアミノ酸配列を有するヒトg p NMBの、
D287および／またはH301のアミノ酸残基を含む領域、
R214および／またはR215のアミノ酸残基を含む領域、
K257および／またはD258のアミノ酸残基を含む領域、
H268および／またはD269のアミノ酸残基を含む領域、
K282のアミノ酸残基を含む領域、
K316のアミノ酸残基を含む領域、
K186のアミノ酸残基を含む領域、並びに
H216および／またはR218のアミノ酸残基を含む領域
から選ばれる1又は2以上の領域と同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを動物に投与し、当該動物の体内で産生された抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体を採取することを含む製造方法。

[項23] 項1～17の何れか一項に記載の抗g p NMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体の産生を促す活性を有するワクチンであって、配列番号209のアミノ酸配列を有するヒトg p NMBのD287および／またはH301のアミノ酸残基を含む領域、および／または、R214および／またはR215のアミノ酸残基を含む領域と同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むワクチン。

[項24] 項1～17の何れか一項に記載の抗g p NMB抗体（例えばヒト化抗体）もしくはその断片またはそれらの誘導体、項18に記載の核酸分子、項19に記載のベクター、および項20に記載の組換え体細胞からなる群より選択される1または2以上を有効成分として含む、医薬組成物。

[項25] 対象の機能異常ミクログリア数の低減、
対象のアミロイド β オリゴマーの除去、
対象のシナプス数の増加、
対象のリン酸化タウの除去、

対象のシヌクレイン及び／又はシヌクレイン凝集体の除去、
対象の認知機能の低下の抑制又は回復、
対象の運動機能の低下の抑制又は回復、および
対象の神経変性疾患の治療又は予防
から選択される１又は２以上の用途のための、項２４に記載の医薬組成物。

〔項２６〕機能異常ミクログリアの数を減少させる活性を有する薬剤を有効成分として含む、

対象のアミロイドβオリゴマーの除去、
対象のシナプス数の増加、
対象のリン酸化タウの除去及び／又はタウの蓄積の抑制、
対象のシヌクレイン及び／又はシヌクレイン凝集体の除去、
対象の認知機能の低下の抑制又は回復、
対象の運動機能の低下の抑制又は回復、および
対象の神経変性疾患の治療又は予防
から選択される１又は２以上の用途のための医薬組成物。

〔項２７〕対象の神経変性疾患を治療又は予防するための、項２４に記載の医薬組成物。

〔項２８〕神経変性疾患がアミロイドβ、タウ、又はシヌクレインの蓄積による疾患である、項２５～２７のいずれかに記載の医薬組成物。

〔項２９〕神経変性疾患が、アルツハイマー病、前頭側頭葉変性症（FTLD-Tau）、前頭側頭型認知症（FTD）、原発性加齢関連タウオパチー（PART）、慢性外傷性脳症（CTE）、ピック病、大脳皮質基底核変性症（CBD又はCBS）、進行性核上性麻痺（PSP）、球状グリア性タウオパチー（GGT）、嗜銀顆粒性認知症（AGD）（嗜銀性顆粒病）、加齢性関連タウアストログリオタウオパチー（ARTAG）、家族性英国認知症（FBD）、家族性デンマーク認知症（FDD）、FTDP17、認知症を伴う多系統タウオパチー（MSTD）、神経原線維変化型認知症、石灰沈着を伴うびまん性神経原線維変化病（DNLC）、球状グリア封入体を伴う白

質タウオパチー（WMT-GGI）、パーキンソン病、ハンチントン病、脊髄小脳変性症、遺伝性脊髄小脳失調症、球脊髄性筋萎縮症、レビー小体型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭葉変性症（FTLD-TDP、FTLD-FUS）、及びリピート病から選択される1又は2以上の疾患である、項25～27のいずれかに記載の医薬組成物。

〔項30〕神経変性疾患がアルツハイマー病である、項29に記載の医薬組成物。

〔項31〕神経変性疾患がパーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症（MSA）、又は筋萎縮性側索硬化症（ALS）である、項29に記載の医薬組成物。

〔項32〕第2の活性成分を更に含む、項30又は31に記載の医薬組成物。

〔項33〕第2の活性成分が、抗Tau抗体、抗アミロイドβ抗体、抗CD33抗体、抗セマフォリン4D抗体、抗TNFα抗体、抗ソルチリン抗体、抗ガラクトース特異的レクチン（ガレクチン）3抗体、および抗TREM2（Triggering receptor expressed on myeloid cells 2）抗体、抗IL-1β抗体、抗CD38抗体、抗MS4A抗体、および抗シヌクレイン抗体から選択される1種または2種以上である、項32に記載の医薬組成物。

〔項34〕第2の活性成分が、Tau、アミロイドβ、CD33、セマフォリン4D、TNFα、ソルチリン、ガラクトース特異的レクチン（ガレクチン）3、およびTREM2（Triggering receptor expressed on myeloid cells 2）から選択される1種または2種以上のタンパク質の全長もしくは部分長のポリペプチドまたはそれをコードする核酸を含むワクチンである、項32に記載の医薬組成物。

[0059] なお、本発明における「医薬」の語は、文脈上の矛盾がない限り、「治療剤」及び「予防剤」の両概念を包含するものと解釈される。

発明の効果

[0060] 本発明の抗 g p NMB 抗体（中でもヒト化抗体）は、g p NMB の P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインにわたる領域の少なくとも 1 箇所 に特異的に結合することにより、対象の機能異常ミクログリアの数の減少、アミロイド β オリゴマー及び／又はリン酸化タウ及び／又はシヌクレインオリゴマーの除去、シナプス数の増加、及び／又は、認知機能や運動機能の低下の抑制又は回復という、極めて予想外の活性を発揮する。更には各種のアルツハイマー病やパーキンソン病を始めとする神経変性疾患などの治療又は予防のための新たな作用機序に基づく医薬が提供される。

図面の簡単な説明

[0061] [図1] 図 1 は、ヒト g p NMB（アイソタイプ a）及びマウス g p NMB のアミノ酸配列のアラインメントを示す図である。図中、P K D ドメインの例として、アミノ酸残基 2 5 6 ~ 3 1 9 位の領域を点線で囲んで示す。P M E L - C A F 様ドメインの例として、アミノ酸 1 7 2 ~ 2 4 6 位の領域を実線で囲んで示す。

[図2] 図 2 は、アルツハイマー病モデルマウス（A P P o s k マウス）における抗 g p NMB 抗体（G P N 0 5 - 1 及び G P N 0 6 - 1）の投与による g p NMB 陽性ミクログリアの低減効果を示す免疫染色写真である。（A）コントロール、（B）G P N 0 5 - 1 投与群、（C）G P N 0 6 - 1 投与群。L：左脳、R：右脳、D G：D e n t a t e G y r u s（歯状回）、C A：c o r n u a m m o n i s s e c t o r s、C A 3：海馬 C A 3 領域、C A 2 3：海馬 C A 2 - C A 3 領域、E n t：E n t o r h i n a l C o r t e x（嗅内皮質）、P P t A：大脳皮質体性感覚野。

[図3] 図 3 は、図 2 の免疫染色写真の統計学的解析結果を示すグラフである。

[図4] 図 4 は、アルツハイマー病モデルマウス（A P P o s k マウス）における抗 g p NMB 抗体（G P N 0 5 - 1 及び G P N 0 6 - 1）の投与による A β オリゴマーの除去効果を示す免疫染色写真である。（A）コントロール、（B）G P N 0 5 - 1 投与群、（C）G P N 0 6 - 1 投与群。

[図5] 図 5 は、アルツハイマー病モデルマウス（A P P o s k マウス）におけ

る抗 g p NMB 抗体 (G P N 0 5 - 1 及び G P N 0 6 - 1) の投与によるシナプスの回復効果を示す染色写真である。(A) コントロール 1 (N o n - T g マウス)、(B) コントロール 2 (A P P o s k マウス)、(C) G P N 0 5 - 1 投与群、(D) G P N 0 6 - 1 投与群。

[図6]図 6 は、アルツハイマー病モデルマウス (A P P o s k マウス) に対する抗体投与後の脳切片の免疫染色写真である。(A) コントロール抗体 1 1 E 1 0、(B) G P N 0 9 - 1 投与群、(C) G P N 1 1 - 1 0 投与群、(D) G P N 1 5 - 2 投与群、(E) G P N 1 5 - 3 投与群、(F) G P N 1 8 - 2 投与群。

[図7]図 7 は、図 6 の免疫染色写真の統計学的解析結果を示すグラフである。

[図8]図 8 は、アルツハイマー病モデルマウス (A P P o s k マウス) における抗 g p NMB 抗体 (G P N 1 8 - 2) の投与によるシナプスの回復効果を示す染色写真である。(A) コントロール (N o n - T g マウス)、(B) G P N 1 8 - 2 投与群。

[図9]図 9 は、アルツハイマー病モデルマウス (A P P o s k マウス) に対する抗体投与後の脳切片の免疫染色写真である。(A) 非投与コントロール群、(B) G P N 1 8 - 1 投与群、(C) G P N 1 8 - 6 投与群、(D) G P N 1 8 - 7 投与群。

[図10]図 1 0 は、図 9 の免疫染色写真の統計学的解析結果を示すグラフである。

[図11]図 1 1 は、アルツハイマー病モデルマウス (A P P o s k マウス) に対する抗体投与後の脳切片の免疫染色写真である。(A) コントロール抗体投与群、(B) G P N 1 8 - 2 投与群、(C) G P N 0 6 - 1 投与群、(D) G P N 1 8 - 5 投与群、(E) 1 - 5 E 投与群。

[図12]図 1 2 は、図 1 1 の免疫染色写真の統計学的解析結果を示すグラフである。

[図13]図 1 3 は、アルツハイマー病モデルマウス (A P P / T a u - T g マウス) における抗 g p NMB 抗体 (G P N 0 6 - 1、G P N 1 8 - 2) の投

与によるモリス水迷路試験（獲得（Acquisition）試験）の結果を示すグラフである。

[図14]図14は、アルツハイマー病モデルマウス（APP／Tau-Tgマウス）における抗gpNMB抗体（GPN06-1、GPN18-2）の投与によるモリス水迷路試験（プローブ（Probe）試験）の結果を示すグラフである。

[図15]図15は、アルツハイマー病モデルマウス（APP／Tau-Tgマウス）における抗gpNMB抗体（GPN18-2）の投与によるモリス水迷路試験（獲得（Acquisition）試験）の結果を示すグラフである。

[図16]図16は、アルツハイマー病モデルマウス（APP／Tau-Tgマウス）における抗gpNMB抗体（GPN18-2）の投与によるモリス水迷路試験（プローブ（Probe）試験）の結果を示すグラフである。

[図17]図17は、アルツハイマー病モデルマウス（APP／Tau-Tgマウス）に対する抗体投与後の脳切片のIba1及びgpNMBの二重免疫染色写真である。（A1）コントロール抗体投与群・海馬、（A2）コントロール抗体投与群・海馬、（B1）抗gpNMB抗体（GPN18-2）投与群・嗅内皮質、（B2）抗gpNMB抗体（GPN18-2）投与群・嗅内皮質。

[図18]図18は、アルツハイマー病モデルマウス（APP／Tau-Tgマウス）に対する抗体投与後の脳切片のAβ及びリン酸化タウの二重免疫染色写真である。（A1）コントロール抗体投与群・海馬、（A2）コントロール抗体投与群・嗅内皮質、（B1）抗gpNMB抗体（GPN18-2）投与群・海馬、（B2）抗gpNMB抗体（GPN18-2）投与群・嗅内皮質。

[図19]図19は、アルツハイマー病モデルマウス（APP／Tau-Tgマウス）に対する抗体投与後の脳切片の免疫染色写真である。（A）コントロール抗体投与群・嗅内皮質、（B）抗gpNMB抗体（GPN18-2）投与群・嗅内皮質。

[図20]図20は、ヒト化変異配列hGPN06-1__VH1～VH5のマウスGPN06-1__VHに対するアラインメントを示す図である。

[図21]図21は、ヒト化変異配列hGPN06-1__VL1～VL5のマウスGPN06-1__VLに対するアラインメントを示す図である。

[図22]図22は、ヒト化変異配列hGPN18-2__VH1～VH5のマウスGPN18-2__VHに対するアラインメントを示す図である。

[図23]図23は、ヒト化変異配列hGPN18-2__VL1～VL5のマウスGPN18-2__VLに対するアラインメントを示す図である。

[図24]図24は、パーキンソン病モデルマウス（A53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス）の海馬及び大脳皮質における蛍光免疫組織染色の写真である。（A）は、抗pS129 α シヌクレイン抗体を用いた染色による写真であり、（B）は、抗gpNMB抗体ポリクローナル抗体と抗pS129 α シヌクレイン抗体の二重染色による写真であり、（C）は、Iba1抗体と抗gpNMB抗体ポリクローナル抗体の二重染色による写真である。

[図25]図25は、パーキンソン病モデルマウス（A53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス）における抗gpNMB抗体（GPN06-1、GPN18-2）の投与によるモリス水迷路試験（Acquisition）の結果を示すグラフである。

[図26]図26は、パーキンソン病モデルマウス（A53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス）における抗gpNMB抗体（GPN06-1、GPN18-2）の投与によるロータロッド試験の結果を示すグラフである。

[図27]図27は、パーキンソン病モデルマウス（A53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス）における抗gpNMB抗体（GPN06-1、GPN18-2）の投与によるインバーテッドスクリーン試験の結果を示すグラフである。

[図28]図28は、パーキンソン病モデルマウス（A53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス）における抗gpNMB抗体（GPN06-1、GPN18-2）投与後の脳切片のIba1及びgpNMB二重免疫染色写真であ

る。

[図29]図29は図28の免疫染色写真の統計学的解析結果を示すグラフである。

[図30]図30は、パーキンソン病モデルマウス（A53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス）における抗gpNMB抗体（GPN06-1、GPN18-2）投与後の脳切片のリン酸化 α シヌクレイン染色写真である。

[図31]図31は図30の免疫染色写真の統計学的解析結果を示すグラフである。

[図32]図32は、パーキンソン病モデルマウス（A53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス）における抗gpNMB抗体（GPN06-1、GPN18-2）投与後の脳切片の α シヌクレインオリゴマー染色写真である。

[図33]図33は図32の免疫染色写真の統計学的解析結果を示すグラフである。

[図34]図34は、パーキンソン病モデルマウス（A53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス）における抗gpNMB抗体（GPN06-1、GPN18-2）投与後の脳切片のシナプトフィジン染色写真である。

[図35]図35は図34の免疫染色写真の統計学的解析結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0062] 以下、本発明を具体的な実施形態に基づき説明するが、本発明はこれらの実施形態に何ら限定されない。なお、本明細書において引用する特許公報、特許出願公開公報、及び非特許公報を含む全ての文献は、あらゆる目的において、その全体が援用により本明細書に組み込まれる。

[0063] 抗gpNMB抗体

本発明の一態様は、gpNMBのPMEL-CAF様（PMEL Core Amyloid Fragment-like）ドメインからPKDドメインにわたる領域の少なくとも1箇所に特異的に結合する、抗gpNMB抗体（以下適宜「本発明の抗gpNMB抗体」又は「本発明の抗体」と略称する場合がある。）に関する。gp

NMBのPMEL-CAF様ドメインからPKDドメインにわたる領域の少なくとも1箇所とは、例えば、配列番号209のアミノ酸配列を有するヒトgpNMBの172から319のアミノ酸残基にわたる領域の少なくとも1箇所という意味である。

[0064] ・抗体：

本発明において「抗体」とは、ジスルフィド結合により相互結合された少なくとも2つの重（H）鎖及び2つの軽（L）鎖を含む糖タンパク質である。重鎖は、重鎖可変領域（VHと略される）及び重鎖定常領域を含み、重鎖定常領域は、3つのドメイン、CH1、CH2及びCH3を含む。軽鎖は、軽鎖可変領域（VLと略される）及び軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、1つのドメイン、CLを含む。軽鎖の定常領域にはλ鎖及びκ鎖と呼ばれる2種類が存在する。重鎖の定常領域にはγ鎖、μ鎖、α鎖、δ鎖及びε鎖が存在し、その重鎖の違いによって、それぞれIgG、IgM、IgA、IgD及びIgEという抗体のアイソタイプが存在する。VH及びVL領域は、更にフレームワーク領域（FR）と称される、より保存されている4つの領域（FR-1、FR-2、FR-3、FR-4）と、相補性決定領域（CDR）と称される可変性の3つの領域（CDR-1、CDR-2、CDR-3）に細分される。VHは、アミノ末端からカルボキシ末端へ、FR-1、CDR-1（CDR-H1）、FR-2、CDR-2（CDR-H2）、FR-3、CDR-3（CDR-H3）、FR-4の順番で配列された3つのCDR及び4つのFRを含む。VLはアミノ末端からカルボキシ末端へ、FR-1、CDR-1（CDR-L1）、FR-2、CDR-2（CDR-L2）、FR-3、CDR-3（CDR-L3）、FR-4の順番で配列された3つのCDR及び4つのFRを含む。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。

[0065] 本発明の抗体は、gpNMBのPMEL-CAF様ドメインからPKDドメインにわたる領域の少なくとも1箇所に特異的に結合する活性を有する限り、抗体の断片（例えば抗原結合フラグメント）及び／又は誘導体であって

もよい。抗体の断片としては、 $F(a b')_2$ 、 $F a b$ 、 $F v$ 等が挙げられる。抗体の誘導体としては、定常領域部分に人工的にアミノ酸変異を導入した抗体、定常領域のドメインの構成を改変した抗体、1分子あたり2つ以上の $F c$ を持つ形の抗体、重鎖のみ又は軽鎖のみで構成される抗体、糖鎖改変抗体、二重特異性抗体、抗体又は抗体の断片化合物や抗体以外のタンパク質と結合させた抗体コンジュゲート、抗体酵素、ナノボディ、タンデム $s c F v$ 、二重特異性タンデム $s c F v$ 、ダイアボディ (Diabody)、 $V H H$ 等が挙げられる。なお、本発明において単に「抗体」という場合には、別途明記しない限り、抗体の断片及び／又は誘導体も含むものとする。

[0066] 本発明の抗体は、モノクローナル抗体でもポリクローナル抗体であってもよいが、モノクローナル抗体であることが好ましい。モノクローナル抗体とは、古典的には単一の抗体産生細胞に由来するクローンから得られた抗体分子をいうが、特定のアミノ酸配列からなる $V H$ と $V L$ の組み合わせを含む単一種類の抗体分子のことをいう。モノクローナル抗体は、その抗体のタンパク質のアミノ酸をコードする遺伝子配列を有する核酸分子を得ることも可能であり、そのような核酸分子を用いて遺伝子工学的に抗体を作製することも可能である。また、 H 鎖、 L 鎖、それらの可変領域や $C D R$ 配列等の遺伝子情報を用いて抗体の結合性や特異性の向上のための改変等を行うことや、マウス等の動物の抗体からヒト型抗体に改変することによって治療剤に用いるために適した構造の抗体を作製することは、この分野での当業者にはよく知られた技術である。また、抗原を感作する動物として、ヒト抗体遺伝子が導入されたトランスジェニック動物を用いることによって、ヒトのモノクローナル抗体を取得することも可能である。それ以外にも、動物への感作を必要としない方法として、ヒト抗体の抗原結合領域又はその一部を発現するファージライブラリー (ヒト抗体ファージディスプレイ) を用いて、対応する抗原と特異的に結合する抗体や特定のアミノ酸配列からなるファージクローンを取得し、その情報からヒト抗体を作製する技術も当業者であれば適宜行うことができる (例えば、Keio J. Med., (2011), 60:37-46のレビュー等を参

照。)。また、ヒト以外の動物に投与する抗体をデザインする場合には、ヒト化の技術と同様に、適宜CDRや可変領域のアミノ酸配列情報を用いて、当業者であればデザインすることが可能である。

[0067] 抗体の特異性とは、抗体がある抗原に対して高い抗原抗体反応を示すことをいう。抗原抗体反応の測定は、当業者であれば固相又は液相の系での結合測定を適宜選択して行うことが可能である。そのような方法としては、酵素結合免疫吸着法 (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA)、酵素免疫測定法 (enzyme immunoassay: EIA)、表面プラズモン共鳴法 (surface plasmon resonance: SPR)、蛍光共鳴エネルギー移動法 (fluorescence resonance energy transfer: FRET)、発光共鳴エネルギー移動法 (luminescence resonance energy transfer: LRET) 等が挙げられるが、それらに限定されるものではない。また、そのような抗原抗体結合を測定する際に、抗体及び／又は抗原を酵素、蛍光物質、発光物質、放射性同位元素等で標識を行い、その標識した物質の物理的及び／又は化学的特性に適した測定方法を用いて抗原抗体反応を検出することも可能である。

[0068] ・ g p NMB の P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインにわたる領域の少なくとも1箇所への特異的結合：

本発明の抗体は、g p NMB の P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインにわたる領域の少なくとも1箇所に特異的に結合する。本発明において「g p NMB」(glycoprotein nonmetastatic melanoma protein B) (別名: Osteoactivin、DC-HIL) は、前述した1回膜貫通型の糖タンパク質である。詳細については前記の各文献 (特に非特許文献20等) を参照のこと。

[0069] ヒト g p NMB (アイソタイプ a) の全長タンパク質のアミノ酸配列を配列番号209に、当該タンパク質をコードする遺伝子の核酸配列を配列番号210にそれぞれ示す。マウス g p NMB の全長タンパク質のアミノ酸配列を配列番号211に、当該タンパク質をコードする遺伝子の核酸配列を配列番号212にそれぞれ示す。ラット g p NMB の全長タンパク質のアミノ酸

配列を配列番号 213 に、当該タンパク質をコードする遺伝子の核酸配列を配列番号 214 にそれぞれ示す。また、ヒト g p NMB（アイソタイプ a）及びマウス g p NMB のアミノ酸配列のアラインメントを図 1 に示す。

[0070] g p NMB の P K D（Polycystic Kidney Disease homology）ドメインは、3つのストランドからなる β シートと4つのストランドから成る β シートとが折り畳まれるように β サンドイッチ構造を形成しているドメインである。多発性嚢胞腎の原因遺伝子であるポリシスチン1（polycystin-1）が有する特徴的な構造であることから、P K Dドメインと命名された（非特許文献26）。一態様によれば、配列番号209に示すヒト g p NMB、及び、配列番号211に示すマウス g p NMBの場合、それぞれアミノ酸残基256～319位の領域が、P K Dドメインに相当する。一態様によれば、P K Dドメインとしてはアミノ酸残基256～316位の領域が好ましく、中でも257～316位の領域が好ましく、とりわけ268～316位の領域が好ましく、更には270～316位の領域が好ましく、更には282～316位の領域が好ましく、特に287～316位の領域が好ましい。一態様によれば、P K Dドメインとしてはアミノ酸残基257～319位の領域が好ましく、とりわけ257～316位の領域が好ましく、更には257～301位の領域が好ましい。一態様によれば、P K Dドメインとしては特にアミノ酸残基287～301位の領域が好ましい。なお、図1中、ヒト g p NMB 及びマウス g p NMB の各々の P K Dドメインの例として、アミノ酸残基256～319位の領域を点線で囲んで示す。

[0071] g p NMB の P M E L－C A F 様（PMEL Core Amyloid Fragment-like）ドメインは、前述のように、同じファミリー蛋白質の P M E L における C A F 領域に相同性がある領域であり、P M E L 蛋白質においては、アミロイド様の凝集体の形成を誘導する領域である（非特許文献71）。g p NMB の P M E L－C A F 様ドメインは近接する P K D 領域に N 型糖鎖結合部位が多く存在することで、凝集形成を防いでいると考えられている（非特許文献70）。一態様によれば、配列番号209に示すヒト g p NMB、及び、配列番

号211に示すマウスgpNMBの場合、それぞれアミノ酸残基172～246位の領域が、PMEL-CAF様ドメインに相当する。中でも、PMEL-CAF様ドメインとしてはアミノ酸残基178～228位の領域が好ましく、更にはアミノ酸残基186～218位の領域が好ましい。なお、図1中、ヒトgpNMB及びマウスgpNMBの各々のPMEL-CAF様ドメインの例として、アミノ酸残基172～246位の領域を実線で囲んで示す。

[0072] 本発明において「gpNMBのPMEL-CAF様ドメインからPKDドメインにわたる領域」とは、上に定義したPMEL-CAF様ドメイン及びPKDドメインに加えて、PMEL-CAF様ドメインとPKDドメインとの間に介在する領域も含む領域を意味する。一態様によれば、配列番号209に示すヒトgpNMB、及び、配列番号211に示すマウスgpNMBの場合、それぞれアミノ酸残基172～319位の領域が、PMEL-CAF様ドメインからPKDドメインにわたる領域に相当する。

[0073] 本発明の抗体は、任意の脊椎動物のgpNMBのPMEL-CAF様ドメインからPKDドメインにわたる領域の少なくとも1箇所に特異的に結合すればよいが、ヒト医薬用途を考慮すると、少なくとも配列番号209に示すヒトgpNMBのPMEL-CAF様ドメインからPKDドメインにわたる領域の少なくとも1箇所に特異的に結合することが好ましい。また、疾患モデルマウスや疾患モデルラットにおける内因性のgpNMBへの効果を評価する観点からは、本発明の抗体は、ヒトgpNMBのPMEL-CAF様ドメインからPKDドメインにわたる領域の少なくとも1箇所に加えて、配列番号211に示すマウスgpNMBのPMEL-CAF様ドメインからPKDドメインにわたる領域の少なくとも1箇所にも特異的に結合することがより好ましい。なお、本発明において抗体がgpNMBに「特異的」に結合するとは、gpNMB以外のタンパク質（例えばアルブミン）に対する結合に対して、gpNMB結合強度が10倍以上、好ましくは100倍以上、より好ましくは1000倍以上であることを意味する。また、前記「PME

「L-C A F様ドメインからP K Dドメインにわたる領域」とはP M E L-C A F様ドメイン、P K Dドメイン、及びP M E L-C A F様ドメインとP K Dドメインの間の領域のことである。

[0074] 本発明の抗体が、ヒトg p N M BのP M E L-C A F様ドメインからP K Dドメインにわたる領域の少なくとも1箇所の特異的に結合する場合、そのエピトープは特に制限されない。但し、本発明の抗体は、P M E L-C A F様ドメインからP K Dドメインの少なくとも1箇所以上に結合することが好ましく、さらに配列番号209に示すヒトg p N M Bの、P K DドメインのK 2 5 7及び／又はD 2 5 8のアミノ酸残基を含む領域、P K DドメインのH 2 6 8及び／又はD 2 6 9のアミノ酸残基を含む領域、P K DドメインのK 2 8 2のアミノ酸残基を含む領域、P K DドメインのD 2 8 7及び／又はH 3 0 1のアミノ酸残基を含む領域、P K DドメインのK 3 1 6のアミノ酸残基を含む領域、P M E L-C A F様ドメインのK 1 8 6のアミノ酸残基を含む領域、P M E L-C A F様ドメインのR 2 1 4及び／又はR 2 1 5のアミノ酸残基を含む領域、並びに、P M E L-C A F様ドメインのH 2 1 6および／またはR 2 1 8のアミノ酸残基を含む領域のうち、1又は2以上の領域に特異的に結合することが好ましい。中でも、本発明の抗体は少なくとも、配列番号209に示すヒトg p N M Bの、D 2 8 7および／またはH 3 0 1のアミノ酸残基を含む領域、並びに、R 2 1 4および／またはR 2 1 5のアミノ酸残基を含む領域のうち、一方又は両方に特異的に結合することが好ましい。或いは、これらの領域に結合するか否かにかかわらず、K 2 5 7及び／又はD 2 5 8のアミノ酸残基を含む領域、H 2 6 8及び／又はD 2 6 9のアミノ酸残基を含む領域、K 2 8 2のアミノ酸残基を含む領域、K 3 1 6のアミノ酸残基を含む領域、K 1 8 6のアミノ酸残基を含む領域、並びに、H 2 1 6および／またはR 2 1 8のアミノ酸残基を含む領域のうち1又は2以上の領域に特異的に結合することも好ましい。

[0075] なお、本発明の抗体が結合するヒトg p N M Bのエピトープは、P M E L-C A F様ドメインからP K Dドメインにわたる領域の少なくとも1箇所を

含むエピトープであれば、ヒト g p NMB の一次構造（配列番号 209 に示すアミノ酸配列）上の連続する領域から構成される線状エピトープであってもよく、一次構造上の離散する二以上の部分領域が立体構造上で構成する立体エピトープであってもよい。線状エピトープを構成する領域、及び、立体エピトープを構成する各部分領域は、P M E L - C A F 様ドメイン、P K D ドメイン、及び P M E L - C A F 様ドメインと P K D ドメインの間の領域のうち、何れか 1 つの領域内に存在するものであってもよく、2 以上の領域に跨がるものであってもよい。また、P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインにわたる領域内のみが存在するものであってもよく、それ以外の領域にも跨がるものであってもよい。また、立体エピトープを構成する複数の部分領域のうち、少なくとも一つの部分領域の一部分又は全体が P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインにわたる領域内に存在するものであれば、他の部分領域は P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインにわたる領域の外に存在していてもよい。

[0076] 本発明の抗体の g p NMB の P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインにわたる領域に対する結合強度は、特に限定されるものではないが、組換え g p NMB を用いた抗原 E L I S A 及び／又は g p NMB 発現細胞を用いた細胞 E L I S A において測定される、g p NMB の P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインに対する 50% 効果濃度（ EC_{50} ）が、通常 $1 \times 10^{-7} M$ 以下、又は $1 \times 10^{-8} M$ 以下、又は $1 \times 10^{-9} M$ 以下であることが好ましい。なお、本明細書において抗体の「50% 効果濃度」（ EC_{50} ）とは、当該抗体が抗原に結合する最大結合親和性の 50% の結合親和性を示す抗体濃度を意味する。組換え g p NMB を用いた抗原 E L I S A 及び／又は g p NMB 発現細胞を用いた細胞 E L I S A による EC_{50} の具体的な測定条件としては、後述の実施例で採用した条件が挙げられる。

[0077] 本発明の抗体は、g p NMB の P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインにわたる領域に加えて更に、その他の領域内の 1 箇所又は 2 箇所以上にも結合するものであってもよい。g p NMB の P M E L - C A F 様ドメイ

ンからPKDドメインにわたる領域以外に本発明の抗体が結合してもよいアミノ酸部位としては、制限されるものではないが、例えば配列番号209に示すヒトgpNMBのE385が挙げられる。

[0078] ・抗体の活性：

一態様によれば、本発明の抗体は、以下に説明する種々の活性を有することが好ましい。

[0079] 本発明の抗体は、ミクログリアに結合する活性を有することが好ましい。中でも、gpNMBは、ストレスを受けて毒性のある蛋白質や不要な蛋白質を分解する機能において機能異常となった機能異常ミクログリアに発現しているとの報告があるところ（非特許文献42）、本発明の抗体は、斯かる機能異常ミクログリアの細胞膜上に発現しているgpNMBのPMEL-CAF様ドメインからPKDドメインにわたる領域の少なくとも1箇所に結合する活性を有することが好ましい。

[0080] また、本発明の抗体は、ミクログリアに対する種々の活性を有することが好ましい。具体的には、本発明の抗体は、以下に挙げる活性のうち少なくとも1又は2以上を有することが好ましい。

（a）機能異常ミクログリアを低減又は除去する活性。

（b）正常ミクログリアによる機能異常ミクログリアの貪食作用を促進する活性、あるいは機能異常ミクログリアの機能異常を正常化する活性。

（c）機能異常ミクログリア周辺の正常ミクログリアの作用を増大させる活性。

[0081] 本発明の抗体による、前記の（a）機能異常ミクログリアの低減・除去活性、（b）正常ミクログリアによる機能異常ミクログリアの貪食作用を促進する活性、あるいは機能異常ミクログリアの機能異常を正常化する活性、及び（c）機能異常ミクログリア周辺の正常ミクログリアの作用の増強活性の関係は不明である。しかし、必ずしも理論に束縛されるものではないが、以下のように推測される。即ち、機能異常ミクログリアに抗gpNMB抗体が結合し、それを認識して貪食活性を有する正常な機能のミクログリアが機能

異常ミクログリアを貪食除去し、除去された空間に正常なミクログリアが増生することで脳内環境の正常化が促進され、神経細胞の毒性蛋白除去やシナプス数回復が誘導される、あるいは、抗 g p N M B 抗体がミクログリアの貪食活性化あるいは増殖を促して、機能異常ミクログリアの貪食が亢進され、脳内環境が改善され、神経細胞の毒性蛋白除去やシナプス数回復が誘導されるものと推測される。

[0082] また、本発明の抗体は、脳内環境又は神経細胞機能を改善又は回復する活性を有することが好ましい。具体的には、本発明の抗体は、以下に挙げる活性のうち 1 又は 2 以上を有することが好ましい。

(x) アミロイド β オリゴマーを除去する活性。

(y) シナプス数を増加させる活性。

(p) リン酸化タウを除去及び／又はタウの蓄積を抑制する活性。

(q) N F T (神経原線維変化) の形成を抑制する活性。

(r) アミロイド β を除去する作用。

(s) シヌクレイン及び／又はシヌクレイン凝集体を除去する作用。

[0083] また、本発明の抗体は、(z) 神経変性疾患を治療又は予防する活性を有することが好ましい。中でも、本発明の抗体は、中枢神経変性疾患を治療又は予防する活性を有することが好ましい。具体的には、本発明の抗体は、以下に挙げる神経変性疾患を治療又は予防する活性を有することが好ましい。

[0084] 本発明の一態様によれば、神経変性疾患に分類される疾患は、アミロイド β 、タウ、シヌクレイン、ポリグルタミン、R A N 翻訳生成タンパク質、及びプリオンから選択される 1 又は 2 以上のタンパク質の蓄積による疾患である。

本発明の一態様によれば、神経変性疾患に分類される疾患は、タウオパチーと、それ以外の神経変性疾患とに分けられる。それぞれ具体例を挙げると、以下の通りである。

[0085] タウオパチー（タウが蓄積して神経変性を起こす疾患）の具体例としては、アルツハイマー病、前頭側頭葉変性症 (F T L D - T a u)、前頭側頭型

認知症（F T D）、原発性加齢関連タウオパチー（P A R T）、慢性外傷性脳症（C T E）、ピック病、大脳皮質基底核変性症（C B D又はC B S）、進行性核上性麻痺（P S P）、球状グリア性タウオパチー（G G T）、嗜銀顆粒性認知症（A G D）（嗜銀性顆粒病）、加齢性関連タウアストログリオタウオパチー（A R T A G）、家族性英国認知症（F B D）、家族性デンマーク認知症（F D D）、F T D P 1 7、認知症を伴う多系統タウオパチー（M S T D）、神経原線維変化型認知症、石灰沈着を伴うびまん性神経原線維変化病（D N T C）、球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー（W M T - G G I）等が挙げられる。

[0086] タウオパチー以外の神経変性疾患の具体例としては、パーキンソン病（ α シヌクレインなどの蓄積）、ハンチントン病（変異型ハンチンチンなどの蓄積）、脊髄小脳変性症（ポリグルタミン酸蛋白質などの蓄積）、遺伝性脊髄小脳失調症（ポリグルタミン酸蛋白質などの蓄積）、球脊髄性筋萎縮症（ポリグルタミン酸蛋白質などの蓄積）、レビー小体型認知症（ α シヌクレインなどの蓄積）、多系統萎縮症（multiple system atrophy: MSA、 α シヌクレインなどの蓄積）、クロイツフェルト・ヤコブ病（C J D）（異常プリオン蛋白質などの蓄積）、筋萎縮性側索硬化症（A L S）（S O D、T D P 4 3、C 9 o r f 7 2、 α シヌクレイン、 γ シヌクレインなどの蓄積）、前頭側頭葉変性症（F T L D - T D P、F T L D - F U S : T D P 4 3やF U Sの蓄積）、及びリピート病等が挙げられる。特に筋萎縮性側索硬化症（A L S）に関しては、モデルマウスにおいて病態進行とともに脊髄中のミクログリアにおけるg p N M Bの発現上昇が報告されていることから（非特許文献85 : Barreto et al., Glia, 2024, Vol.72, No.7, pp.1319-1339）、アルツハイマー病やパーキンソン病と同様に治療効果が期待される。

[0087] 後述の実施例によれば、本発明の一態様に係る抗体を老齢アルツハイマー病（A D）モデルマウスに投与し、その脳切片を免疫組織染色により評価することで、当該抗体の効果を解析した。その結果、本抗体を投与することで、A Dモデルマウスの脳内のg p N M B陽性ミクログリアが低減されること

が明らかとなった。さらに驚くべきことに、ADモデルマウス脳内のアミロイド β の中でも最も毒性が強いとされるA β オリゴマーが神経細胞から除去されていることが明らかとなった。さらに驚くべきことは、本発明の抗体の投与によってADモデルマウスの脳内の神経細胞のシナプス数が正常のレベルまで回復していることが確認されたことであった。さらに驚くべきことは、発明者らが新規に構築したADモデルマウス（APP／Tau-Tgマウス）を使用したモリス水迷路試験において認知機能を回復させることが示されたことであった。さらに、本発明の一態様に係る抗体をADモデルマウス（APP／Tau-Tgマウス）に投与し、病理解析により評価することで、当該抗体の効果を解析した。その結果、本抗体を投与することで、神経細胞内のリン酸化タウ及びアミロイド β が除去されることが明らかとなった。さらに驚くべきことに、NFT（神経原線維変化）形成が抑制されていることが明らかとなった。

[0088] また、後述の実施例によれば、本発明の一態様に係る抗体をパーキンソン病（PD）モデルマウス（A53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス）に投与し、認知機能および運動機能に対する試験を行うことで、当該抗体の効果を解析した。認知機能に関しては、モリス水迷路試験により評価を行った。その結果、驚くべきことに、本発明の抗体を1週間に1回、合計で僅か5回投与することで、モリス水迷路試験において認知機能を回復させることが示された。さらに運動機能に関して、ロータロッド試験およびインバーテッドスクリーン試験を行った。その結果、さらに驚くべきことに、本発明の抗体を1週間に1回、合計で僅か5回投与することで、運動機能障害を抑制させる効果が示された。

[0089] また、上記の本発明の一態様に係る抗体を投与したパーキンソン病（PD）モデルマウス（A53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス）の脳を病理解析により評価することで、当該抗体の効果を解析した。その結果、本抗体を投与することで、PDモデルマウスの脳内のgpNMB陽性ミクログリアが低減されることが明らかとなった。さらに驚くべきことに、PDモデル

マウス脳内の α シヌクレイン (α S y n) の中でも最も毒性が強いとされる α S y nオリゴマーが神経細胞から除去されていることが明らかとなった。さらに、本発明の抗体の投与によってP Dモデルマウスの脳内の神経細胞のシナプス数が正常のレベルまで回復していることが確認された。

[0090] 以上のように複数の神経変性疾患モデルマウスにおいて、病態進行とともに毒性蛋白質が蓄積したミクログリアが出現し、そのミクログリアはg p N M B発現が亢進しており、本発明の抗体を投与することによって、神経変性疾患病態および症状の進行抑制或いは回復が認められることを示した。これらのことから病態関与ミクログリアを除去しうる本発明の抗体は、毒性物質を蓄積して機能異常となったミクログリアを除去することで、アルツハイマー病、パーキンソン病、A L Sなどをはじめとする様々な神経変性疾患において治療効果を発揮することが大いに期待される。

[0091] なお、本発明の抗体が有する前述の各種の活性は、生体内 (in vivo) で発揮されるものであってもよく、生体外 (ex vivo) で発揮されるものであってもよく、生体内 (in vivo) 及び生体外 (ex vivo) で発揮されるものであってもよい。また、生体内 (in vivo) 及び生体外 (ex vivo) の何れについても、任意の対象で発揮されるものであればよいが、少なくとも脊椎動物で発揮されるものであることが好ましく、少なくとも哺乳動物で発揮されるものであることが好ましく、特にヒト又は非ヒト動物で発揮されるものであることが好ましい。

[0092] ・抗体各鎖各領域のアミノ酸配列及び核酸配列：

本発明の抗体は、前述するg p N M BのP M E L - C A F様ドメインからP K Dドメインにわたる領域の少なくとも1箇所への特異的結合活性を備えている限り、そのアミノ酸配列は特に限定されない。但し、本発明の抗体は、各C D R配列として、特定のアミノ酸配列を有することが好ましい。具体的には以下のとおりである。なお、本明細書において、アミノ酸配列の「同一性」 (identity) とは、一致するアミノ酸残基の割合を意味し、「相同性」 (similarity) とは、一致又は類似するアミノ酸残基の割合を意味する。

アミノ酸配列の相同性及び同一性は、例えばBLAST法（NCBIのPBLASTのデフォルト条件）により決定することができる。また、例えば「80%以上の相同性」と表現するときには、「80%以上の同一性」の場合を含んでいることは明らかである。

[0093] ここで「類似するアミノ酸残基」とは、同様の化学的特質（例えば、電荷又は疎水性）を持つ側鎖を有するアミノ酸残基を意味する。類似するアミノ酸残基としては、例えば以下の組合せが挙げられる。

（１）脂肪族側鎖を有するアミノ酸残基：グリシン（Gly又はG）、アラニン（Ala又はA）、バリン（Val又はV）、ロイシン（Leu又はL）、及びイソロイシン（Ile又はI）残基。

（２）脂肪族ヒドロキシル側鎖を有するアミノ酸残基：セリン（Ser又はS）及びトレオニン（Thr又はT）残基。

（３）アミド含有側鎖を有するアミノ酸残基：アスパラギン（Asn又はN）及びグルタミン（Gln又はQ）残基。

（４）芳香族側鎖を有するアミノ酸残基：フェニルアラニン（Phe又はF）、チロシン（Tyr又はY）、及びトリプトファン（Trp又はW）残基。

（５）塩基性側鎖を有するアミノ酸残基：リジン（LysまたK）、アルギニン（Arg又はR）及びヒスチジン（His又はH）残基。

（６）酸性側鎖を有するアミノ酸残基：アスパラギン酸（Asp又はD）及びグルタミン酸（Glu又はE）残基。

（７）硫黄含有側鎖を有するアミノ酸残基：システイン（Cys又はC）、及びメチオニン（Met又はM）残基。

さらに、（１）とメチオニン（Met又はM）の組み合わせ、及び、（４）とヒスチジン（His又はH）残基の組み合わせも、類似するアミノ酸残基として扱われる。

[0094] また、生殖系列（Germline）の配列を参考に該当する変異体が存在する場合には類似性に関わらず置換をすることが可能な場合がある。生殖系列を参

考にした変異体には置換、欠失又は付加が含まれる。置換に関しては、プロリン（Pro又はP）やグリシン（Gly又はG）といった側鎖の方向に影響を及ぼすことが推定されるアミノ酸にも置換可能である場合が含まれる。

[0095] 本発明の抗体の一つの態様としては、以下の（１）～（１４）のCDR-H1～H3配列を有する重鎖可変領域を含む抗体が挙げられる。なお、本明細書において「CDRグラフティング領域」とは、本明細書で定義するCDRのアミノ酸配列と同一又は重複するアミノ酸配列を有する抗体のアミノ酸配列の領域であって、CDRと同様に抗原と接して抗原特異性を決定する、抗原との結合に重要な抗体のアミノ酸配列の領域を意味する。

[0096] （１）CDR-H1として、配列番号１に記載のアミノ酸配列、または、配列番号１に記載のアミノ酸配列のいずれか１か所、２か所、もしくは３か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号１に記載のアミノ酸配列と６２．５％以上、７５．０％以上、もしくは８７．５％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、CDR-H2として、配列番号３に記載のアミノ酸配列、または、配列番号３に記載のアミノ酸配列のいずれか１か所、２か所、もしくは３か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号３に記載のアミノ酸配列と６２．５％以上、７５．０％以上、もしくは８７．５％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、
CDR-H3として、配列番号５に記載のアミノ酸配列、または、配列番号５に記載のアミノ酸配列のいずれか１か所、２か所、３か所、もしくは４か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号５に記載のアミノ酸配列と６６．６％以上、７５．０％以上、８３．３％以上、もしくは９１．６％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0097] （２）CDR-H1として、配列番号１７に記載のアミノ酸配列、または、配列番号１７に記載のアミノ酸配列のいずれか１か所、２か所、もしくは３

か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 17 に記載のアミノ酸配列と 62.5%以上、75.0%以上、もしくは 87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号 19 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 19 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 19 に記載のアミノ酸配列と 62.5%以上、75.0%以上、もしくは 87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号 21 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 21 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、4 か所、5 か所、もしくは 6 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 21 に記載のアミノ酸配列と 60.0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは 93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0098] (3) CDR-H1として、配列番号 33 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 33 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 33 に記載のアミノ酸配列と 62.5%以上、75.0%以上、もしくは 87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号 35 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 35 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 35 に記載のアミノ酸配列と 62.5%以上、75.0%以上、もしくは 87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

および、

CDR-H3として、配列番号37に記載のアミノ酸配列、または、配列番号37に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号37に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0099] (4) CDR-H1として、配列番号49に記載のアミノ酸配列、または、配列番号49に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号49に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号51に記載のアミノ酸配列、または、配列番号51に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号51に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、
および、

CDR-H3として、配列番号53に記載のアミノ酸配列、または、配列番号53に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号53に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、68.7%以上、75.0%以上、81.2%以上、87.5%以上、もしくは93.7%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0100] (5) CDR-H1として、配列番号65に記載のアミノ酸配列、または、

配列番号 65 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 65 に記載のアミノ酸配列と 62、5%以上、75、0%以上、もしくは 87、5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2 として、配列番号 67 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 67 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 67 に記載のアミノ酸配列と 62、5%以上、75、0%以上、もしくは 87、5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3 として、配列番号 69 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 69 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、4 か所、もしくは 5 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 69 に記載のアミノ酸配列と 64、2%以上、71、4%以上、78、5%以上、85、7%以上、もしくは 92、8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0101] (6) CDR-H1 として、配列番号 81 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 81 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 81 に記載のアミノ酸配列と 60、0%以上、70、0%以上、80、0%以上、もしくは 90、0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2 として、配列番号 83 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 83 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所もしくは 2 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 83 に記載のアミノ酸配列と 71、4%以上もしくは 85、7%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

C D R－H 3として、配列番号 8 5 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 8 5 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 8 5 に記載のアミノ酸配列と 6 3. 6 %以上、7 2. 7 %以上、8 1. 8 %以上、もしくは 9 0. 9 %以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0102] (7) C D R－H 1として、配列番号 9 7 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 9 7 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 9 7 に記載のアミノ酸配列と 6 2. 5 %以上、7 5. 0 %以上、もしくは 8 7. 5 %以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

C D R－H 2として、配列番号 9 9 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 9 9 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 9 9 に記載のアミノ酸配列と 6 2. 5 %以上、7 5. 0 %以上、もしくは 8 7. 5 %以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

C D R－H 3として、配列番号 1 0 1 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 0 1 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所もしくは 2 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 0 1 に記載のアミノ酸配列と 6 0. 0 %以上もしくは 8 0. 0 %以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0103] (8) C D R－H 1として、配列番号 1 1 3 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 1 3 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 1 3 に記載のアミノ酸配列と 6 0. 0 %以上、7 0. 0 %以上、8 0. 0 %以上、もしくは 9 0. 0 %以上の相同性（好ま

しくは同一性)を有するアミノ酸配列、

C D R-H 2として、配列番号115に記載のアミノ酸配列、または、配列番号115に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号115に記載のアミノ酸配列と71、4%以上もしくは85、7%以上の相同性(好ましくは同一性)を有するアミノ酸配列、および、

C D R-H 3として、配列番号117に記載のアミノ酸配列、または、配列番号117に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号117に記載のアミノ酸配列と60、0%以上、66、6%以上、73、3%以上、80、0%以上、86、6%以上、もしくは93、3%以上の相同性(好ましくは同一性)を有するアミノ酸配列。

[0104] (9) C D R-H 1として、配列番号129に記載のアミノ酸配列、または、配列番号129に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号129に記載のアミノ酸配列と60、0%以上、70、0%以上、80、0%以上、もしくは90、0%以上の相同性(好ましくは同一性)を有するアミノ酸配列、

C D R-H 2として、配列番号131に記載のアミノ酸配列、または、配列番号131に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号131に記載のアミノ酸配列と71、4%以上もしくは85、7%以上の相同性(好ましくは同一性)を有するアミノ酸配列、および、

C D R-H 3として、配列番号133に記載のアミノ酸配列、または、配列番号133に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号133に記載のアミノ酸配列と60、

0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0105] (10) CDR-H1として、配列番号145に記載のアミノ酸配列、または、配列番号145に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号145に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号147に記載のアミノ酸配列、または、配列番号147に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号147に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号149に記載のアミノ酸配列、または、配列番号149に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号149に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0106] (11) CDR-H1として、配列番号161に記載のアミノ酸配列、または、配列番号161に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号161に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、70.0%以上、80.0%以上、もしくは90.0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号163に記載のアミノ酸配列、または、配列番号163に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号163に記載のアミノ酸配列と71.4%以上もしくは85.7%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号165に記載のアミノ酸配列、または、配列番号165に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号165に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0107] (12) CDR-H1として、配列番号255に記載のアミノ酸配列、または、配列番号255に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号255に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号257に記載のアミノ酸配列、または、配列番号257に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号257に記載のアミノ酸配列と71.4%以上もしくは85.7%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-H3として、配列番号259に記載のアミノ酸配列、または、配列番号259に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号259に記載のアミノ酸配列と66.6%以上もしくは83.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0108] (13) CDR-H1として、配列番号283に記載のアミノ酸配列、または、配列番号283に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号283に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号285に記載のアミノ酸配列、または、配列番号285に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号285に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H3として、配列番号287に記載のアミノ酸配列、または、配列番号287に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号287に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0109] (14) CDR-H1として、配列番号311に記載のアミノ酸配列、または、配列番号311に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号311に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、70.0%以上、80.0%以上、もしくは90.0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2として、配列番号313に記載のアミノ酸配列、または、配列番号313に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号

313に記載のアミノ酸配列と71、4%以上もしくは85、7%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H3として、配列番号315に記載のアミノ酸配列、または、配列番号315に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号315に記載のアミノ酸配列と60、0%以上、66、6%以上、73、3%以上、80、0%以上、86、6%以上、もしくは93、3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0110] なお、後述の実施例17に示すように、本発明者等は、ヒト化抗gpNMB抗体H1L1（クローンhGPNO6-1__H1L1）について、その結合維持における各CDRグラフティング領域配列の各アミノ酸残基の重要性を、アラニンスキャニングによって検討した。その結果、ヒト化抗gpNMB抗体hGPNO6-1__H1L1の重鎖可変領域（配列番号295）の、CDRグラフティング領域-H1（配列番号271）における第27位のチロシン、第32位のアスパラギン、及び第33位のトリプトファン；CDRグラフティング領域-H2（配列番号273）における第55位のアスパラギン酸、第57位のフェニルアラニン、第58位のスレオニン、第59位のアスパラギン、第60位のチロシン、及び第61位のアスパラギン；CDRグラフティング領域-H3（配列番号275）における第98位のアルギニン、第100位のグリシン、及び第109位のグリシンが、結合維持に重要であることが同定された。一方、上記以外の各CDRグラフティング領域配列のアミノ酸残基については、その結合維持にほとんど影響がないことが同定された。これらの知見から、本発明の抗体の一つの態様として、以下の（15）のCDRグラフティング領域-H1～H3配列を有する重鎖可変領域を含む抗体も挙げられる（なお、以下のアミノ酸位置は、ヒト化抗gpNMB抗体hGPNO6-1__H1L1の重鎖可変領域のアミノ酸配列（配列番号295）を基準として示す。）。

- [0111] (15) CDR グラフティング領域－H1として、配列番号271に記載のアミノ酸配列、または、配列番号271に記載のアミノ酸配列のうち、第27位のチロシン、第32位のアスパラギン、及び第33位のトリプトファン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、
- CDR グラフティング領域－H2として、配列番号273に記載のアミノ酸配列、または、配列番号273に記載のアミノ酸配列のうち、第55位のアスパラギン酸、第57位のフェニルアラニン、第58位のスレオニン、第59位のアスパラギン、第60位のチロシン、及び第61位のアスパラギン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、
- CDR グラフティング領域－H3として、配列番号275に記載のアミノ酸配列、または、配列番号275に記載のアミノ酸配列のうち、第98位のアルギニン、第100位のグリシン、及び第109位のグリシン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列。
- [0112] また、後述の実施例21に示すように、本発明者等は、ヒト化抗gpNMB抗体H2L3（クローンhGPN18-2__H2L3）について、その結合維持における各CDR グラフティング領域配列の各アミノ酸残基の重要性を、アラニンスキニングによって検討した。その結果、ヒト化抗gpNMB抗体H2L3の重鎖可変領域（配列番号323）の、CDR グラフティング領域－H2（配列番号301）における第52位のアスパラギン酸、第54位のトリプトファン、第58位のアスパラギン酸、及び第63位のプロリン；CDR グラフティング領域－H3（配列番号303）における第99位のアルギニン、第100位のトレオニン、第102位のチロシン、第105位のチロシン、第107位のチロシン、及び第110位のメチオニンが、結合維持に重要であることが同定された。一方、上記以外の各CDR グラフティング領域配列のアミノ酸残基については、その結合維持にほとんど影響が

ないことが同定された。これらの知見から、本発明の抗体の一つの態様として、以下の（１６）のＣＤＲグラフティング領域－Ｈ１～Ｈ３配列を有する軽鎖可変領域を含む抗体も挙げられる（なお、以下のアミノ酸位置は、ヒト化抗ｇｐＮＭＢ抗体Ｈ２Ｌ３の重鎖可変領域のアミノ酸配列（配列番号３２３）を基準として示す。）。

[0113] （１６）ＣＤＲグラフティング領域－Ｈ１として、配列番号２９９に記載のアミノ酸配列、または、配列番号２９９に記載のアミノ酸配列のいずれか１か所、２か所、３か所、もしくは４か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

ＣＤＲグラフティング領域－Ｈ２として、配列番号３０１に記載のアミノ酸配列、または、配列番号３０１に記載のアミノ酸配列のうち、第５２位のアスパラギン酸、第５４位のトリプトファン、第５８位のアスパラギン酸、及び第６３位のプロリン以外のいずれか１か所、２か所、３か所、４か所、５か所、もしくは６か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

ＣＤＲグラフティング領域－Ｈ３として、配列番号３０３に記載のアミノ酸配列、または、配列番号３０３に記載のアミノ酸配列のうち、第９９位のアルギニン、第１００位のトレオニン、第１０２位のチロシン、第１０５位のチロシン、第１０７位のチロシン、及び第１１０位のメチオニン以外のいずれか１か所、２か所、３か所、４か所、５か所、もしくは６か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列。

[0114] 本発明の抗体の一つの態様としては、以下の（１）～（１４）のＣＤＲ－Ｌ１～Ｌ３配列を有する軽鎖可変領域を含む抗体が挙げられる。

[0115] （１）ＣＤＲ－Ｌ１として、配列番号７に記載のアミノ酸配列、または、配列番号７に記載のアミノ酸配列のいずれか１か所もしくは２か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号７に記載のアミノ酸配列と６６．６％以上もしくは８３．３％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号9に記載のアミノ酸配列、または、配列番号9に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号9に記載のアミノ酸配列と66.6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号11に記載のアミノ酸配列、または、配列番号11に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号11に記載のアミノ酸配列と66.6%以上、77.7%以上、もしくは88.8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0116] (2) CDR-L1として、配列番号23に記載のアミノ酸配列、または、配列番号23に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号23に記載のアミノ酸配列と60.0%以上もしくは80.0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号25に記載のアミノ酸配列、または、配列番号25に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号25に記載のアミノ酸配列と66.6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号27に記載のアミノ酸配列、または、配列番号27に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号27に記載のアミノ酸配列と66.6%以上、77.7%以上、もしくは88.8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0117] (3) CDR-L1として、配列番号39に記載のアミノ酸配列、または、配列番号39に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番

号39に記載のアミノ酸配列と60.0%以上もしくは80.0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号41に記載のアミノ酸配列、または、配列番号41に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号41に記載のアミノ酸配列と66.6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号43に記載のアミノ酸配列、または、配列番号43に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号43に記載のアミノ酸配列と66.6%以上、77.7%以上、もしくは88.8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0118] (4) CDR-L1として、配列番号55に記載のアミノ酸配列、または、配列番号55に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号55に記載のアミノ酸配列と66.6%以上もしくは83.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号57に記載のアミノ酸配列、または、配列番号57に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号57に記載のアミノ酸配列と66.6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号59に記載のアミノ酸配列、または、配列番号59に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号59に記載のアミノ酸配列と66.6%以上、77.7%以上、もしくは88.8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0119] (5) CDR-L1として、配列番号71に記載のアミノ酸配列、または、

配列番号 71 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所もしくは 2 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 71 に記載のアミノ酸配列と 60.0% 以上もしくは 80.0% 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2 として、配列番号 73 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 73 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 73 に記載のアミノ酸配列と 66.6% 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3 として、配列番号 75 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 75 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 75 に記載のアミノ酸配列と 60.0% 以上、70.0% 以上、80.0% 以上、もしくは 90.0% 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0120] (6) CDR-L1 として、配列番号 87 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 87 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所もしくは 2 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 87 に記載のアミノ酸配列と 66.6% 以上もしくは 83.3% 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2 として、配列番号 89 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 89 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 89 に記載のアミノ酸配列と 66.6% 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3 として、配列番号 91 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 91 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配

列番号 91 に記載のアミノ酸配列と 66. 6%以上、77. 7%以上、もしくは 88. 8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

- [0121] (7) CDR-L1として、配列番号 103 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 103 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所もしくは 2 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 103 に記載のアミノ酸配列と 66. 6%以上もしくは 83. 3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、
- CDR-L2として、配列番号 105 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 105 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 105 に記載のアミノ酸配列と 66. 6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、
- CDR-L3として、配列番号 107 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 107 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 107 に記載のアミノ酸配列と 66. 6%以上、77. 7%以上、もしくは 88. 8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

- [0122] (8) CDR-L1として、配列番号 119 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 119 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 119 に記載のアミノ酸配列と 63. 6%以上、72. 7%以上、81. 8%以上、もしくは 90. 9%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、
- CDR-L2として、配列番号 121 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 121 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 121 に記載のアミノ酸配列と 66. 6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミ

ノ酸配列、および、

C D R - L 3として、配列番号 1 2 3 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 2 3 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 2 3 に記載のアミノ酸配列と 6 6. 6 %以上、7 7. 7 %以上、もしくは 8 8. 8 %以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0123] (9) C D R - L 1として、配列番号 1 3 5 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 3 5 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 3 5 に記載のアミノ酸配列と 6 3. 6 %以上、7 2. 7 %以上、8 1. 8 %以上、もしくは 9 0. 9 %以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

C D R - L 2として、配列番号 1 3 7 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 3 7 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 3 7 に記載のアミノ酸配列と 6 6. 6 %以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

C D R - L 3として、配列番号 1 3 9 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 3 9 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 3 9 に記載のアミノ酸配列と 6 6. 6 %以上、7 7. 7 %以上、もしくは 8 8. 8 %以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0124] (10) C D R - L 1として、配列番号 1 5 1 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 1 5 1 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 1 5 1 に記載のアミノ酸配列と 6 0. 0 %以上

、70.0%以上、80.0%以上、もしくは90.0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号153に記載のアミノ酸配列、または、配列番号153に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号153に記載のアミノ酸配列と66.6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号155に記載のアミノ酸配列、または、配列番号155に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号155に記載のアミノ酸配列と66.6%以上、77.7%以上、もしくは88.8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0125] (11) CDR-L1として、配列番号167に記載のアミノ酸配列、または、配列番号167に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号167に記載のアミノ酸配列と63.6%以上、72.7%以上、81.8%以上、もしくは90.9%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号169に記載のアミノ酸配列、または、配列番号169に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号169に記載のアミノ酸配列と66.6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号171に記載のアミノ酸配列、または、配列番号171に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号171に記載のアミノ酸配列と66.6%以上、77.7%以上

、もしくは88．8％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0126] (12) CDR-L1として、配列番号261に記載のアミノ酸配列、または、配列番号261に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号261に記載のアミノ酸配列と63．6％以上、72．7％以上、81．8％以上、もしくは90．9％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号263に記載のアミノ酸配列、または、配列番号263に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号263に記載のアミノ酸配列と66．6％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

CDR-L3として、配列番号265に記載のアミノ酸配列、または、配列番号265に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号265に記載のアミノ酸配列と66．6％以上、77．7％以上、もしくは88．8％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0127] (13) CDR-L1として、配列番号289に記載のアミノ酸配列、または、配列番号289に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号289に記載のアミノ酸配列と60．0％以上もしくは80．0％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-L2として、配列番号291に記載のアミノ酸配列、または、配列番号291に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号291に記載のアミノ酸配列と66．6％以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミ

ノ酸配列、および、

C D R - L 3として、配列番号293に記載のアミノ酸配列、または、配列番号293に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号293に記載のアミノ酸配列と66.6%以上、77.7%以上、もしくは88.8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0128] (14) C D R - L 1として、配列番号317に記載のアミノ酸配列、または、配列番号317に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号317に記載のアミノ酸配列と63.6%以上、72.7%以上、81.8%以上、もしくは90.9%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

C D R - L 2として、配列番号319に記載のアミノ酸配列、または、配列番号319に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号319に記載のアミノ酸配列と66.6%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、および、

C D R - L 3として、配列番号321に記載のアミノ酸配列、または、配列番号321に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号321に記載のアミノ酸配列と66.6%以上、77.7%以上、もしくは88.8%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0129] なお、後述の実施例17に示すように、本発明者等は、ヒト化抗gpNMB抗体H1L1（クローンhGPN06-1__H1L1）について、その結合維持における各CDRグラフティング領域配列の各アミノ酸残基の重要性を、アラニンスキャニングによって検討した。その結果、hGPN06-1

__H1L1の軽鎖可変領域（配列番号297）の、CDRグラフティング領域-L1（配列番号277）における第29位のイソロイシン、第31位のチロシン及び第33位ヒスチジン；CDRグラフティング領域-L2（配列番号279）における第50位のスレオニン；CDRグラフティング領域-L3（配列番号281）における第88位のヒスチジン、第89位のグルタミン、第90位のトリプトファン、第92位のセリン、第93位のチロシン、第94位のプロリン、及び第95位のシステインが、結合維持に重要であることが同定された。一方、上記以外の各CDRグラフティング領域配列のアミノ酸残基については、その結合維持にほとんど影響がないことが同定された。これらの知見から、本発明の抗体の一つの態様として、以下の（15）のCDRグラフティング領域-L1～L3配列を有する軽鎖可変領域を含む抗体も挙げられる（なお、以下のアミノ酸位置は、ヒト化抗gpNMB抗体H1L1の軽鎖可変領域のアミノ酸配列（配列番号297）を基準として示す。）。

- [0130] （15）CDRグラフティング領域-L1として、配列番号277に記載のアミノ酸配列、または、配列番号277に記載のアミノ酸配列のうち、第29位のイソロイシン、第31位のチロシン、及び第33位ヒスチジン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、
- CDRグラフティング領域-L2として、配列番号279に記載のアミノ酸配列、または、配列番号279に記載のアミノ酸配列のうち、第50位のスレオニン以外のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、
- CDRグラフティング領域-L3として、配列番号281に記載のアミノ酸配列、または、配列番号281に記載のアミノ酸配列のうち、第88位のヒスチジン、第89位のグルタミン、第90位のトリプトファン、第92位のセリン、第93位のチロシン、第94位のプロリン、及び第95位のシステイン以外のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換

、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列。

[0131] また、後述の実施例 2 1 に示すように、本発明者等は、ヒト化抗 g p N M B 抗体 H 2 L 3 (クローン h G P N 1 8 - 2 _ H 2 L 3) について、その結合維持における各 C D R グラフティング領域配列の各アミノ酸残基の重要性を、アラニンスキャニングによって検討した。その結果、ヒト化抗 g p N M B 抗体 H 2 L 3 の軽鎖可変領域 (配列番号 3 2 5) の、C D R グラフティング領域 - L 1 (配列番号 3 0 5) における第 3 1 位のロイシン及び第 3 7 位のチロシン ; C D R グラフティング領域 - L 2 (配列番号 3 0 7) における第 5 5 位のリジン ; C D R グラフティング領域 - L 3 (配列番号 3 0 9) における第 9 4 位のフェニルアラニンが、結合維持に重要であることが同定された。一方、上記以外の各 C D R グラフティング領域配列のアミノ酸残基については、その結合維持にほとんど影響がないことが同定された。これらの知見から、本発明の抗体の一つの態様として、以下の (1 6) の C D R グラフティング領域 - L 1 ~ L 3 配列を有する軽鎖可変領域を含む抗体も挙げられる (なお、以下のアミノ酸位置は、ヒト化抗 g p N M B 抗体 H 2 L 3 の軽鎖可変領域のアミノ酸配列 (配列番号 3 2 5) を基準として示す。) 。

[0132] (1 6) C D R グラフティング領域 - L 1 として、配列番号 3 0 5 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 3 0 5 に記載のアミノ酸配列のうち、第 3 1 位のロイシン、第 3 7 位のチロシン及び第 3 9 位のグルタミン酸以外のいずれか 1 か所、 2 か所、 3 か所、 4 か所、 5 か所、もしくは 6 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

C D R グラフティング領域 - L 2 として、配列番号 3 0 7 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 3 0 7 に記載のアミノ酸配列のうち、第 5 5 位のリジン以外のいずれか 1 か所もしくは 2 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

C D R グラフティング領域 - L 3 として、配列番号 3 0 9 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 3 0 9 に記載のアミノ酸配列のうち、第 9 4 位のフェニルアラニン以外のいずれか 1 か所、 2 か所、もしくは 3 か所のアミノ酸

残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列。

[0133] 本発明の抗体の一つの態様としては、前記の何れかのCDR-H1～H3配列を有する重鎖可変領域と、前記の何れかのCDR-L1～L3配列を有する軽鎖可変領域とをそれぞれ組み合わせた抗体が挙げられる。

[0134] 本発明の抗体の一つの態様としては、重鎖可変領域の配列として、以下の(a)～(c)の何れかのアミノ酸配列を有する抗体が挙げられる。

[0135] (a) 配列番号13、配列番号29、配列番号45、配列番号61、配列番号77、配列番号93、配列番号109、配列番号125、配列番号141、配列番号157、配列番号173、及び配列番号267から選択される何れか1つのアミノ酸配列。

[0136] (b) 前記(a)のアミノ酸配列と少なくとも60%以上、又は65%以上、又は70%以上、又は75%以上、又は80%以上、又は85%以上、又は90%以上、又は95%以上、又は96%以上、又は97%以上、又は98%以上、又は99%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

[0137] (c) 前記(a)のアミノ酸配列において1～12（好ましくは1～11、より好ましくは1～10、1～9、1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、1～3、1～2、又は1）個のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは付加されたアミノ酸配列。

[0138] 本発明の抗体の一つの態様としては、重鎖可変領域の配列として、以下の(a)～(c)の何れかのアミノ酸配列を有する抗体（中でもヒト化抗体）が挙げられる。

[0139] (a) 配列番号295及び配列番号323から選択される何れか1つのアミノ酸配列。

[0140] (b) 前記(a)のアミノ酸配列と少なくとも60%以上、又は65%以上、又は70%以上、又は75%以上、又は80%以上、又は85%以上、又は90%以上、又は95%以上、又は96%以上、又は97%以上、又は98%以上、又は99%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸

配列。

- [0141] (c) 前記 (a) のアミノ酸配列において 1～12 (好ましくは 1～11、より好ましくは 1～10、1～9、1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、1～3、1～2、又は 1) 個のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは付加されたアミノ酸配列。
- [0142] 本発明の抗体の一つの態様としては、軽鎖可変領域の配列として、以下の (a)～(c) の何れかを有する抗体が挙げられる。
- [0143] (a) 配列番号 15、配列番号 31、配列番号 47、配列番号 63、配列番号 79、配列番号 95、配列番号 111、配列番号 127、配列番号 143、配列番号 159、配列番号 175、及び配列番号 269 から選択される何れか 1 つのアミノ酸配列。
- [0144] (b) 前記 (a) のアミノ酸配列と少なくとも 60% 以上、又は 65% 以上、又は 70% 以上、又は 75% 以上、又は 80% 以上、又は 85% 以上、又は 90% 以上、又は 95% 以上、又は 96% 以上、又は 97% 以上、又は 98% 以上、又は 99% 以上の相同性 (好ましくは同一性) を有するアミノ酸配列。
- [0145] (c) 前記 (a) のアミノ酸配列において 1～10 (好ましくは 1～9、より好ましくは 1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、1～3、1～2、又は 1) 個のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは付加されたアミノ酸配列。
- [0146] 本発明の抗体の一つの態様としては、軽鎖可変領域の配列として、以下の (a)～(c) の何れかのアミノ酸配列を有する抗体 (中でもヒト化抗体) が挙げられる。
- [0147] (a) 配列番号 297 及び配列番号 325 から選択される何れか 1 つのアミノ酸配列。
- [0148] (b) 前記 (a) のアミノ酸配列と少なくとも 60% 以上、又は 65% 以上、又は 70% 以上、又は 75% 以上、又は 80% 以上、又は 85% 以上、又は 90% 以上、又は 95% 以上、又は 96% 以上、又は 97% 以上、又は 9

8%以上、又は99%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列。

- [0149] (c) 前記 (a) のアミノ酸配列において1～12（好ましくは1～11、より好ましくは1～10、1～9、1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、1～3、1～2、又は1）個のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは付加されたアミノ酸配列。
- [0150] 本発明の抗体の一つの態様としては、前記の何れかの重鎖可変領域と前記の何れかの軽鎖可変領域とをそれぞれ組み合わせた抗体が挙げられる。
- [0151] なお、抗体におけるCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、又はCDR-L3の各配列を同定する方法としては、例えばKabat法（NIH Publication, (1991), No. 91-3242）やChothia法（J. Mol. Biol., (1997), 273[4]:927-48）が挙げられる。これらの方法は、この分野の当業者にとっては技術常識であるが、たとえばDr. Andrew C.R. Martin's Groupのインターネットホームページ（<http://www.bioinf.org.uk/abs/>）から概要を知ることが可能である。なお、本発明におけるCDRはKabatのCDRとして記載をした。
- [0152] 本発明の抗体である免疫グロブリンの重鎖可変領域及び軽鎖可変領域の各フレームワーク配列は、脊椎動物の免疫グロブリンの各クラスにおけるフレームワーク配列であることが好ましい。特に、ヒト、又はマウスもしくはラットを含む非ヒト動物の免疫グロブリンの各クラスにおけるフレームワーク配列であることが好ましい。
- [0153] 以上の重鎖及び軽鎖の各CDR及び／又は各鎖可変領域のアミノ酸配列に、ヒト、又はマウスもしくはラットを含む非ヒト動物の抗体の重鎖及び軽鎖の各フレームワーク領域及び／又は各定常領域のアミノ酸配列を適宜組み合わせることにより、当業者であれば本発明の抗gpNMB特異的抗体を設計することが可能である。特に、ヒト抗体の重鎖及び軽鎖の各フレームワーク領域及び／又は各定常領域のアミノ酸配列を用いることで、ヒト化抗gpNMB特異的抗体とすることができる。ヒト化抗体の重鎖及び軽鎖の各フレー

ムワーク領域及び／又は各定常領域のアミノ酸配列は、例えばヒトの I g G、I g A、I g M、I g E、I g D の各クラス又はその変異体から選択することが可能である。

- [0154] 本発明の抗体は、好ましくは I g G クラス又はその変異体であり、より好ましくは、ヒト I g G クラスもしくはその変異体、ヒト I g G 4 サブクラスもしくはその変異体、又は、ヒト I g G 1 サブクラスもしくはそれらの変異体である。1つの例では、安定化 I g G 4 定常領域は、K a b a t の系により、ヒンジ領域の位置 2 4 1 においてプロリンを含む。この位置は、E U 付番方式 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (1969), 63[1]:78-85)、免疫学的に関心のあるタンパク質の配列 (Washington DC United States Department of Health and Human Services, 2001及びNIH Publication, (1991), No. 91-3242) により、ヒンジ領域の位置 2 2 8 に対応する。ヒト I g G 4 では、この残基は一般的にセリンであり、セリンのプロリンへの置換で安定化を誘導することができる。1つの例では、I g G 1 の定常領域に N 2 9 7 A 変異を組み入れて F c 受容体への結合及び／又は補体を固定する能力をできるだけ抑えることができる。

[0155] ・競合結合：

本発明の一態様として、g p N M B の P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインにわたる領域の少なくとも 1 箇所への結合自体に対して本発明の抗体と競合結合する抗体も挙げられる。斯かる競合結合する抗体も、本発明の範囲に含まれる。本発明において「競合結合」とは、複数種のモノクローナル抗体が抗原と共存する際に、一方の抗体の抗原への結合が、他方の抗体の抗原への結合により阻害される現象を意味する。一般的には、一定量（濃度）のモノクローナル抗体に対して、別のモノクローナル抗体の量（濃度）を変えて加えていった場合に、前者の一定量のモノクローナル抗体の抗原への結合量が低下する添加量（濃度）を測定することによって測定可能である。その阻害の程度は、 $I C_{50}$ 又は $K i$ という値で表すことができる。本発明の抗体と競合結合するモノクローナル抗体とは、たとえば、本発明の抗体を

10 nMで用いて g p NMB の P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインにわたる領域の少なくとも1箇所への競合的な抗原抗体結合を検出した際に、 IC_{50} が通常1000 nM以下、中でも100 nM以下、更には10 nM以下である抗体をいう。競合結合の測定を行う場合、用いる抗体を酵素、蛍光物質、発光物質、放射性同位元素等で標識を行い、その標識した物質の物理的及び／又は化学的特性に適した測定方法を用いて検出することでその測定を行うことも可能であるし、表面プラズモン共鳴法（Surface Plasmon Resonance : S P R）やバイオレイヤー干渉法（Bio-Layer Interferometry : B L I）をはじめとしたバイオセンサーを用いることもできる。

[0156] 「抗 g p NMB 抗体の製造方法」

本発明における抗体は、当業者に周知の技法を用いて得ることができる。本発明における抗体は、ポリクローナル抗体、又はモノクローナル抗体（Nature, (1983), 305(5934): 537-40）である。例えば、ポリクローナル抗体は、配列番号209に示すアミノ酸配列を有するヒト g p NMB タンパク質、又は、その一部のアミノ酸配列を有する g p NMB 部分ペプチド（例えば、アミノ酸残基256～319からなる P K D ドメインを含むペプチド等）を抗原として、あるいは、斯かるヒト g p NMB タンパク質又は g p NMB 部分ペプチドのアミノ酸配列をコードする抗原発現ポリヌクレオチド等を用いて、哺乳動物の筋肉内又は皮下に投与し、動物体内で抗原を発現させて動物を感作することにより、当該動物の血清等から回収することができる。また、ペプチドを抗原として用いる場合には、B S A や K L H 等のキャリアタンパク質やポリリジン等に結合させた形態での抗原を用いることができる。

[0157] 当該発明における非ヒト化モノクローナル抗体は、前述のようにヒト g p NMB タンパク質又は g p NMB 部分ペプチド、あるいは斯かるヒト g p NMB タンパク質又は g p NMB 部分ペプチドをコードする抗原発現ポリヌクレオチド等を哺乳動物に投与して感作し、当該哺乳動物から免疫細胞を取り出して骨髓腫細胞等と細胞融合させることにより得られたハイブリドーマをクローニングして、その培養物から回収することができる。そのようなモノ

クローナル抗体の取得方法 (Nature, (1992), 356[6365]:152-4) や細胞融合の手法 (Nature, (1975), 256[5517]:495-7) は既に報告され、一般化されており、免疫賦活物質の投与により更に取得効率を高めることができる (Cancer Gene Ther., (2007), 14[11]:904-17)。斯かる方法によって得られたモノクローナル抗体としては、限定されるものではないが、以下が挙げられる。

- [0158] ・ 配列番号 13 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号 15 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体 (GPN05-1)。
- ・ 配列番号 29 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号 31 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体 (GPN06-1)。
- ・ 配列番号 45 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号 47 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体 (GPN07-1)。
- ・ 配列番号 61 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号 63 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体 (GPN11-10)。
- ・ 配列番号 77 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号 79 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体 (GPN15-2)。
- ・ 配列番号 93 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号 95 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体 (GPN15-3)。
- ・ 配列番号 109 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号 111 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体 (GPN18-4)。
- 。
- ・ 配列番号 125 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号 127 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体 (GPN18-1)。
- 。
- ・ 配列番号 141 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号 143 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体 (GPN18-2)。
- 。
- ・ 配列番号 157 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号 159 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体 (GPN18-6)。

- 。
- ・ 配列番号 173 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号 175 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体（GPN18-7）
- 。
- ・ 配列番号 267 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号 269 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体（GPN09-1）
- 。

[0159] また、別の製造方法としては、取得したい抗体を産生するハイブリドーマやヒト抗体ファージディスプレイで得られたファージクローン等から、抗体の重鎖及び／又は軽鎖をコードする遺伝子、より詳細には免疫グロブリンの重鎖及び／又は軽鎖をコードする核酸分子を作製する。ここで、斯かる核酸分子を各種のベクター又はプラスミドに導入することにより、当該核酸分子を含むベクター又はプラスミドを作製してもよい。次いで、前記の核酸分子、ベクター、又はプラスミドで宿主細胞を形質転換する。宿主細胞としては、例えば哺乳動物細胞、昆虫細胞、酵母細胞、もしくは植物細胞等の真核細胞、又は細菌細胞が挙げられる。次に、この形質転換された宿主細胞を、本発明の抗 gpNMB 特異的抗体を産生するための適切な条件下で培養する。ここで、必要に応じ、得られた本発明の抗 gpNMB 特異的抗体を宿主細胞から単離してもよい。これらの手順に用いられる各種の手法は、何れも当業者には周知である。

[0160] ここで、免疫グロブリンの重鎖及び／又は軽鎖をコードする遺伝子について、望む形質を導入するための遺伝子改変を行ったり、免疫グロブリンの重鎖及び／又は軽鎖の可変領域又は CDR 領域の構造情報を用いたりすることにより、抗体キメラタンパク質、低分子抗体、スキャフォールド抗体等を作製することは、当業者であれば公知の技術を用いて実施可能である。また、抗体の性能の向上や副作用の回避を目的に、抗体の定常領域の構造に改変を入れることや、糖鎖の部分での改変を行うことも、当業者によく知られた技術によって適宜行うことができる。

[0161] 〔ヒト化抗体〕

一態様によれば、本発明の抗 g p N M B 抗体は、ヒト化された抗体である。以下、ヒト化された本発明の抗 g p N M B 抗体を適宜「本発明の抗 g p N M B ヒト化抗体」又は単に「本発明のヒト化抗体」という場合がある。また、「本発明の抗 g p N M B 抗体」には、当然ながら「本発明の抗 g p N M B ヒト化抗体」も含まれる。

[0162] 本発明の非ヒト化抗 g p N M B 抗体のヒト化、即ち本発明の抗 g p N M B ヒト化抗体の製造は、例えば以下の手順で行うことができる。

[0163] 即ち、前記の各種の手法で得られた非ヒト化（例えばマウス）抗 g p N M B 抗体のアミノ酸配列を基にして、I M G T (Lefranc, M.-P., Pommie, C., Ruiz, M., Giudicelli, V., Foulquier, E., Truong, L., Thouvenin-Conte, V. and Lefranc, G. "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains". *Dev. Comp. Immunol.*, 27, 55-77 (2003) PMID: 12477501 LIGM:268.) と K a b a t のナンバリングを参考にして C D R 領域を同定する。I M G T / K a b a t を組み合わせた方法によって、C D R ループ構造を最適に保つようにする。次に C D R グラフティング法により、C D R ループ構造を保つようにヒト抗体フレームを選定し、抗体のバリエーションを得る。得られた抗体バリエーションの中から、所望の結合親和性（例えば、g p N M B の P M E L - C A F 様領域から P K D 領域にいたる領域の少なくとも 1 箇所に対する結合親和性）を有するものを選択することにより、ヒト化抗体を得ることが出来る。

[0164] 具体的には、前記の各種の手法で得られた非ヒト化（例えばマウス）抗 g p N M B 抗体の重鎖および軽鎖可変領域のアミノ酸配列と最も近似しているヒト生殖系列 (germline) 遺伝子を 1 種選択する。一方、B L A S T サーチを使用して、重鎖および軽鎖可変領域と相溶性の高い 2 0 0 種程度のヒト I g G 配列を候補として選び出す。その後、フレームワークのホモロジーやフレームワークでキーとなるアミノ酸の保持やループ構造などの観点から、例えば 4 種のフレームワーク配列を選択する。それらに C D R グラフティング

を行い、4種のヒト化バリエーションを得る。また、ヒト生殖系列の配列をフレームワークとしてCDRグラフトイングし、1種のヒト化バリエーションを得る。得られた5種の重鎖軽鎖のヒト化バリエーションを組み合わせ、25種のヒト化抗体バリエーションを発現精製して、その結合活性を評価する。親抗体のマウス重鎖軽鎖を有するヒトキメラ抗体とのSPRによる活性比較で、所定の（例えば3倍乃至は3分の1の）結合親和性を有するものを選択することにより、ヒト化抗体を得ることが出来る。

[0165] 他の例としては、本明細書に開示されている抗gpNMB抗体が認識するPMEL-CAF様領域からPKD領域にいたる領域の少なくとも1箇所を認識する抗gpNMB抗体を、ヒト抗体産生マウスやヒト抗体ファージミドライブラリーなどから直接得ることも出来る。

[0166] 斯かる方法によって得られたヒト化抗gpNMBモノクローナル抗体としては、限定されるものではないが、以下が挙げられる。

- ・ 配列番号295のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号297のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体（hGPNO6-1__H1L1）。

- ・ 配列番号323のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、及び、配列番号325のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有する抗体（hGPN18-2__H2L3）。

[0167] 「医薬組成物」

本発明の抗gpNMB特異的抗体は、医薬組成物の活性成分として使用することが好ましい。即ち、本発明の一態様は、本発明の抗gpNMB特異的抗体を活性成分として含む医薬組成物（以下適宜「本発明の第1の医薬組成物」と総称する）に関する。

[0168] 前述のように、本発明の抗gpNMB特異的抗体は、ヒト等の対象に投与した場合に、以下の活性（a）～（c）、（w）～（z）及び（p）～（s）のうち1又は2以上の活性が期待される。従って、本発明の第1の医薬組成物は、以下の活性（a）～（c）、（w）～（z）及び（p）～（s）の

うち1又は2以上の用途に使用される医薬組成物であることが好ましい。

(a) 機能異常ミクログリアを低減又は除去する用途。

(b) 正常ミクログリアによる機能異常ミクログリアの貪食作用を促進する用途、あるいは、機能異常ミクログリアを正常化する用途。

(c) 機能異常ミクログリア周辺の正常ミクログリアの作用を増大させる用途。

(w) 認知機能及び又は運動機能の低下を抑制し、又は回復させる用途。

(x) アミロイド β オリゴマーを除去する用途。

(y) シナプス数を増加させる用途。

(z) 神経変性疾患を治療又は予防する用途。

(p) リン酸化タウを除去及び／又はタウ蓄積を抑制する用途。

(q) NFT（神経原線維変化）の形成を抑制する用途。

(r) アミロイド β を除去する用途。

(s) シヌクレイン及び／又はシヌクレイン凝集体を除去する用途。

[0169] 中でも、前述のように、一態様に係る本発明の抗g p NMB特異的抗体は、前記活性(a)～(c)のうち1又は2以上の活性を有する結果として、前記活性(w)～(z)及び(p)～(s)のうち1又は2以上の活性を発揮するものと推測される。従って、本発明の抗g p NMB特異的抗体が、前記活性(a)～(c)のうち1又は2以上の活性を有する抗体である場合には、本発明の第1の医薬組成物は、前記活性(w)～(z)及び(p)～(s)のうち1又は2以上の用途に使用される医薬組成物であることが好ましい。特に前記活性(a)～(c)においては(a)を有することが好ましい。

[0170] また、本述の実施例の結果に基づけば、前記活性(a)～(c)のうち1又は2以上の活性の結果として、前記活性(w)～(z)及び(p)～(s)のうち1又は2以上の活性が発揮されている蓋然性が極めて高いところ、斯かる知見は本発明者等が見出した新たな知見である。本知見に基づけば、本発明の抗g p NMB特異的抗体でなくとも、前記活性(a)～(c)のう

ち1又は2以上の活性を有する任意の薬剤（例えば低分子化合物でもよく、抗体等の高分子医薬でもよい）を用いれば、前記活性（w）～（z）及び（p）～（s）のうち1又は2以上の用途に使用される医薬組成物を調製することが可能である。従って、本発明の一態様は、前記活性（a）～（c）のうち1又は2以上の活性を有する任意の薬剤（例えば低分子化合物でもよく、抗体等の高分子医薬でもよい）を活性成分として含む、前記活性（w）～（z）及び（p）～（s）のうち1又は2以上の用途に使用される医薬組成物（以下適宜「本発明の第2の医薬組成物」と総称する）に関する。特に前記活性（a）～（c）においては（a）を有することが好ましい。

[0171] 以下、本発明の第1の医薬組成物及び本発明の第2の医薬組成物（これらを適宜「本発明の医薬組成物」と総称する）の詳細は、限定されるものではないが、例えば以下の通りである。

[0172] 本発明の医薬組成物は、活性成分（本発明の第1の医薬組成物の場合は、本発明の抗g p NMB特異的抗体、本発明の第2の医薬組成物の場合は、前記活性（a）～（c）のうち1又は2以上の活性を有する任意の薬剤）の他に、医薬的に許容される担体及び／又はその他の添加剤を含有する、医薬組成物の形態として製剤化してもよい。医薬的に許容される担体及び／又はその他の添加剤を用いての製剤は、例えばUniversity of the Sciences in Philadelphia, "Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th EDITION", Lippincott Williams & Wilkins, (2000)に記載の方法で実施することが可能である。

[0173] このような治療剤又は予防剤の一つの形態としては、無菌の水性液又は油性液に溶解、懸濁、又は乳化することによって調製された液剤あるいは凍結乾燥剤として供される。このような溶剤又は溶解液として、水性液としては注射用蒸留水、生理食塩水等が挙げられ、それに加えて浸透圧調節剤（例えば、D-グルコース、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウム等）が添加される場合、適当な溶解補助剤、例えばアルコール（例えばエタノール）、ポリアルコール（例えばプロピレングリコール、ポリエチレン

グリコール)、非イオン性界面活性剤(例えばポリソルベート80、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油50)等が併用される場合もある。また、溶剤又は溶解液としては油性液が用いられる場合もあり、該油性液の例としてはゴマ油、大豆油等があげられ、溶解補助剤として安息香酸ベンジル、ベンジルアルコール等が併用される場合もある。このような製剤においては、適宜、緩衝剤(例えば、リン酸塩類緩衝剤、酢酸塩類緩衝剤)、無痛化剤(例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカイン等)、安定剤(例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコール等)、保存剤(例えば、アスコルビン酸、エリスルビン酸及びそれらの塩等)、着色剤(例えば、銅クロロフィル、 β -カロチン、赤色2号、青色1号等)、防腐剤(例えば、パラオキシ安息香酸エステル、フェノール、塩化ベンゼトニウム、塩化ベンザルコニウム等)、増粘剤(例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース及びそれらの塩等)、安定化剤(例えば、人血清アルブミン、マンニトール、ソルビトール等)、矯臭剤(例えば、メントール、柑橘香料等)の添加剤が用いられる場合がある。

[0174] また、別の治療剤又は予防剤の形態としては、散剤、錠剤、顆粒剤、カプセル剤、丸剤、坐剤、トローチ剤等の固形剤があげられる。経口用製剤の形で投与する固形剤の場合には、添加剤として、賦形剤(例えば、結晶性セルロース、ラクトース、デンプン等)、滑沢剤(例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク等)、結合剤(例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、マクロゴール等)、崩壊剤(例えば、デンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウム等)等が用いられる。また、必要に応じて、防腐剤(例えば、ベンジルアルコール、クロロブタノール、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸プロピル等)、抗酸化剤、着色剤、甘味剤等の添加剤を用いることができる。更に別の形態として、粘膜適用治療剤又は予防剤もあげられ、この製剤においては粘膜への吸着性、滞留性等を付与することを主な目的として、添加剤として粘着剤、粘着増強剤、粘稠剤、粘稠化剤等(例えば、ムチン、カンテン、ゼラチン、ペ

クチン、カラギーナン、アルギン酸ナトリウム、ローカストビンガム、キシランタンガム、トラガントガム、アラビアゴム、キトサン、プルラン、ワキシースターチ、スクラルフェート、セルロース、及びそれらの誘導体）が含有される場合もある。しかしながら、生体に供与される治療剤又は予防剤の形態及び溶剤や添加剤はこれらに限定されるものではなく、当業者であれば適宜選択できる。

[0175] 本発明の医薬組成物は、活性成分（本発明の第1の医薬組成物の場合は、本発明の抗g p NMB特異的抗体、本発明の第2の医薬組成物の場合は、前記活性（a）～（c）のうち1又は2以上の活性を有する任意の薬剤）の他に、既存の他の薬物（活性成分）を含んでいてもよい。斯かる既存の他の薬物（活性成分）としては、制限されるものではないが、各種の中樞神経疾患治療薬、神経変性疾患治療薬、神経機能回復薬、アルツハイマー病治療薬、等が挙げられる。その具体例としては、抗T a u抗体、抗アミロイドβ抗体、抗C D 3 3抗体、抗セマフォリン4 D抗体、抗T N F α抗体、抗ソルチリン抗体、抗ガラクトース特異的レクチン（ガレクチン）3抗体、抗T R E M 2（Triggering receptor expressed on myeloid cells 2）抗体、抗I L - 1 β抗体、抗C D 3 8抗体、抗M S 4 A抗体、および抗シヌクレイン抗体等が挙げられる。これらは一種単独で使用してもよく、二種以上を併用してもよい。

[0176] また、本発明の医薬組成物を、既存の他の薬物と組み合わせ、キットの形態としてもよい。本発明の抗g p NMB特異的抗体と組み合わせる活性成分としても、配合剤について前述した薬物（活性成分）が挙げられる。これら配合剤又はキットの形態で用いられる抗g p NMB特異的抗体以外の薬物の用量としては、通常の治療に用いられる用量で行うことができるが、状況に応じて増減することも可能である。

[0177] 本発明の医薬組成物は、症状の改善を目的として、非経口的に投与することができる。非経口投与の場合には、例えば経鼻剤とすることができ、液剤、懸濁剤、固形製剤等を選択できる。また別の非経口投与の形態としては、

注射剤とすることができ、注射剤としては、皮下注射剤、静脈注射剤、点滴注射剤、筋肉注射剤、脳室内注射剤又は腹腔内注射剤等を選択することができる。またその他の非経口投与に用いる製剤としては、坐剤、舌下剤、経皮剤、経鼻剤以外の経粘膜投与剤等も挙げられる。更に、ステントや血管内栓塞剤に含有もしくは塗布する態様で、血管内局所投与することもできる。場合によっては本抗体をコードするDNAやRNA更には本抗体を産生する細胞や常在菌の形態で投与することも可能である。

[0178] 本発明の医薬組成物の投与量は、患者の年齢、性別、体重、症状、治療効果、投与方法、処理時間、又は該医薬組成物に含有される活性成分の種類等により異なるが、通常成人1人あたり、1回につき主剤を0.1mgから1gの範囲で、好ましくは0.5mgから300mgの範囲で、1週から4週間に1回、もしくは1か月から6か月に1回投与することができる。しかし、投与量及び投与回数は種々の条件により変動するため、前記投与量及び回数よりも少ない量及び回数で十分な場合もあり、また前記の範囲を超える投与量及び投与回数が必要な場合もある。また、本発明における治療剤又は予防剤は、副作用を軽減することにより、短い投与期間で効果を得ることや長期投与が可能である。

[0179] 〔その他〕

前述のように、本発明の抗gpNMB特異的抗体は、ヒト等の対象に投与した場合に、以下の活性(a)～(c)、(w)～(z)及び(p)～(s)のうち1又は2以上の活性が期待される。

(a) 機能異常ミクログリアを低減又は除去する活性。

(b) 正常ミクログリアによる機能異常ミクログリアの貪食作用を促進する活性、あるいは機能異常ミクログリアを正常化する活性。

(c) 機能異常ミクログリア周辺の正常ミクログリアの作用を増大させる活性。

(w) 認知機能及び又は運動機能の低下を抑制し、又は回復させる活性

(x) アミロイドβオリゴマーを除去する活性。

(y) シナプス数を増加させる活性。

(z) 神経変性疾患を治療又は予防する活性。

(p) リン酸化タウを除去及び／又はタウ蓄積を抑制する活性。

(q) N F T (神経原線維変化) の形成を抑制する活性。

(r) アミロイド β を除去する活性。

(s) シヌクレイン及び／又はシヌクレイン凝集体を除去する活性。

[0180] よって、本発明の対象として、前記の本発明の医薬組成物の他にも、例えば以下の幾つかの態様を挙げることが出来る。

[0181] 即ち、本発明の一態様は、対象において前記活性 (a) ~ (c)、(w) ~ (z) 及び (p) ~ (s) のうち1又は2以上の活性を発揮させることを目的とする方法であって、それを必要とする対象に、本発明の抗 g p N M B 特異的抗体の有効量を投与方法に関する。中でも、本発明の抗 g p N M B 特異的抗体が、前記活性 (a) ~ (c) のうち1又は2以上の活性を有する抗体である場合には、前記の方法は、対象において前記活性 (w) ~ (z) のうち1又は2以上の活性を発揮させることを目的とする方法であることが好ましい。その他の詳細は、前述のとおりである。特に前記活性 (a) ~ (c) においては少なくとも (a) を有することが好ましい。

[0182] また、本発明の一態様は、対象において前記活性 (w) ~ (z) 及び (p) ~ (s) のうち1又は2以上の活性を発揮させることを目的として、それを必要とする対象に、前記活性 (a) ~ (c) のうち1又は2以上の活性を有する任意の薬剤（例えば低分子化合物でもよく、抗体等の高分子医薬でもよい）の有効量を投与方法に関する。その詳細は、前述のとおりである。特に前記活性 (a) ~ (c) においては少なくとも (a) を有することが好ましい。

[0183] また、本発明の一態様は、対象において前記活性 (a) ~ (c)、(w) ~ (z) 及び (p) ~ (s) のうち1又は2以上の活性を発揮させる目的で使用するための、本発明の抗 g p N M B 特異的抗体に関する。中でも、本発明の抗 g p N M B 特異的抗体が、前記活性 (a) ~ (c) のうち1又は2以

上の活性を有する抗体である場合には、前記の抗体は、対象において前記活性（w）～（z）及び（p）～（s）のうち1又は2以上の活性を発揮させるために使用される抗体であることが好ましい。その他の詳細は、前述のとおりである。特に前記活性（a）～（c）においては少なくともa）を有することが好ましい。

[0184] また、本発明の一態様は、対象において前記活性（w）～（z）及び（p）～（s）のうち1又は2以上の活性を発揮させる目的で使用するための、前記活性（a）～（c）のうち1又は2以上の活性を有する任意の薬剤（例えば低分子化合物でもよく、抗体等の高分子医薬でもよい）に関する。その詳細は、前述のとおりである。特に前記活性（a）～（c）においては少なくとも（a）を有することが好ましい。

[0185] 即ち、本発明の一態様は、対象において前記活性（a）～（c）、（w）～（z）及び（p）～（s）のうち1又は2以上の活性を発揮させることを目的とする医薬の製造における、本発明の抗g p NMB特異的抗体の使用に関する。中でも、本発明の抗g p NMB特異的抗体が、前記活性（a）～（c）のうち1又は2以上の活性を有する抗体である場合には、前記の医薬は、対象において前記活性（w）～（z）及び（p）～（s）のうち1又は2以上の活性を発揮させることを目的とする医薬であることが好ましい。その他の詳細は、前述のとおりである。特に前記活性（a）～（c）においては少なくとも（a）を有することが好ましい。

[0186] また、本発明の一態様は、対象において前記活性（w）～（z）及び（p）～（s）のうち1又は2以上の活性を発揮させることを目的とする医薬の製造における、前記活性（a）～（c）のうち1又は2以上の活性を有する任意の薬剤（例えば低分子化合物でもよく、抗体等の高分子医薬でもよい）の使用に関する。その詳細は、前述のとおりである。特に前記活性（a）～（c）においては少なくとも（a）を有することが好ましい。

実施例

[0187] 以下、本発明を実施例に則してさらに詳細に説明する。但し、これらの実

施例はあくまでも説明のために便宜的に示す例に過ぎず、本発明は如何なる意味でもこれらの実施例に限定されるものではない。

[0188] 〔標準的な操作〕

・ 抗原ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) :

組換え可溶性ヒト又はマウスgpNMBをPBSにより希釈して $2\mu\text{g}/\text{mL}$ に調整し、96ウェルプレート (Nunc、MaxiSorp) に $50\mu\text{L}/\text{ウェル}$ で添加し、 4°C で一晩静置した。この96ウェルプレートを3%BSA/PBSでブロッキングしたものを、組換え可溶性gpNMB固定96ウェルプレートとしてELISAに使用した。

[0189] 抗gpNMB抗体含有ハイブリドーマ培養上清又は3%BSA/PBS溶液を、上記組換え可溶性gpNMB固定96ウェルプレートに $30\mu\text{L}/\text{ウェル}$ で添加し、室温で1時間反応させた。洗浄液 (TBS-T: Tris Buffered Saline, 0.025% Tween (登録商標) 20) にて洗浄した後、マウスIgGの全てのアイソタイプに反応する抗体、抗マウスIgG抗体-AALPコンジュゲート (SBA、1050-04) を、3%BSA/PBSにて1000倍希釈した溶液を $30\mu\text{L}/\text{ウェル}$ で添加し、室温にて1時間反応させた。基質 (PNPP (p-nitrophenyl phosphate)、 $1\text{mg}/\text{mL}$) 溶液を $100\mu\text{L}/\text{ウェル}$ で添加し、室温にて1時間反応させ、 $405\sim 550\text{nm}$ の吸光度を算出した。得られた吸光度の値を結合活性として評価した。

[0190] ・細胞ELISA (Cell-based ELISA) :

gpNMB発現細胞をポリリジンコート96ウェルプレートに播種し、接着させた後、培養上清を除去して、10%ホルマリン含有液で室温で10分間固定化した。その後、上清を除去して3%BSA/PBS溶液でブロッキングを行い、冷蔵保存した。

[0191] 得られた上記細胞固定プレートのブロッキング液を除去して、抗体含有培地又は溶液を $30\mu\text{L}/\text{ウェル}$ で添加し、室温で1時間～1時間30分程度インキュベーションした。その後、洗浄液 (TBS-T) で2～4回洗浄を行い、抗マウスIgG-HRPラベル2次抗体の10000倍希釈溶液を添

加し、室温で1時間インキュベートした。その後、洗浄液(TBS-T)で2~4回洗浄を行い、基質TMB溶液を50 μ L/ウェル添加し、30分間室温でインキュベートした。その後、1N硫酸を50 μ L/ウェルで添加して反応を停止させ、450~650nmの吸光度を算出した。得られた吸光度の値を結合活性として評価した。

[0192] 〔実施例1〕マウス又はラットモノクローナル抗体の作製及びスクリーニング(抗原ELISA及び細胞ELISA)：

マウス又はラットモノクローナル抗体は、Koehler et al., Nature, (1975), 256:495-497等に記載のハイブリドーマ法により作製し得る。抗gpNMB抗体は、ヒトgpNMB(アイソタイプa)のアミノ酸配列(配列番号209)若しくは核酸配列(配列番号210)、又は、マウスgpNMBのアミノ酸(配列番号211)若しくは核酸配列(配列番号212)の全長又は一部を含む、核酸、タンパク質、又はペプチドを使用して、マウス又はラットに免疫を誘導し、抗体価の上昇したマウス又はラットからリンパ球細胞を採取した。全ての動物実験は、施設の規則に従って実施した。マウス又はラットから採取したリンパ球細胞とマウスミエローマ細胞株(P3U1(P3X63Ag8U.1)又はSP2/0(SP2/0-Ag14))との融合によるハイブリドーマ作製は標準的なハイブリドーマ技術を使用して実施した。ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジンを含むいわゆるHAT培地を使用してハイブリドーマを選択した。なお、ヒトgpNMB(アイソタイプa)(配列番号209)及びマウスgpNMB(配列番号211)のアミノ酸配列のアラインメントを図1に示す。図中、PKDドメインの例として、アミノ酸残基256~319位の領域を点線で囲んで示す。PME-CAF様ドメインの例として、アミノ酸残基172~246位の領域を実線で囲んで示す。

[0193] 得られたハイブリドーマの培養液を用いて、組換えヒト可溶性gpNMB(配列番号221)又はマウス可溶性gpNMB(配列番号223)を固定した抗原ELISA、及び、ヒトgpNMB(配列番号209)を含むタン

パク質を発現させた細胞を用いた細胞ELISAによる結合性評価を実施し、陽性ハイブリドーマ含有ウェルを選択した。このウェルに含まれるハイブリドーマを限界希釈法によってシングルクローン化した。このシングルクローン化した陽性ハイブリドーマを培養して、培養液中からプロテインAカラム (Ab-Capcher、プロテノバ) を使用してモノクローナル抗体を精製し、複数の抗gpNMB抗体を取得した。

[0194] 〔実施例2〕抗体の配列の決定：

実施例1で取得した各抗gpNMB抗体クローンの軽鎖及び重鎖の遺伝子配列を決定するために、SMARTer[®] RACE法を実施した。抗体を産生するハイブリドーマ由来のRNAから開始及び終止コドンを含む抗体の重鎖及び軽鎖の遺伝子断片をSMARTer[®] RACE法により取得し、その塩基配列を決定した。ハイブリドーマ由来のTotal RNAを鋳型としてSMARTer[®] RACE 5' / 3' Kit (634859、Clontech) を用いて、1st strand cDNAを合成した後、PCR反応によりcDNAを増幅させた。そのcDNAを鋳型として、キットに付属のユニバーサル配列に対するプライマーと、抗体の重鎖及び軽鎖にそれぞれ特異的なプライマーを用いてPCR反応を行った。得られたPCR産物は5' RACE PCR産物としてTAクローニングに用いた。

[0195] なお、ラットモノクローナル抗体遺伝子の配列決定に関しては、ラット抗体の重鎖及び軽鎖の可変領域に対するPCR反応を行い、得られたPCRフラグメントをマウス定常領域と結合させてマウスキメラ抗体として配列決定を行った。

[0196] TAクローニングでは、5' RACE PCR産物を電気泳動して目的とする分子量を含むcDNA断片をQIAEX II Gel Extraction Kit (20021、Qiagen) を用いて精製した。精製後のcDNAはTaKaRa-Taq (R001A、Takara) を用いて72℃、5分間反応させることにより3' 末端にアデニンを付加させた。そのcDNA断片をMighty TA-cloning Kit (6028、Taka

ra)を用いて添付のプロトコールに従い、pMD20-Tベクター（以下、MD20ベクター）にクローニングした。目的のcDNAがクローニングされたMD20ベクターを大腸菌TOP10に形質転換させ、アンピシリン100 μ g/mL含有の寒天培地で培養した。MD20ベクターへの目的とするcDNA断片の挿入はコロニーPCRにより確認した。クローニングしたcDNA断片の塩基配列を同定した。同様に3' RACE PCR産物の塩基配列を同定し、各抗体の遺伝子の全長配列を決定した。

[0197] 実施例1で取得した抗gpNMB抗体クローンのうち、GPN05-1、GPN06-1、GPN07-1、GPN09-1、GPN11-10、GPN15-2、GPN15-3、GPN18-1、GPN18-2、GPN18-4、GPN18-5、GPN18-6、GPN18-7、及び1-5Eについて、以上の手順により決定された重鎖及び軽鎖各可変領域（それぞれVH及びVL）ならびにそれらに含まれる相補性決定領域（それぞれCDR-H1～H3及びCDR-L1～L3）の各々のアミノ酸配列及び塩基配列の配列番号を表1-1～1-5に示した。

[0198]

[表1-1]

抗体クローン	説明	アミノ酸配列		核酸配列	
GPN05-1	CDR-H1	配列番号	1	配列番号	2
	CDR-H2	配列番号	3	配列番号	4
	CDR-H3	配列番号	5	配列番号	6
	CDR-L1	配列番号	7	配列番号	8
	CDR-L2	配列番号	9	配列番号	10
	CDR-L3	配列番号	11	配列番号	12
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	13	配列番号	14
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	15	配列番号	16
GPN06-1	CDR-H1	配列番号	17	配列番号	18
	CDR-H2	配列番号	19	配列番号	20
	CDR-H3	配列番号	21	配列番号	22
	CDR-L1	配列番号	23	配列番号	24
	CDR-L2	配列番号	25	配列番号	26
	CDR-L3	配列番号	27	配列番号	28
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	29	配列番号	30
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	31	配列番号	32
GPN07-1	CDR-H1	配列番号	33	配列番号	34
	CDR-H2	配列番号	35	配列番号	36
	CDR-H3	配列番号	37	配列番号	38
	CDR-L1	配列番号	39	配列番号	40
	CDR-L2	配列番号	41	配列番号	42
	CDR-L3	配列番号	43	配列番号	44
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	45	配列番号	46
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	47	配列番号	48

[表1-2]

抗体クローン	説明	アミノ酸配列		核酸配列	
GPN11-10	CDR-H1	配列番号	49	配列番号	50
	CDR-H2	配列番号	51	配列番号	52
	CDR-H3	配列番号	53	配列番号	54
	CDR-L1	配列番号	55	配列番号	56
	CDR-L2	配列番号	57	配列番号	58
	CDR-L3	配列番号	59	配列番号	60
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	61	配列番号	62
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	63	配列番号	64
GPN15-2	CDR-H1	配列番号	65	配列番号	66
	CDR-H2	配列番号	67	配列番号	68
	CDR-H3	配列番号	69	配列番号	70
	CDR-L1	配列番号	71	配列番号	72
	CDR-L2	配列番号	73	配列番号	74
	CDR-L3	配列番号	75	配列番号	76
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	77	配列番号	78
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	79	配列番号	80
GPN15-3	CDR-H1	配列番号	81	配列番号	82
	CDR-H2	配列番号	83	配列番号	84
	CDR-H3	配列番号	85	配列番号	86
	CDR-L1	配列番号	87	配列番号	88
	CDR-L2	配列番号	89	配列番号	90
	CDR-L3	配列番号	91	配列番号	92
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	93	配列番号	94
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	95	配列番号	96

[表1-3]

抗体クローン	説明	アミノ酸配列		核酸配列	
GPN18-4	CDR-H1	配列番号	97	配列番号	98
	CDR-H2	配列番号	99	配列番号	100
	CDR-H3	配列番号	101	配列番号	102
	CDR-L1	配列番号	103	配列番号	104
	CDR-L2	配列番号	105	配列番号	106
	CDR-L3	配列番号	107	配列番号	108
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	109	配列番号	110
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	111	配列番号	112
GPN18-1	CDR-H1	配列番号	113	配列番号	114
	CDR-H2	配列番号	115	配列番号	116
	CDR-H3	配列番号	117	配列番号	118
	CDR-L1	配列番号	119	配列番号	120
	CDR-L2	配列番号	121	配列番号	122
	CDR-L3	配列番号	123	配列番号	124
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	125	配列番号	126
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	127	配列番号	128
GPN18-2	CDR-H1	配列番号	129	配列番号	130
	CDR-H2	配列番号	131	配列番号	132
	CDR-H3	配列番号	133	配列番号	134
	CDR-L1	配列番号	135	配列番号	136
	CDR-L2	配列番号	137	配列番号	138
	CDR-L3	配列番号	139	配列番号	140
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	141	配列番号	142
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	143	配列番号	144

[表1-4]

抗体クローン	説明	アミノ酸配列		核酸配列	
GPN18-6	CDR-H1	配列番号	145	配列番号	146
	CDR-H2	配列番号	147	配列番号	148
	CDR-H3	配列番号	149	配列番号	150
	CDR-L1	配列番号	151	配列番号	152
	CDR-L2	配列番号	153	配列番号	154
	CDR-L3	配列番号	155	配列番号	156
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	157	配列番号	158
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	159	配列番号	160
GPN18-7	CDR-H1	配列番号	161	配列番号	162
	CDR-H2	配列番号	163	配列番号	164
	CDR-H3	配列番号	165	配列番号	166
	CDR-L1	配列番号	167	配列番号	168
	CDR-L2	配列番号	169	配列番号	170
	CDR-L3	配列番号	171	配列番号	172
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	173	配列番号	174
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	175	配列番号	176
GPN18-5	CDR-H1	配列番号	177	配列番号	178
	CDR-H2	配列番号	179	配列番号	180
	CDR-H3	配列番号	181	配列番号	182
	CDR-L1	配列番号	183	配列番号	184
	CDR-L2	配列番号	185	配列番号	186
	CDR-L3	配列番号	187	配列番号	188
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	189	配列番号	190
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	191	配列番号	192

[表1-5]

抗体クローン	説明	アミノ酸配列		核酸配列	
1-5E	CDR-H1	配列番号	193	配列番号	194
	CDR-H2	配列番号	195	配列番号	196
	CDR-H3	配列番号	197	配列番号	198
	CDR-L1	配列番号	199	配列番号	200
	CDR-L2	配列番号	201	配列番号	202
	CDR-L3	配列番号	203	配列番号	204
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	205	配列番号	206
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	207	配列番号	208
GPN09-1	CDR-H1	配列番号	255	配列番号	256
	CDR-H2	配列番号	257	配列番号	258
	CDR-H3	配列番号	259	配列番号	260
	CDR-L1	配列番号	261	配列番号	262
	CDR-L2	配列番号	263	配列番号	264
	CDR-L3	配列番号	265	配列番号	266
	重鎖可変領域(VH)	配列番号	267	配列番号	268
	軽鎖可変領域(VL)	配列番号	269	配列番号	270

[0199] 「実施例3」抗g p NMB抗体のミクログリアに対する結合活性の解析（細胞ELISA）：

実施例1で取得した各抗g p NMB抗体のミクログリアに対する結合性を評価するため、1日から2日齢のマウス又はラット脳から脳細胞を採取後、1週間程度培養し、接着細胞を1時間ほど振とうすることによって剥離した細胞を集めマウス又はラットミクログリアを採取した。採取したマウス又はラットミクログリアを20%FBS/DMEM-Glutamaxで懸濁し、 2×10^4 細胞/ウェルで96ウェルプレートへ播種し、37℃のCO₂インキュベータで1日から2日間程度培養して接着させてから、マイルドホルムで固定化し、その後3%BSA/PBSでブロッキングを行い、細胞ELISAプレートを作製した。

[0200] マウス又はラットミクログリア固定ELISAプレートのブロッキング液を除去して、抗g p NMB抗体希釈液（3%BSA/PBS溶液）を30μL/ウェルで添加し、室温にて1時間反応させた。その後、洗浄液にて洗浄

した後、マウスIgGに特異的に反応する抗体、抗マウスIgG抗体-HRPコンジュゲート（MBL、Code No. 330）を50 μ L／ウェルあるいは抗マウスIgG抗体-ALPコンジュゲート（SBA、1050-04）を30 μ L／ウェルで添加し、室温にて1時間反応させた。HRP用基質（ELISA-StartTM ペルオキシダーゼ化学発光基質、富士フイルム和光純薬（株））を100 μ L／ウェルで添加し、直ちに1～10秒間の発光量を測定し、得られた発光強度の値を結合活性として評価した。あるいはALP用基質（PNPP）を100 μ L／ウェルで添加し、室温にて1時間反応させ、405～550nmの吸光度を測定し、得られた吸光度の値を結合活性として評価した。その結果、抗gpNMB抗体のマウスミクログリアとラットミクログリアに対する結合性を確認した。

[0201] 〔実施例4〕抗gpNMB抗体の結合部位の解析（抗原ELISA）：

実施例1で取得した各抗gpNMB抗体のヒトgpNMBタンパク質に対する結合部位を解析するため、以下の実験を実施した。

[0202] まず、ヒトgpNMB細胞外ドメインのアミノ酸配列（配列番号215；なお、当該アミノ酸配列中、第1～21位のアミノ酸残基はシグナルペプチドを構成し、第22位以降のアミノ酸残基がヒトgpNMB細胞外ドメインの単離ペプチドを構成する。）を基準として、下記表2に示すヒトgpNMB細胞外ドメインのN末端欠失変異体（hgpnmb__d07__76-498）及びC末端欠失変異体（hgpnmb__d03__1-251、hgpnmb__d04__1-321、hgpnmb__d05__1-375、hgpnmb__d06__1-418、hgpnmb__d13__1-412、hgpnmb__d14__1-406、hgpnmb__d15__1-400、hgpnmb__d16__1-394、hgpnmb__d17__1-388、hgpnmb__d18__1-382、及びhgpnmb__d19__1-234）を作製した。精製gpNMBタンパク質は、gpNMB遺伝子を挿入した一過性動物細胞発現ベクターを作製し、Exp_i293 Expression System（A14635、Thermo Fisher Scientific

i c) で培地中に発現させた。その後、C末端に付加したヒスチジンタグを用いて、N i - N T A アガロース (1 4 3 - 0 9 7 6 3、F U J I F I L M W a k o) でアフィニティ精製し、精製タンパク質を得た。

[0203] [表2]

表2: ヒトgpNMB細胞外ドメインのN末端又はC末端欠失変異体

変異体番号	説明
hgpNMB_d03_1-251	hgpNMBの1～251からなるC末端欠失変異体
hgpNMB_d04_1-321	hgpNMBの1～321からなるC末端欠失変異体
hgpNMB_d05_1-375	hgpNMBの1～375からなるC末端欠失変異体
hgpNMB_d06_1-418	hgpNMBの1～418からなるC末端欠失変異体
hgpNMB_d07_76-498	hgpNMBの76～498からなるN末端欠失変異体
hgpNMB_d13_1-412	hgpNMBの1～412からなるC末端欠失変異体
hgpNMB_d14_1-406	hgpNMBの1～406からなるC末端欠失変異体
hgpNMB_d15_1-400	hgpNMBの1～400からなるC末端欠失変異体
hgpNMB_d16_1-394	hgpNMBの1～394からなるC末端欠失変異体
hgpNMB_d17_1-388	hgpNMBの1～388からなるC末端欠失変異体
hgpNMB_d18_1-382	hgpNMBの1～382からなるC末端欠失変異体
hgpNMB_d19_1-234	hgpNMBの1～234からなるC末端欠失変異体

[0204] 次に、E L I S A 用 9 6 ウェルプレートに 1 7 n m o l / L の精製組換えヒト可溶性 g p N M B (配列番号 2 2 1)、上記の表 2 に示したヒト g p N M B 細胞外ドメインの N 末端欠失変異体 (h g p N M B _ d 0 7 _ 7 6 - 4 9 8) 及び C 末端欠失変異体 (h g p N M B _ d 0 3 _ 1 - 2 5 1、h g p N M B _ d 0 4 _ 1 - 3 2 1、h g p N M B _ d 0 5 _ 1 - 3 7 5、h g p N M B _ d 0 6 _ 1 - 4 1 8、h g p N M B _ d 1 3 _ 1 - 4 1 2、h g p N M B _ d 1 4 _ 1 - 4 0 6、h g p N M B _ d 1 5 _ 1 - 4 0 0、h g p N M B _ d 1 6 _ 1 - 3 9 4、h g p N M B _ d 1 7 _ 1 - 3 8 8、h g p N M B _ d 1 8 _ 1 - 3 8 2、及び h g p N M B _ d 1 9 _ 1 - 2 3 4)、並びに精製組換えマウス可溶性 g p N M B (配列番号 2 2 3) をそれぞれ 1 0 0 μ L / ウェルで添加し、室温で 9 0 分静置した。その後 3 % B S A / P B S でブロッキングを行い、抗原 E L I S A プレートを作製した。

[0205] 抗原 E L I S A プレートのブロッキング液を除去して、抗 g p N M B 抗体

希釈液（3%BSA/PBS溶液）を50 μ L/ウェルで添加し、室温にて1時間反応させた。その後、洗浄液にて洗浄した後、マウスIgGに特異的に反応する抗体、抗マウスIgG抗体-ALPコンジュゲート（SBA、1050-04）を50 μ L/ウェルで添加し、室温にて1時間反応させた。基質（PNPP）を100 μ L/ウェルで添加し、室温にて1時間反応させ、405～550nmの吸光度を算出した。得られた吸光度の値を結合活性として評価した。

[0206] 〔実施例5〕抗gpNMB抗体のエピトープの決定（抗原ELISA）：

実施例1で取得した各抗gpNMB抗体のgpNMBに対するエピトープを決定するため、以下の実験を実施した。

[0207] まず、下記表3に示すヒトgpNMB細胞外ドメインのC末端欠失変異体（hgpnmb__d19__1-234）及び点突然変異体（hgpnmb__d22__K245A、hgpnmb__d23__D252A、hgpnmb__d24__E253A、hgpnmb__d25__D264A、hgpnmb__d26__H272A、hgpnmb__d28__H297A、hgpnmb__d30__H376A、hgpnmb__d31__D247A__R248A、hgpnmb__d34__D287A、hgpnmb__d35__H301A、hgpnmb__d36__R331A__K334A、hgpnmb__d37__K344A__D347A、hgpnmb__d38__D356A、hgpnmb__d39__E360A、hgpnmb__d40__E367A、及びhgpnmb__d41__R373A）を作製した。精製gpNMBタンパク質は、gpNMB遺伝子を挿入した一過性動物細胞発現ベクターを作製し、Exp293 Expression System（A14635、ThermoFisher Scientific）で培地中に発現させた。その後、C末端に付加したヒスチジンタグを用いて、Ni-NTAアガロース（143-09763、FUJIFILM Wako）でアフィニティ精製し、精製タンパク質を得た。なお、これらのヒトgpNMB細胞外ドメインのC末端欠失変異体及び点突然変異体の概要を表3に示した。

[0208] [表3]

表3: ヒトg p NMB細胞外ドメインのC末端欠失変異体及び点突然変異体

変異体番号	説明
hgpNMB_d19_1-234	hgpNMBの1～234からなるC末端欠失変異体
hgpNMB_d22_K245A	hgpNMBのK245A点変異体
hgpNMB_d23_D252A	hgpNMBのD252A点変異体
hgpNMB_d24_E253A	hgpNMBのE253A点変異体
hgpNMB_d25_D264A	hgpNMBのD264A点変異体
hgpNMB_d26_H272A	hgpNMBのH272A点変異体
hgpNMB_d28_H297A	hgpNMBのH297A点変異体
hgpNMB_d30_H376A	hgpNMBのH376A点変異体
hgpNMBd31_D247A_R248A	hgpNMBのD247A及びR248A点変異体
hgpNMB_d34_D287A	hgpNMBのD287A点変異体
hgpNMB_d35_H301A	hgpNMBのH301A点変異体
hgpNMB_d36_R331A_K334A	hgpNMBのR331A及びK334A点変異体
hgpNMB_d37_K344A_D347A	hgpNMBのK344A及びD347A点変異体
hgpNMB_d38_D356A	hgpNMBのD356A点変異体
hgpNMB_d39_E360A	hgpNMBのE360A点変異体
hgpNMB_d40_E367A	hgpNMBのE367A点変異体
hgpNMB_d41_R373A	hgpNMBのR373A点変異体

[0209] これらのヒト g p NMB細胞外ドメインアラニン点変異体を用いて、実施例4で示した手順と同様の手順で抗原E L I S A解析を行い、各抗g p NMB抗体の結合性を評価した。具体的には、上記の表2に示したヒトg p NMB細胞外ドメインのC末端欠失変異体及びアラニン点変異体の各々をE L I S A用96ウェルプレートに17nmol/Lの濃度で100μL/ウェルで添加し、室温で90分静置した。その後3%BSA/PBSでブロッキングを行い、抗原E L I S Aプレートを作製した。

[0210] 抗原E L I S Aプレートのブロッキング液を除去して、抗g p NMB抗体希釈液(3%BSA/PBS溶液)を50μL/ウェルで添加し、室温にて1時間反応させた。その後、洗浄液にて洗浄した後、マウスIgGに特異的に反応する抗体、抗マウスIgG抗体-ALPコンジュゲート(SBA、1050-04)を50μL/ウェルで添加し、室温にて1時間反応させた。基質(PNPP)を100μL/ウェルで添加し、室温にて1時間反応させ、

405～550 nmの吸光度を算出した。得られた吸光度の値を結合活性として評価した。2 nM濃度における吸光度において、最大吸光度を示した変異体と比較して50%以上吸光度が低下した変異体を+と記載し、50%以上の吸光度を示した変異体を-と記載した。結果を下記の表4に示した。

[0211] [表4]

表4: ヒトgpNMB細胞外ドメイン変異体に対する
各抗gpNMB抗体クローンのELISA結合解析結果

	GPN 05-1	GPN 06-1	GPN 07-1	GPN 09-1	GPN 11-10	GPN 15-2	GPN 15-3	GPN 18-4
22-234_N末	-	-	-	-	-	-	-	-
K245A	-	-	-	-	-	-	-	-
D252A	-	-	-	-	-	-	-	-
E253A	-	-	-	-	-	-	-	-
K257A,D258A	-	-	-	+	+	-	-	-
D264A	-	-	-	-	-	-	-	-
H268A,D269A	-	-	+	-	-	-	-	-
H272A	-	-	-	-	-	-	-	-
K282A	-	+	+	-	-	-	-	-
H297A	-	-	-	-	-	-	-	-
H376A	-	-	-	-	-	-	-	-
D247A,R248A	-	-	-	-	-	-	-	-
D287A	+	+	+	+	+	+	+	+
H301A	+	+	+	+	+	+	+	+
K316A	-	+	+	-	-	-	-	-
R331A,K334A	-	-	-	-	-	-	-	-
K344A,D347A	-	-	-	-	-	-	-	-
D356A	-	-	-	-	-	-	-	-
E360A	-	-	-	-	-	-	-	-
E367A	-	-	-	-	-	-	-	-
R373A	-	-	-	-	-	-	-	-
E385A	-	-	-	+	+	-	-	-

[0212] さらに、ヒトgpNMB細胞外ドメインのC末端欠失変異体（hg p NMB__d19__1-234）に結合した抗gpNMB抗体を使用して、N末端側のヒトgpNMB細胞外ドメインアラニン点変異体に対する結合性を抗原ELISAで同様に解析した。

[0213] まず、下記の表5に示すヒトgpNMB細胞外ドメインのC末端欠失変異体（hg p NMB__d19__1-234）及び点突然変異体（hg p NMB

__d19__1-234、h g p N M B __d43__1-234__R77A、h g p N M B __d44__1-234__D85A、h g p N M B __d45__1-234__R104A、h g p N M B __d47__1-234__E117A、K118A、h g p N M B __d48__1-234__R121A、E123A、h g p N M B __d49__1-234__D129A、h g p N M B __d50__1-234__E140A、D141A、h g p N M B __d51__1-234__D143A、E145A、h g p N M B __d52__1-234__H152A、H153A、h g p N M B __d53__1-234__D158A、K160A、h g p N M B __d54__1-234__H164A、H165A、h g p N M B __d55__1-234__R169A、h g p N M B __d58__1-234__R189A、h g p N M B __d59__1-234__R193A、h g p N M B __d61__1-234__R214A、R215A、及びh g p N M B __d64__1-234__D109A) を作製した。精製g p N M Bタンパク質は、g p N M B遺伝子を挿入した一過性動物細胞発現ベクターを作製し、E x p i 2 9 3 E x p r e s s i o n S y s t e m (A14635、T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c) で培地中に発現させた。その後、C末端に付加したヒスチジンタグを用いて、N i - N T A アガロース(143-09763、F U J I F I L M W a k o) でアフィニティ精製し、精製タンパク質を得た。なお、これらのヒトg p N M B細胞外ドメインのC末端欠失変異体及び点突然変異体の概要を下記の表5に示した。

[0214]

[表5]

表5: ヒトg p NMB細胞外ドメインのC末端欠失変異体及び点突然変異体

変異体番号	説明
hgpNMB_d19_1-234	hgpNMBの1～234からなるC末端欠失変異体
hgpNMB_d43_1-234_R77A	hgpNMBの1～234のR77A点変異体
hgpNMB_d44_1-234_D85A	hgpNMBの1～234のD85A点変異体
hgpNMB_d45_1-234_R104A	hgpNMBの1～234のR104A点変異体
hgpNMB_d47_1-234_E117A,K118A	hgpNMBの1～234のE117A及びK118A点変異体
hgpNMB_d48_1-234_R121A,E123A	hgpNMBの1～234のR121A及びE123A点変異体
hgpNMB_d49_1-234_D129A	hgpNMBの1～234のD129A点変異体
hgpNMB_d50_1-234_E140A,D141A	hgpNMBの1～234のE140A及びD141A点変異体
hgpNMB_d51_1-234_D143A,E145A	hgpNMBの1～234のD143A及びE145A点変異体
hgpNMB_d52_1-234_H152A,H153A	hgpNMBの1～234のH152A及びH153A点変異体
hgpNMB_d53_1-234_D158A,K160A	hgpNMBの1～234のD158A及びK160A点変異体
hgpNMB_d54_1-234_H164A,H165A	hgpNMBの1～234のH164A及びH165A点変異体
hgpNMB_d55_1-234_R169A	hgpNMBの1～234のR169A点変異体
hgpNMB_d58_1-234_R189A	hgpNMBの1～234のR189A点変異体
hgpNMB_d59_1-234_R193A	hgpNMBの1～234のR193A点変異体
hgpNMB_d61_1-234_R214A,R215A	hgpNMBの1～234のR214A及びR215A点変異体
hgpNMB_d64_1-234_D109A	hgpNMBの1～234のD109A点変異体

[0215] これらのヒト g p NMB細胞外ドメインアラニン点変異体を用いて、実施例4で示した手順と同様の手順で抗原 E L I S A解析を行い、各抗 g p NMB抗体の結合性を評価した。具体的には、上記の表5に示したC末端欠失変異体及び各 g p NMBアラニン点変異体を E L I S A用96ウェルプレートに17nmol/Lの濃度で100μL/ウェルで添加し、室温で90分静置した。その後3%BSA/PBSでブロッキングを行い、抗原 E L I S Aプレートを作製した。

[0216] 抗原 E L I S Aプレートのブロッキング液を除去して、抗 g p NMB抗体希釈液（3%BSA/PBS溶液）を50μL/ウェルで添加し、室温にて1時間反応させた。その後、洗浄液にて洗浄した後、マウスIgGに特異的に反応する抗体、抗マウスIgG抗体-A L Pコンジュゲート（SBA、1050-04）を50μL/ウェルで添加し、室温にて1時間反応させた。基質（PNPP）を100μL/ウェルで添加し、室温にて1時間反応させ、405～550nmの吸光度を算出した。得られた吸光度の値を結合活性と

して評価した。結果を下記の表6に示した（なお、前述のように、配列番号215に示すアミノ酸配列中、第1～21位のアミノ酸残基はシグナルペプチドを構成し、第22位以降のアミノ酸残基がヒトgpNMB細胞外ドメインの単離ペプチドを構成する。これに伴い、下記の表6に示す各変異体タンパク質も第22位のアミノ酸残基から開始している。）。上記のC末端欠失変異体（hg p NMB__d19__22-234）に対する結合性を100%として、結合活性が50%以下となった場合に+を表記した。50%以上の結合活性を維持した場合は-を表記した。

[0217] [表6]

表6: ヒトgpNMB細胞外ドメイン変異体に対する 各抗gpNMB抗体クローンのELISA結合解析結果					
gpNMB変異体 タンパク質	GPN 18-1	GPN 18-2	GPN 18-5	GPN 18-6	GPN 18-7
22-234_N末	-	-	-	-	-
22-234_R77A	-	-	-	-	-
22-234_D85A	-	-	+	-	-
22-234_R104A	-	-	-	-	-
22-234_D109A	-	-	-	-	-
22-234_E117A,K118A	-	-	-	-	-
22-234_R121A,E123A	-	-	-	-	-
22-234_D129A	-	-	-	-	-
22-234_E140A,D141A	-	-	-	-	-
22-234_D143A,E145A	-	-	-	-	-
22-234_H152A,H153A	-	-	-	-	-
22-234_D158A,K160A	-	-	-	-	-
22-234_H164A,H165A	-	-	-	-	-
22-234_R169A	-	-	-	-	-
22-234_K186A	-	-	-	+	-
22-234_R189A	-	-	-	-	-
22-234_R193A	-	-	-	-	-
22-234_R214A,R215A	+	+	-	+	+
22-234_H216A, R218A	+	+	-	-	+

[0218] 精製gpNMB変異体の安定性と、結合性に影響を与えた変異部位を考慮して、各抗gpNMB抗体のエピトープを決定した。

その結果、抗体クローンGPN18-1、GPN18-2、GPN18-

6、及びGPN18-7は、PMEL-CAF様領域に存在するアミノ酸（R214及び／又はR215）と相互作用することが明らかとなった。一方、抗体クローンGPN18-5は、さらにN末端部分を認識することが判明した。抗体クローン1-5Eは、論文報告（非特許文献36）で明らかにされているワクチンペプチドを免疫して得られた抗gpNMB抗体であり、認識エピトープはN末端のアミノ酸残基63-71位の「RRGDGRWKD」である。

[0219] 「実施例6」組換え抗gpNMB抗体の製造：

実施例2で得られた抗gpNMB抗体のH鎖をコードする遺伝子配列及びL鎖をコードする遺伝子配列それぞれにシグナル配列をコードする遺伝子配列を5'末端に付加した遺伝子配列を動物細胞発現ベクターpcDNA3.4に挿入したプラスミドを作製し、ExpichO Expression System (A29133、Thermo Fisher Scientific) を使用して一過性発現させ、培地中に抗体を分泌させた。その後、培養上清を回収し、プロテインAカラム (Ab-Catcher、プロテノバ)、ゲル濾過カラム (Superdex 200 Increase、Cytiva) を用いて精製した。

[0220] 「実施例7(1)」表面プラズモン共鳴法による抗gpNMB抗体の相互作用解析1：

実施例1で取得した各抗gpNMB抗体クローンのgpNMBに対する結合特性（結合速度及び解離速度）の比較検討のため、に表面プラズモン共鳴 (SPR) 法により測定した。具体的には以下に記載する条件により実施した。

[0221] 測定システムとしては、BIAcore T200システムを使用した。センサーチップCM5 (BR-1005-30、Cytiva) の全フローセルに、抗Hisモノクローナル抗体を、Amine Coupling Kit (BR-1000-50、GE) 及びHis Capture Kit (28-9950-56、Cytiva) で、約5000RU前後固定し、使用し

た。ランニングバッファーはHBS-EP+ (BR-1006-69、Cytiva)を使用した。

- [0222] リガンドとしては、組換えヒトgpNMB-FLAG-His (配列番号221) 又は組換えマウスgpNMB-FLAG-His (配列番号223) を測定システムに捕捉し使用した。アナライトとしては、100nmol/L濃度の抗gpNMB抗体クローンを使用した。アナライト陰性対照としては、志賀毒素2 (Shiga toxin 2) 抗体 (11E10) 又は対照マウスIgG1 (leinco:Pro#M1411) を使用した。
- [0223] 測定システムの温度は25℃に設定した。リガンドとして、フローセル (2) の抗Hisモノクローナル抗体に組換えヒトgpNMB-FLAG-Hisを100RU以下となることを目標として反応させた。フローセル (4) の抗Hisモノクローナル抗体に組換えマウスgpNMB-FLAG-Hisを100RU以下となることを目標として反応させた。流速20μL/分とし、10nmol/Lの精製マウスIgG2a、κ、Isotype Ctrl、Clone:MG2a-53 (401502、BioLegend、以下ctrl IgG2a) を1分間反応させ、HBS-EP+を10分以上流した。アナライトをHBS-EP+で希釈し (100nmol/L) とし、全フローセルに600秒ずつ反応させ結合曲線を得た後、HBS-EP+を600秒反応させ解離曲線を得た。
- [0224] 反応終了後、再生用バッファー1 (0.2%SDS)、再生用バッファー2 (100mmol/L Tris-HCl (pH8.5)、1mol/L NaCl、15mmol/L MgCl₂) 及び再生用バッファー3 (10mmol/L グリシン-HCl (pH1.5)) を各1分間反応させ、測定システムのgpNMB-FLAG-Hisを除去し洗浄した。Biacore T200 Evaluation software (ver2.0) を使用して、1:1 BindingのModelで解析し、序数として、結合速度値 (Ass:1/Ms)、結合安定値 (Diss:1/s) 及び平衡解離値 (Diss/Ass:M) を数値化した。結果を表7に示す。

[0225] [表7]

表7: ヒトgpNMB及びマウスgpNMBに対する
各抗gpNMB抗体クローンのSPR相互作用解析結果I

抗体クローン		ヒトgpNMB			マウスgpNMB		
サンプル	認識部位	Ass. (1/Ms)	Diss (1/s)	Diss/Ass (M)	Ass (1/Ms)	Diss (1/s)	Diss/Ass (M)
GPN05-1	PKD	4.8.E+04	1.6.E-04	3.3.E-09	6.1.E+04	1.3.E-03	2.0.E-08
GPN06-1	PKD	3.4.E+05	4.9.E-04	1.4.E-09	1.5.E+05	1.8.E-03	1.2.E-08
GPN09-1	PKD	-	-	-	1.6.E+05	4.2.E-04	2.6.E-09
GPN11-10	PKD	8.1.E+04	1.0.E-03	1.3.E-08	7.5.E+04	3.7.E-04	4.9.E-09
GPN15-2	PKD	1.7.E+05	6.0.E-07	3.5.E-12	1.4.E+05	2.8.E-04	2.0.E-09
GPN15-3	PKD	1.3.E+05	3.7.E-04	2.9.E-09	1.3.E+05	3.6.E-04	2.9.E-09
GPN18-4	PKD	4.7.E+04	1.5.E-05	3.2.E-10	3.0.E+04	1.2.E-04	3.8.E-09
GPN18-1	PMEL-CAF様	3.8.E+04	5.4.E-04	1.4.E-08	3.8.E+04	9.1.E-04	2.4.E-08
GPN18-2	PMEL-CAF様	3.1.E+04	6.8.E-05	2.2.E-09	2.4.E+04	7.9.E-05	3.3.E-09
GPN18-6	PMEL-CAF様	2.7.E+04	6.5.E-04	2.4.E-08	3.2.E+04	9.8.E-04	3.1.E-08
GPN18-7	PMEL-CAF様	2.6.E+04	5.9.E-04	2.3.E-08	2.0.E+04	9.9.E-04	4.9.E-08
GPN18-5	N-frg.	1.5.E+05	3.0.E-04	2.0.E-09	9.1.E+04	7.0.E-04	7.7.E-09
1-5E	N末端 ワクチン	-	-	-	6.7.E+05	6.1.E-03	9.1.E-09

[0226] [実施例7(2)] 表面プラズモン共鳴法による抗gpNMB抗体の相互作用解析2:

実施例1で取得した抗gpNMB抗体クローンのうち、GPN05-1及びGPN06-1について、gpNMBに対する濃度依存的な結合特性（結合速度及び解離速度）を、検討のために表面プラズモン共鳴（SPR）法により測定した。具体的には、以下に記載する条件の他は、実施例7(1)と同様の条件により実施した。

[0227] センサーチップCM3（BR-1005-36、Cytiva）を使用し、アナライトとしては、抗gpNMB抗体クローンGPN05-1及びGPN06-1を各々種々の濃度で使用した。測定条件は、シングルサイクルキネティクス法を使用した。各濃度のアナライトを450秒ずつ反応させ結合

曲線を得た後、HBS-EP+を600秒反応させ解離曲線を得た。反応終了後、再生用バッファー1（0.2%SDS）、再生用バッファー2（100mmol/L Tris-HCl（pH8.5）、1mol/L NaCl、15mmol/L MgCl₂）及び再生用バッファー3（10mmol/L グリシン-HCl（pH1.5））を各1分間反応させ、測定システムのgpNMB-FLAG-Hisを除去し洗浄した。Biacore T200 Evaluation software（ver2.0）を使用して、1:1 BindingのModelで解析し、解離速度定数（ka、1/Ms）、結合速度定数（kd、1/s）及び解離定数（KD、M）を算出した。結果を表8に示す。

[0228] [表8]

表8: ヒトgpNMB及びマウスgpNMBに対する
各抗gpNMB抗体クローンのSPR相互作用解析結果2

リガンド	クローン	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
ヒトgpNMB	GPN05-1	9.69E+04	3.55E-05	3.66E-10
	GPN06-1	5.19E+05	2.53E-04	4.88E-10
マウスgpNMB	GPN05-1	3.61E+04	3.07E-04	8.50E-09
	GPN06-1	1.74E+05	8.79E-04	5.05E-09

[0229] 〔実施例8〕アルツハイマー病モデルマウス（APP^{osk}マウス）における抗gpNMB抗体（市販ポリクローナル抗体）の結合解析：

21～25ヶ月齢のAPP^{osk}マウスを還流固定し、脳を取り出して、5μm厚のパラフィン切片を作製した。脱パラフィン後、脳切片をクエン酸緩衝液（pH6）中で30分間ボイルして抗原を賦活化したのち、市販の抗gpNMBポリクローナル抗体AF2330（2μg/mL）+FITC-ロバ抗ヤギIgG抗体（Jackson Lab）とIba1抗体（WAKO、5μg/mL）+Rhodamine-ロバ抗ウサギIgG抗体（Jackson Lab）で二重染色した。リボフスチン消光剤TrueBlack plus（Biotium）で室温10分間処理後、DAPI含有封入剤（Vector）で封入した。

[0230] その結果、21～25ヶ月齢のAPP^{osk}マウスの脳切片では、Iba1陽性のミクログリアの中に抗gpNMB抗体（AF2330、R&D社）で染まる細胞が存在し、gpNMB陽性細胞のほぼすべてがIba1陽性のミクログリアであった。また、形態変化を起こしたミクログリアがgpNMB陽性ミクログリアであった。以上のことからアルツハイマー病モデルマウス（APP^{osk}マウス）においてgpNMB陽性ミクログリアが出現することが確認された。

[0231] 〔実施例9〕アルツハイマー病モデルマウス（APP^{osk}マウス）における抗gpNMB抗体（GPN05-1、GPN06-1）の投与によるgpNMB陽性ミクログリアの低減：

19～20ヶ月齢のAPP^{osk}マウスを2群（各群とも雄2匹、雌3匹）に分け、それぞれの群に実施例1で取得した異なる抗gpNMB抗体クローン（GPN05-1、GPN06-1）を週1回、計5回腹腔内投与（各回1mg/400μL、PBS中）した。最終投与の4日後にマウスを還流固定し、脳を取り出して、5μm厚のパラフィン切片を作製した。脱パラフィン後、脳切片をクエン酸緩衝液（pH6）中で30分間ボイルして抗原を賦活化したのち、抗マウスgpNMBヤギポリクローナル抗体（R&D systems、#AF2330、2μg/mL）+FITC-ロバ抗ヤギIgG抗体（Jackson Lab）とIba1抗体（WAKO、5μg/mL）+Rhodamine-ロバ抗ウサギIgG抗体（Jackson Lab）で二重染色した。リボフスチン消光剤TrueBlackplus（Biotium）で室温10分間処理後、DAPI含有封入剤（Vector）で封入した。なお、GPN06-1投与群の雄1匹は4回目の投与の翌週に死亡した。また、コントロールとして、21～25ヶ月齢のAPP^{osk}マウスの脳切片（3匹分）を同様に染色した。得られた染色写真を図2に示した。図2（A）はコントロール、図2（B）はGPN05-1投与群、図2（C）はGPN06-1投与群をそれぞれ示す。

[0232] その結果、コントロールのAPP^{osk}マウスでは、海馬（CA2-CA

3)、嗅内皮質 (Ent)、歯状回 (DG) に抗マウス gpNMB ヤギポリクローナル抗体に検出された gpNMB 陽性のミクログリア (Iba1 陽性) が数多く見られた。一方で GPN05-1 投与群では gpNMB 陽性のミクログリアが減少し、GPN06-1 投与群ではほとんど見られなくなった。以上の結果から、抗 gpNMB モノクローナル抗体 GPN05-1、GPN06-1 投与によって脳内の gpNMB 陽性ミクログリアが低減されたことが確認された。

[0233] さらに、上記免疫染色結果に関して、統計学的な解析を実施した。具体的には、Iba1 の染色シグナルと、gpNMB と Iba1 の共染色シグナルをそれぞれ抽出し、画像処理ソフトウェア ImageJ を使用して、それぞれの染色領域の面積を定量した。得られた数値をもとにグラフ化を行った。得られたグラフを図3に示した。なお、有意差検定は StatView を用いて、3群のANOVAにて解析した。Fisher's PLSDによるp値0.05を下回ったもののみを「有意差あり」として、グラフ中にそのp値を記載した。

[0234] 以上の解析結果から、抗 gpNMB モノクローナル抗体 GPN05-1、GPN06-1 投与によって、統計学的な有意差をもって脳内の gpNMB 陽性ミクログリアが低減されたことが確認された。このことは、gpNMB 陽性ミクログリアの少なくとも一部をなす機能異常ミクログリアが低減されたことを意味する。また、こうした機能異常ミクログリアの低減効果は、後述の実施例10に示すようにA β オリゴマーが除去され、後述の実施例11に示すようにシナプス数が回復した結果からも支持される。

[0235] 「実施例10」アルツハイマー病モデルマウス (APP^{osk}マウス) における抗 gpNMB 抗体 (GPN05-1, GPN06-1) の投与によるA β オリゴマーの除去:

19~20ヶ月齢のAPP^{osk}マウスを2群 (各群とも雄2匹、雌3匹) に分け、それぞれの群に実施例1で取得した異なる抗 gpNMB 抗体 (GPN05-1, GPN06-1) を週1回、計5回腹腔内投与 (各回1mg

／400 μ L、PBS中)した。最終投与の4日後にマウスを還流固定し、脳を取り出して、5 μ m厚のパラフィン切片を作製した。脱パラフィン後、脳切片を塩酸 (pH 2) 中で10分間ボイル後、A β オリゴマー抗体11A1 (IBL、1 μ g/mL) + Biotin-ウマ抗マウスIgG抗体 (Vector) + ABC elite (Vector) + DABで染色した。また、コントロールとして、21～25ヶ月齢のAPP^{osk}マウスの脳切片 (3匹分) を同様に染色した。結果を図4に示した。図4 (A) はコントロール、図4 (B) はGPN05-1投与群、図4 (C) はGPN06-1投与群をそれぞれ示す。

[0236] その結果、コントロールのAPP^{osk}マウスでは、海馬、歯状回にA β オリゴマー陽性細胞が見られた。GPN05-1投与群では11A1陽性の細胞が減少し、GPN06-1投与群ではほとんど見られなくなった。以上の結果から、抗gpNMB抗体投与によって脳内のA β オリゴマーが除去されたことが確認された。

[0237] 「実施例11」アルツハイマー病モデルマウス (APP^{osk}マウス) における抗gpNMB抗体 (GPN05-1, GPN06-1) の投与によるシナプスの回復：

19～20ヶ月齢のAPP^{osk}マウスを2群 (各群とも雄2匹、雌3匹) に分け、それぞれの群に実施例1で取得した異なる抗gpNMB抗体 (GPN05-1, GPN06-1) を週1回、計5回腹腔内投与 (各回1mg／400 μ L、PBS中) した。最終投与の4日後にマウスを還流固定し、脳を取り出して、5 μ m厚のパラフィン切片を作製した。脱パラフィン後、脳切片をクエン酸緩衝液 (pH 6) 中で30分間ボイル後、シナプトフィジン抗体SVP-38 (Sigma、200倍希釈) + FITC-ヤギ抗マウスIgG抗体 (Jackson Lab) で染色した。また、コントロール1として、20ヶ月齢の非遺伝子組換え (Non-Tg) マウスの脳切片 (2匹分)、及び、コントロール2として、21～25ヶ月齢のAPP^{osk}マウスの脳切片 (3匹分) を同様に染色した。得られた染色写真を図5に示し

た。図5 (A) はコントロール1 (Non-Tgマウス)、図5 (B) はコントロール2 (APP^{osk}マウス)、図5 (C) はGPN05-1投与群、図5 (D) はGPN06-1投与群をそれぞれ示す。

[0238] その結果、コントロール1の非遺伝子組換え (Non-Tg) マウスと比較して、コントロール2のAPP^{osk}マウスでは、海馬苔状線維のシナプトフィジンの減少が見られた。GPN05-1投与群ではシナプトフィジンは僅かながら回復し、GPN06-1投与群では顕著に回復した。シナプトフィジンの回復はA β オリゴマーの除去と相関しているように見えた。以上の結果から、抗gpNMB抗体投与によってアルツハイマー病モデルマウスの脳内の神経細胞のシナプス数が増加し、神経機能が回復していることが示唆された。

[0239] 〔実施例12-1〕アルツハイマー病モデルマウス (APP^{osk}マウス) における抗gpNMB抗体 (GPN09-1、GPN11-10、GPN15-2、GPN15-3、GPN18-2、11E10) の投与による薬効評価 (A β オリゴマーの除去) :

19~20ヶ月齢のAPP^{osk}マウスを6群 (各群とも4匹) に分け、それぞれの群に実施例1で取得した異なる抗gpNMB抗体 (GPN09-1、GPN11-10、GPN15-2、GPN15-3、GPN18-2) 及びコントロール抗体11E10 (抗シガ毒素マウスモノクローナル抗体) を週1回、計5回腹腔内投与 (各回1mg/400 μ L、PBS中) した。最終投与の4日後にマウスを還流固定し、脳を取り出して、5 μ m厚のパラフィン切片を作製した。脱パラフィン後、脳切片を塩酸 (pH2) 中で10分間ボイル後、A β オリゴマー抗体11A1 (IBL、1 μ g/mL) + Biotin-ウマ抗マウスIgG抗体 (Vector) + ABC elite (Vector) + DABで染色した。

[0240] 得られた染色写真を図6に示す。図6 (A) はコントロール抗体11E10、図6 (B) はGPN09-1投与群、図6 (C) はGPN11-10投与群、図6 (D) はGPN15-2投与群、図6 (E) はGPN15-3投

与群、図6（F）はGPN18-2投与群をそれぞれ示す。

[0241] さらに図6の免疫染色写真について、細胞内A β オリゴマー染色の定量化を行い、有意差検定はStatViewを用いて、3群のANOVAにて解析した。結果を図7のグラフに示す。Fisher's PLSDによるp値0.05を下回ったもののみを「有意差あり」として、グラフ中にそのp値を記載した。その結果、コントロール抗体投与群のAPP^{osk}マウスでは、大脳皮質に11A1染色陽性細胞が見られた。一方、GPN09-1、GPN11-10、GPN15-2、GPN15-3投与群では11A1染色陽性の細胞が減少し、GPN18-2投与群ではほとんど見られなくなった。以上の結果から、抗gpNMB抗体投与によって脳内のA β オリゴマーが除去されたことが確認された。

[0242] さらに、GPN18-2投与APP^{osk}マウスおよび同月齢付近のNon-Tgマウスの海馬切片を使用して、実施例11の方法に従って、シナプトフィジン染色を行った。得られた染色写真を図8に示す。図8（A）はコントロール（Non-Tgマウス）、図8（B）はGPN18-2投与群をそれぞれ示す。その結果、GPN18-2投与APP^{osk}マウスの海馬においてシナプス数がNon-Tgレベルまで回復していることが観察された。

[0243] 「実施例12-2」アルツハイマー病モデルマウス（APP^{osk}マウス）における抗gpNMB抗体（GPN18-1、GPN18-6、GPN18-7）の投与による薬効評価（A β オリゴマーの除去）：

18～20ヶ月齢のAPP^{osk}マウスを3群（各群5匹）に分け、それぞれの群に実施例1で取得した異なる抗gpNMB抗体（GPN18-1、GPN18-6、GPN18-7）を週1回、計5回腹腔内投与（各回1mg/400 μ L、PBS中）した。最終投与の4日後にマウスを還流固定し、脳を取り出して、5 μ m厚のパラフィン切片を作製した。脱パラフィン後、脳切片を塩酸（pH2）中で10分間ボイル後、A β オリゴマー抗体11A1（IBL、1 μ g/mL）+Biotin-ウマ抗マウスIgG抗体（

Vector) + ABC elite (Vector) + DABで染色した。

[0244] 得られた染色写真を図9に示す。図9 (A) はAPP^{osk}マウスの非投与のコントロール、図9 (B) はGPN18-1投与群、図9 (C) はGPN18-6投与群、図9 (D) はGPN18-7投与群をそれぞれ示す。

[0245] さらに図9の免疫染色写真について、細胞内A β オリゴマー染色の定量化を行い、有意差検定はStatViewを用いて、3群のANOVAにて解析した。結果を図10のグラフに示す。Fisher's PLSDによるp値0.05を下回ったもののみを「有意差あり」として、グラフ中にそのp値を記載した。なお、統計解析に当たり、非投与のコントロールに関しては、本実験で用いた個体より得られた定量値を、実施例12-1のコントロール抗体投与群の4匹のデータの平均値に相当するものとして「補正用factor」を算出し、本実験で得られた全ての定量値にこのfactorを掛け算した補正值でもってグラフ作成&統計検定を行った。グラフ内でもコントロールを以前の実施例12-1のコントロール抗体投与群の4匹のデータに置き換えて示した。

[0246] その結果、コントロール抗体投与群のAPP^{osk}マウスでは、大脳皮質に11A1染色陽性細胞が多数観察された。一方、GPN18-1、GPN18-7投与群では11A1染色陽性の細胞が統計学的有意に減少した。また、GPN18-6投与群でも減少傾向が観察された。以上の結果から、PMEL-CAF様領域を認識するGPN18-1、GPN18-6、GPN18-7抗体においてGPN18-2抗体と同様に脳内のA β オリゴマー除去の薬効が示された。

[0247] 〔実施例12-3〕アルツハイマー病モデルマウス (APP^{osk}マウス) における抗gpNMB抗体 (GPN18-2、GPN06-1、GPN18-5、1-5E、抗BTVマウスモノクローナル抗体) の投与による薬効評価 (A β オリゴマーの除去) :

18~20ヶ月齢のAPP^{osk}マウスを5群 (各群5匹) に分け、それぞれの群に実施例1で取得した異なる抗gpNMB抗体 (GPN18-2、

GPN06-1、GPN18-5、1-5E) 及びコントロール抗体 (抗BTVマウスモノクローナル抗体 (Leinco Technologies, Inc.)) を週1回、計5回腹腔内投与 (各回1mg/400μL、PBS中) した。最終投与の4日後にマウスを還流固定し、脳を取り出して、5μm厚のパラフィン切片を作製した。脱パラフィン後、脳切片を塩酸 (pH2) 中で10分間ボイル後、Aβオリゴマー抗体11A1 (IBL、1μg/mL) +Biotin-ウマ抗マウスIgG抗体 (Vector) +ABC elite (Vector) +DABで染色した。

[0248] 得られた染色写真を図11に示す。図11(A)はコントロール抗体、図11(B)はGPN18-2投与群、図11(C)はGPN06-1投与群、図11(D)はGPN18-5投与群、図11(E)は1-5E投与群をそれぞれ示す。

[0249] さらに図11の免疫染色写真について、細胞内Aβオリゴマー染色の定量化を行い、有意差検定はStatViewを用いて、3群のANOVAにて解析した。結果を図12のグラフに示す。Fisher's PLSDによるp値0.05を下回ったもののみを「有意差あり」として、グラフ中にそのp値を記載した。

[0250] その結果、コントロール抗体投与群のAPP^{osk}マウスでは、大脳皮質に11A1染色陽性細胞が多数観察された。一方、GPN18-2およびGPN06-1投与群では11A1染色陽性の細胞が統計学的有意に減少した。その減少は、GPN18-5および1-5E投与群と比較しても統計学的有意に減少させた。以上の結果から、PMEL-CAF様領域を認識するGPN18-2抗体とPKD領域を認識するGPN06-1抗体は、N末端領域を認識するGPN18-5およびN末端領域のワクチンペプチドを認識する1-5E抗体と比較して脳内のAβオリゴマー除去の薬効が強いことが示された。

以上の比較実験から、脳内のAβオリゴマー除去に関して、N末端領域認識抗体よりもPMEL-CAF様領域およびPKD領域を認識する抗体が有

効であることが示された。

[0251] 〔参考例 1〕新規アルツハイマー病モデルマウスの作製：

アミロイドプラークを呈する T g 2 5 7 6 マウス（スウェーデン変異 A P P 導入マウス）とヒトタウ（野生型）を発現する T a u 2 6 4 を掛け合わせて新規のアルツハイマー病モデルマウス（T g 2 5 7 6 / T a u 2 6 4 マウス（A P P / T a u - T g））を作製した。

[0252] 9 か月齢の A P P / T a u - T g における病理解析を行ったところ、抗 A β 抗体によるアミロイドプラーク形成と A T 8 抗体によるリン酸化タウの蓄積が観察された。さらに抗 g p N M B 抗体（R & D 社、ヤギポリクローナル抗体）とミクログリアを検出する I b a 1 抗体によって g p N M B 陽性ミクログリアの出現も確認された。

[0253] 〔実施例 1 3〕抗 g p N M B 抗体の新規アルツハイマー病モデルマウス（A P P / T a u - T g）の認知機能改善評価：

参考例に記載したアルツハイマー病モデルマウス A P P / T a u - T g の 1 4 か月齢を使用して、本発明の抗 g p N M B 抗体の認知機能改善作用をモリス水迷路試験によって解析した。比較対象として同腹で生まれた 1 4 か月齢の N o n - T g （野生型マウス）を使用した。

[0254] ＜群構成＞

・評価抗体群 1：抗 g p N M B マウスモノクローナル抗体 G P N 0 6 - 1、0. 0 2 M ヒスチジンを含む 1 5 0 m M N a C l バッファー（p H 6. 5）中 2. 5 m g / m L の 0. 4 m L 腹腔内投与を週 1 回の頻度で合計 5 回投与した（n = 8）。

・評価抗体群 2：抗 g p N M B マウスモノクローナル抗体 G P N 1 8 - 2、0. 0 2 M ヒスチジンを含む 1 5 0 m M N a C l バッファー（p H 6. 5）中 2. 5 m g / m L の 0. 4 m L 腹腔内投与を週 1 回の頻度で合計 5 回投与した（n = 7）。

・コントロール抗体群：抗 B T V マウスモノクローナル抗体（Leinco Technologies, Inc.）、0. 0 2 M ヒスチジンを含む 1 5 0 m M N a C l バッファ

ー (pH 6.5) 中 2.5 mg/mL の 0.4 mL 腹腔内投与を週 1 回の頻度で合計 5 回投与した (n = 8)。

・ Non-Tg 群: 0.02 M ヒスチジンを含む 150 mM NaCl バッファー (pH 6.5) の 0.4 mL 腹腔内投与を週 1 回の頻度で合計 5 回投与した (n = 12)。

[0255] <水迷路試験>

・ 準備: 内径 100 cm、高さ 45 cm の黒色プール内に 16 cm 深の水をはった。水温は 21 ~ 23 °C に調整し、無色透明に保った。毎試行日 (trial day) 後に、糞の排除と、水の入替えを約 10 L ずつ行った。

[0256] ・ 獲得 (Acquisition) 試験: 15 cm 高の透明なプラットフォームを壁から 20 cm (中心より 30 cm) の位置に沈めた。プラットフォームを沈めた場所を含め 4 象限に区切り、マウスはプラットフォームのない 3 象限のいずれかからのみランダムに投入した。1 試行 60 秒を限度とし、5 試行/日で行った。1 試行の間隔は約 5 分。プラットフォームへ辿り着くまでの脱出時間 (escape time) をデータとして記録した。60 秒以内に逃避しないマウスについては、オペレーターの手によってプラットフォームへ誘導し、脱出時間は 60 秒として扱った。プラットフォーム上のマウスは 10 秒後にプールから取り除き、次の試行まで自由に行動させ、体を乾燥させた。日毎のマウスの成績には、5 試行の脱出時間の平均秒数を用いた。試験は 4 日間実施した。

[0257] コントロール群 (Non-Tg) の成績が安定した時点で獲得試験を終了し、翌日プローブ (probe) 試験を行った。

・ プローブ (probe) 試験: 獲得 (Acquisition) 試験の最終日の翌日、プラットフォームをプールから取り除き、60 秒間の自由遊泳をビデオカメラで撮影した。撮影されたビデオを観察し、自由遊泳中のマウスが 4 象限のうち、プラットフォームの存在した象限 (target quadrant) 内を泳いでいる時間を測定し、60 秒間におけるパーセンテージで表した。

[0258] 各試験の有意差検定は、反復測定 (repeated measure)、フィッシャーの

制約付最小有意差検定 (Fisher' s PLSD)、プローブ (probe) 試験の有意差検定はフィッシャーの制約付最小有意差検定 (Fisher' s PLSD) により行った。

[0259] 獲得 (Acquisition) 試験の結果を図 13 のグラフに示す。解析の結果、A P P / T a u - T g へのコントロール抗体群は、N o n - T g (野生型) と比較して、モリス水迷路試験において隠し踏み台へ到達する時間 (Escape Latency) が有意に長かった。一方、A P P / T a u - T g へ本発明の抗 g p N M B 抗体 : G P N 0 6 - 1 あるいは G P N 1 8 - 2 を投与した群では、統計学的有意に隠し踏み台への到達時間が短縮されることが示された。

[0260] プローブ (probe) 試験の結果を図 14 のグラフに示す。プローブ (probe) 試験においても獲得 (Acquisition) 試験と同様の結果であった。具体的には、A P P / T a u - T g へのコントロール抗体投与群は、N o n - T g (野生型) と比較して、隠し踏み台が存在した象限を泳ぎ回る時間が統計学的有意に少なく、G P N 0 6 - 1 あるいは G P N 1 8 - 2 を投与した群は、コントロール抗体投与群と比べて統計学的有意に隠し踏み台が存在した象限を泳ぎ回る時間が長かった。

[0261] これらの結果から、抗 g p N M B 抗体 : G P N 0 6 - 1、G P N 1 8 - 2 が統計学的な有意差をもって A P P / T a u - T g マウスの認知機能の低下を抑制し、又は回復させることが示された。

[0262] 〔実施例 14〕抗 g p N M B 抗体の新規アルツハイマー病モデルマウス (A P P / T a u - T g) の認知機能改善における用量依存性と病理解析 :

実施例 13 に記載したアルツハイマー病モデルマウス A P P / T a u - T g の 14 か月齢を使用して、本発明の抗 g p N M B 抗体の認知機能改善作用における用量依存性をモリス水迷路試験によって解析した。比較対象として同腹で生まれた 14 か月齢の N o n - T g (野生型マウス) を使用した。

[0263] ＜群構成＞

・評価抗体群 1 : 0.25 mg / mL 濃度の抗 g p N M B マウスモノクローナル抗体 G P N 1 8 - 2 の 0.02 M ヒスチジンを含む 150 mM N a C l

バッファー (pH 6.5) 溶液を、0.4 mL 腹腔内投与を週1回の頻度で合計5回投与した (n = 7)。

・評価抗体群2：2.5 mg/mL濃度の抗gpNMBマウスモノクローナル抗体GPN18-2の0.02Mヒスチジンを含む150mM NaClバッファー (pH 6.5) 溶液を、0.4 mL 腹腔内投与を週1回の頻度で合計5回投与した (n = 7)。

・コントロール抗体群：2.5 mg/mL濃度の抗BTVマウスモノクローナル抗体 (Leinco Technologies, Inc.) の0.02Mヒスチジンを含む150mM NaClバッファー (pH 6.5) 溶液を、0.4 mL 腹腔内投与を週1回の頻度で合計5回投与した (n = 6)。

・Non-Tg群：0.02Mヒスチジンを含む150mM NaClバッファー (pH 6.5) を、0.4 mL 腹腔内投与を週1回の頻度で合計5回投与した (n = 12)。

[0264] <水迷路試験>

・準備：内径100cm、高さ45cmの黒色プール内に16cm深の水をはった。水温は21~23℃に調整し、無色透明に保った。毎試行日 (trial day) 後に、糞の排除と、水の入替えを約10Lずつ行った。

[0265] ・獲得 (Acquisition) 試験：15cm高の透明なプラットフォームを壁から20cm (中心より30cm) の位置に沈めた。プラットフォームを沈めた場所を含め4象限に区切り、マウスはプラットフォームのない3象限のいずれかからのみランダムに投入した。1試行60秒を限度とし、5試行/日で行った。1試行の間隔は約5分間とした。プラットフォームへ辿り着くまでの脱出時間 (escape time) をデータとして記録した。60秒以内に逃避しないマウスについては、オペレーターの手によってプラットフォームへ誘導し、脱出時間は60秒として扱った。プラットフォーム上のマウスは10秒後にプールから取り除き、次の試行まで自由に行動させ、体を乾燥させた。日毎のマウスの成績には、5試行の脱出時間の平均秒数を用いた。試験は4日間実施した。

- [0266] コントロール群 (Non-Tg) の成績が安定した時点で獲得試験を終了し、翌日プローブ (probe) 試験を行った。
- ・ プローブ (probe) 試験：獲得 (Acquisition) 試験の最終日の翌日、プラットフォームをプールから取り除き、60秒間の自由遊泳をビデオカメラで撮影した。撮影されたビデオを観察し、自由遊泳中のマウスが4象限のうち、プラットフォームの存在した象限 (target quadrant) 内を泳いでいる時間を測定し、60秒間におけるパーセンテージで表した。
- [0267] 各試験の有意差検定は、反復測定 (repeated measure)、フィッシャーの制約付最小有意差検定 (Fisher's PLSD)、プローブ (probe) 試験の有意差検定はフィッシャーの制約付最小有意差検定 (Fisher's PLSD) により行った。
- [0268] 獲得 (Acquisition) 試験の結果を図15のグラフに示す。解析の結果、APP/Tau-Tgへのコントロール抗体群は、Non-Tg (野生型) と比較して、モリス水迷路試験において隠し踏み台へ到達する時間 (Escape Latency) が有意に長かった。一方、APP/Tau-Tgへ本発明の抗gpNMB抗体：GPN18-2を1mg/head投与した群では、統計学的有意に隠し踏み台への到達時間が短縮されることが示された。また、GPN18-2を0.1mg/head投与した群では、隠し踏み台への到達時間が短縮される傾向が示された。
- [0269] プローブ (probe) 試験の結果を図16のグラフに示す。プローブ (probe) 試験においても獲得 (Acquisition) 試験と同様の結果であった。具体的には、APP/Tau-Tgへのコントロール抗体投与群は、Non-Tg (野生型) と比較して、隠し踏み台が存在した象限を泳ぎ回る時間が統計学的有意に少なく、GPN18-2を1mg/head投与した群は、コントロール抗体投与群と比べて統計学的有意に隠し踏み台が存在した象限を泳ぎ回る時間が長かった。また、GPN18-2を0.1mg/head投与した群では、隠し踏み台が存在した象限を泳ぎ回る時間が長い傾向が示された。
- [0270] これらの結果から、抗gpNMB抗体：GPN18-2が用量依存的にA

PP/Tau-Tgマウスの認知機能の低下を抑制し、又は回復させることが示された。

[0271] <病理解析>

抗gpNMB抗体：GPN18-2を1mg/head投与した14か月齢のAPP/Tau-Tgマウス及びコントロール抗体を1mg/head投与した14か月齢のAPP/Tau-Tgマウス（比較対照）を還流固定し、脳を取り出して、5μm厚のパラフィン切片を作製した。脱パラ後、脳切片をクエン酸緩衝液（pH6）中で30分間ボイルして抗原を賦活化したのち、抗gpNMB抗体AF2330（R&D、2μg/mL）+FITC-ロバ抗ヤギIgG抗体（Jackson Lab）と抗Iba1抗体（WAKO、5μg/mL）+ローダミン-ロバ抗ウサギIgG抗体（Jackson Lab）で二重染色した。リボフスチン消光剤True Black plus（Biotium）で室温で10分間処理後、DAPI含有封入剤（Vector）で封入した。海馬と嗅内皮質を染色した結果を図17に示した。

[0272] また、Aβとリン酸化タウ染色も同時に行った。脳切片を塩酸（pH2）中で10分間ボイル後、AT8（phosphorylated tau, Invitrogen #MN1020）抗体+FITC-ヤギ抗マウスIgG抗体（Jackson Lab）と抗Aβ抗体β001（Aβ, Rb pAb: Lab made）+ローダミン-ヤギ抗ウサギIgG抗体（Jackson Lab）で2重染色した。リボフスチン消光剤True Black plus（Biotium）で室温で10分間処理後、DAPI含有封入剤（Vector）で封入した。海馬と嗅内皮質を染色した結果を図18に示した。

[0273] さらに、ガリアス銀染色により、NFT（神経原繊維変化）を検出した。その結果、GPN18-2を1mg/head投与した14か月齢のAPP/Tau-Tgマウスでは、コントロール抗体を1mg/head投与した14か月齢のAPP/Tau-Tgマウスと比較して、NFT形成が抑制されていた。結果を図19に示した。

[0274] 【実施例15】マウス抗gpNMB抗体：GPN06-1のヒト化デザイン

∴

抗g p NMB抗体：G P N O 6－1のアミノ酸配列を基にして、I M G T (Lefranc, M.-P., Pommie, C., Ruiz, M., Giudicelli, V., Foulquier, E., Truong, L., Thouvenin-Contet, V. and Lefranc, G. "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains". Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (2003) PMID: 12477501 LIGM:268.) とKabatのナンバリングを参考にしてC D R領域を同定した。I M G T／K a b a tを組み合わせた方法によってC D Rループ構造を最適に保つようにした。

[0275] <重鎖ヒト化デザイン>

マウス重鎖可変領域のアミノ酸配列 (G P N O 6－1 __V H) (配列番号 2 9) と最も近似しているヒト生殖系列 (germline) 遺伝子は I G H V 1－4 6 * 0 1 であった。一方でB L A S Tサーチを使用して、G P N O 6－1 __V Hと相同性の高い2 0 0種のヒトI g G配列を候補として選び出した。その後、フレームワークのホモロジーやフレームワークでキーとなるアミノ酸の保持やループ構造などの観点から最終的に4種のフレームワーク配列を選択した。それらにC D Rグラフティングを行い、ヒト化変異配列h G P N O 6－1 __V H 1、h G P N O 6－1 __V H 2、h G P N O 6－1 __V H 3、h G P N O 6－1 __V H 4とした。また、I G H V 1－4 6 * 0 1の配列をフレームワークとしてC D Rグラフティングしたものをヒト化変異配列h G P N O 6－1 __V H 5とした。これらのヒト化変異配列h G P N O 6－1 __V H 1～V H 5のマウスG P N O 6－1 __V Hに対するアラインメントを図2 0に示した。下線部分が同定されたC D R領域である。また、表9にこれらのヒト化変異配列h G P N O 6－1 __V H 1～V H 5のマウス配列G P N O 6－1 __V Hに対する同一性及び相同性を示した。ヒト化変異配列h G P N O 6－1 __V H 1～V H 5をマウスG P N O 6－1 __V Hに対する同一性及び相同性の高い順に並べると、V H 3＝V H 5>V H 2>V H 1>V H 4であった。

[0276]

[表9]

表9: マウス配列 GPN06-1_VH1 に対するヒト化変異配列
hGPN06-1_VH1 ~ VH5 の同一性・相同性

	アミノ酸配列 同一性	アミノ酸配列 相同性
hGPN06-1_VH1	86.9%	92.6%
hGPN06-1_VH2	86.9%	94.3%
hGPN06-1_VH3	88.5%	93.4%
hGPN06-1_VH4	85.2%	92.6%
hGPN06-1_VH5	88.5%	93.4%

[0277] <軽鎖ヒト化デザイン>

マウス軽鎖可変領域のアミノ酸配列 (GPN06-1__VL) (配列番号 31) と最も近似しているヒト生殖系列 (germline) 遺伝子は IGKV1-9*01 であった。一方で BLAST サーチを使用して、GPN06-1__VL と相同性の高い 200 種の ヒト IgK 配列を候補として選び出した。その後、フレームワークのホモロジーやフレームワークでキーとなるアミノ酸の保持やループ構造などの観点から最終的に 4 種のフレームワーク配列を選択した。それらに CDR グラフティングを行い、ヒト化変異配列 hGPN06-1__VL1、hGPN06-1__VL2、hGPN06-1__VL3、hGPN06-1__VL4 配列とした。また、IGKV1-9*01 の配列をフレームワークとして CDR グラフティングしたものをヒト化変異配列 hGPN06-1__VL5 とした。これらのヒト化変異配列 hGPN06-1__VL1 ~ VL5 のマウス GPN06-1__VL に対するアラインメントを図 21 に示した。下線部分が同定された CDR 領域である。また、表 10 にこれらのヒト化変異配列 hGPN06-1__VL1 ~ VL5 のマウス配列 GPN06-1__VL に対する同一性及び相同性を示した。ヒト化変異配列 hGPN06-1__VL1 ~ VL5 をマウス GPN06-1__VL に対する同一性及び相同性の高い順に並べると、VL5 > VL4 > VL1 > VL3 > VL2 であった。

[0278]

[表10]

表10: マウス配列 GPN06-1_VL に対するヒト化変異配列
hGPN06-1_VL1~VL5の同一性・相同性

	アミノ酸配列 同一性	アミノ酸配列 相同性
hGPN06-1_VL1	83.0%	92.5%
hGPN06-1_VL2	82.1%	90.6%
hGPN06-1_VL3	82.1%	91.5%
hGPN06-1_VL4	83.0%	93.4%
hGPN06-1_VL5	84.9%	93.4%

[0279] [実施例16] GPN06-1ヒト化抗体の選択

実施例15でデザインされた抗gpNMB抗体：GPN06-1のヒト化重鎖配列5種、ヒト化軽鎖配列5種を組み合わせる25種のヒト化抗体を作製した。これらのヒト化抗体を抗原ELISAで結合性を評価して、結合活性がヒトキメラ抗体に近いヒト化抗体を選んだ。

[0280] 具体的には、実施例15でデザインされたヒト化抗gpNMB抗体のH鎖をコードする遺伝子配列及びL鎖をコードする遺伝子配列それぞれにシグナル配列をコードする遺伝子配列を5'末端に付加した遺伝子配列を動物細胞発現ベクターpcDNA3.4に挿入したプラスミドを作製し、ExpicoHO Expression System (A29133、ThermoFisher Scientific) を使用して一過性発現させ、培地中に抗体を分泌させた。その後、培養上清を回収し、プロテインAカラム (Ab-Capcher、プロテノバ)、ゲル濾過カラム (Superdex 200 Increase、Cytiva) を用いて精製した。

[0281] 組換えヒト可溶性gpNMB (配列番号221) を固定したプレートに段階希釈した精製ヒト化抗体溶液を添加して、抗原ELISAを実施した。結果を表11に示す。その結果、hGPN06-1_H1L1、hGPN06-1_H1L2、hGPN06-1_H2L1、hGPN06-1_H2L2、hGPN06-1_H3L1、hGPN06-1_H3L2、hGPN06-1_H4L1、hGPN06-1_H5L2、hGPN06-1_H

5 L 4、及び h G P N 0 6 - 1 _ H 5 L 5 が、ヒトキメラ抗体（h G P N 0 6 - 1 _ H 0 L 0）と同等レベルの結合性を有する（E C ₅₀ 値がキメラ抗体 h G P N 0 6 - 1 _ H 0 L 0 と比較して 3 倍以内である）ことがわかった。

[0282] [表11]

表 1 1 ヒトgpNMBに対する各抗gpNMB抗体の
抗原ELISAによる結合性評価結果

抗体名	EC50 (M)	相対結合活性
hGPN06-1_H0L0	3.83E-10	1
hGPN06-1_H1L1	5.75E-10	0.92
hGPN06-1_H1L2	5.18E-10	0.88
hGPN06-1_H1L3	1.58E-09	0.83
hGPN06-1_H1L4	1.64E-09	0.86
hGPN06-1_H1L5	2.32E-09	0.81
hGPN06-1_H2L1	5.57E-10	0.91
hGPN06-1_H2L2	4.44E-10	0.89
hGPN06-1_H2L3	3.50E-09	0.68
hGPN06-1_H2L4	1.38E-09	0.82
hGPN06-1_H2L5	1.15E-09	0.79
hGPN06-1_H3L1	6.74E-10	0.85
hGPN06-1_H3L2	7.99E-10	0.85
hGPN06-1_H3L3	1.48E-09	0.7
hGPN06-1_H3L4	1.45E-09	0.69
hGPN06-1_H3L5	1.32E-08	0.68
hGPN06-1_H4L1	4.31E-10	0.87
hGPN06-1_H4L2	5.04E-09	0.71
hGPN06-1_H4L3	1.42E-08	0.37
hGPN06-1_H4L4	1.69E-08	0.49
hGPN06-1_H4L5	1.90E-09	0.57
hGPN06-1_H5L1	1.76E-09	0.65
hGPN06-1_H5L2	5.94E-10	0.84
hGPN06-1_H5L3	1.87E-09	0.7
hGPN06-1_H5L4	8.60E-10	0.77
hGPN06-1_H5L5	5.00E-10	0.78

[0283] 〔実施例 1 7〕 表面プラズモン共鳴法による G P N 0 6 - 1 ヒト化抗 g p N MB 抗体の相互作用解析 3 :

実施例 1 6 で取得したヒト化 G P N 0 6 抗体バリエントのうち、 h G P N

O6-1__H1L1、hGPN06-1__H1L2、hGPN06-1__H1L4、hGPN06-1__H2L1、hGPN06-1__H2L2、hGPN06-1__H3L1、hGPN06-1__H3L2、hGPN06-1__H4L1、hGPN06-1__H5L2について、ヒト可溶性gpNMB（配列番号221）に対する結合特性（結合速度及び解離速度）の比較検討のため、表面プラズモン共鳴（SPR）法により測定した。具体的には、以下に記載する条件の他は、実施例7と同様の測定解析条件により実施した。

[0284] アナライトとしては、ヒトキメラ抗体hGPN06-1__H0L0、ヒト化GPN06抗体バリエーションのうち、hGPN06-1__H1L1、hGPN06-1__H1L2、hGPN06-1__H1L4、hGPN06-1__H2L1、hGPN06-1__H2L2、hGPN06-1__H3L1、hGPN06-1__H3L2、hGPN06-1__H4L1、hGPN06-1__H5L2を使用した。各濃度のアナライトを600秒ずつ反応させ結合曲線を得た後、HBS-EP+を1200秒反応させ解離曲線を得た。反応終了後、再生用バッファー1（0.2% SDS）、再生用バッファー2（100mmol/L Tris-HCl（pH8.5）、1mol/L NaCl、15mmol/L MgCl₂）及び再生用バッファー3（10mmol/L グリシン-HCl（pH1.5））を各1分間反応させ、測定システムのgpNMB-FLAG-Hisを除去し洗浄した。BIACORE T200 Evaluation software（ver2.0）を使用して、1:1 BindingのModelで解析し、解離速度定数（ k_a 、1/Ms）、結合速度定数（ k_d 、1/s）及び解離定数（ K_D 、M）を算出した。結果を表12に示す。

[0285]

[表12]

表12 ヒトgpNMBに対する各抗gpNMB抗体の
SPR法による速度論的解析結果

クローン	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)
hGPN06-1_H0L0	7.89E+05	2.09E-04	2.65E-10
hGPN06-1_H1L1	9.16E+05	5.67E-04	6.20E-10
hGPN06-1_H1L2	3.24E+06	8.08E-04	2.49E-10
hGPN06-1_H1L4	4.98E+05	2.13E-04	4.28E-10
hGPN06-1_H2L1	4.79E+05	3.30E-04	6.89E-10
hGPN06-1_H2L2	5.06E+05	3.54E-04	7.00E-10
hGPN06-1_H3L1	3.51E+06	1.54E-03	4.38E-10
hGPN06-1_H3L2	9.83E+05	6.36E-04	6.46E-10
hGPN06-1_H4L1	7.29E+05	4.15E-04	5.70E-10
hGPN06-1_H5L2	6.02E+05	3.54E-04	5.87E-10

[0286] 〔実施例18〕 GPN06-1ヒト化抗体のアラニン置換による結合に重要なCDR領域アミノ酸同定

実施例16で作製したヒト化抗gpNMB抗体hGPN06-1_H1L1のCDR領域のアミノ酸をアラニンに置換したヒト化抗gpNMB抗体hGPN06-1_H1L1のCDR置換体を65種作製した。これらのアラニン置換体抗体の組換えヒト可溶性gpNMB（配列番号221）に対する結合性を抗原ELISAで評価して、結合に重要なCDRグラフティング領域内のアミノ酸を決定した。作製したヒト化抗gpNMB抗体hGPN06-1_H1L1のアラニン置換体と結合活性の測定結果を以下の表13及び表14に示す。

[0287] 得られた結果から、各CDR領域においてアラニン置換することで結合活性が低下したアミノ酸、すなわち、ヒト化抗gpNMB抗体hGPN06-1_H1L1の軽鎖可変領域（配列番号297）の、CDRグラフティング領域-L1（配列番号277）における第29位のイソロイシン、第31位のチロシン及び第33位ヒスチジン；CDRグラフティング領域-L2（配列番号279）における第50位のスレオニン；CDRグラフティング領域

ーL 3（配列番号281）における第88位のヒスチジン、第89位のグルタミン、第90位のトリプトファン、第92位のセリン、第93位のチロシン、第94位のプロリン、及び第95位のシステイン；並びに、ヒト化抗gpNMB抗体hGPN06-1__H1L1の重鎖可変領域（配列番号295）の、CDRグラフティング領域-H1（配列番号271）における第27位のチロシン、第32位のアスパラギン、及び第33位のトリプトファン；CDRグラフティング領域-H2（配列番号273）における第55位のアスパラギン酸、第57位のフェニルアラニン、第58位のスレオニン、第59位のアスパラギン、第60位のチロシン、及び第61位のアスパラギン；CDRグラフティング領域-H3（配列番号275）における第98位のアルギニン、第100位のグリシン、及び第109位のグリシンが、結合維持に極めて重要であることが同定された。

[0288]

[表13]

表13: 軽鎖CDRグラフティング領域の
アラニン置換体の結合活性評価結果

	アラニン 置換位置	置換前 アミノ酸	EC ₅₀ (M)	相対結合 活性
hGPN06-1 _H1L1	-	-	1.98E-09	1.00
CDR グラフ ティング 領域-L1	24	S	1.99E-09	0.98
	25	A	No data	No data
	26	S	1.09E-09	0.75
	27	S	1.56E-09	0.99
	28	S	1.27E-09	1.18
	29	I	2.30E-08	0.27
	30	S	8.63E-09	0.58
	31	Y	1.49E-08	0.36
	32	M	6.40E-09	0.65
	33	H	4.29E-08	0.28
CDR グラフ ティング 領域-L2	49	S	7.00E-10	0.79
	50	T	3.19E-09	0.30
	51	S	9.27E-10	0.82
	52	N	8.50E-10	0.74
	53	L	5.64E-10	0.98
	54	A	No data	No data
	55	S	6.03E-10	1.00
CDR グラフ ティング 領域-L3	88	H	1.47E-07	0.08
	89	Q	2.75E-08	0.06
	90	W	1.22E-07	0.13
	91	N	1.84E-09	0.58
	92	S	1.86E-09	0.19
	93	Y	2.53E-08	0.00
	94	P	2.64E-08	0.05
	95	C	3.15E-09	0.45
	96	T	1.03E-09	0.83

[0289]

[表14-1]

表 14-1: 重鎖CDRグラフティング領域の
アラニン置換体の結合活性評価結果

	アラニン 置換位置	置換前 アミノ酸	EC ₅₀ (M)	相対結合 活性
hGPN06- 1 _HIL1	-	-	1.98E-09	1.00
CDR グラフ ティング 領域-H1	26	G	1.21E-09	1.08
	27	Y	6.99E-08	0.02
	28	T	1.98E-09	1.49
	29	F	4.80E-09	0.54
	30	T	2.02E-09	1.23
	31	D	5.15E-10	1.26
	32	N	7.83E-09	0.35
	33	W	2.81E-08	0.06
	34	M	3.55E-09	1.06
	35	G	3.55E-09	1.40
CDR グラフ ティング 領域-H2	51	I	9.93E-10	0.89
	52	D	2.79E-09	0.51
	53	P	8.01E-10	0.85
	54	S	6.52E-10	0.92
	55	D	3.15E-08	0.00
	56	S	4.29E-10	1.14
	57	F	3.25E-08	0.09
	58	T	2.80E-08	0.04
	59	N	2.94E-08	0.04
	60	Y	1.28E-07	0.04
	61	N	2.61E-08	0.04
	62	Q	4.06E-10	1.14
	63	N	4.39E-10	1.07
	64	F	4.48E-10	1.11
	65	K	4.06E-10	1.10
	66	G	3.73E-10	1.09

[表14-2]

表14-2: 重鎖CDRグラフテイング領域の
アラニン置換体の結合活性評価結果(続き)

	アラニン 置換位置	置換前 アミノ酸	EC ₅₀ (M)	相対結合 活性
hGPN06- 1 _H1L1	-	-	1.98E-09	1.00
CDR グラフ テイング 領域-H3	97	T	3.60E-10	0.98
	98	R	5.32E-08	0.05
	99	S	5.87E-10	0.92
	100	G	6.58E-08	0.06
	101	Y	5.02E-10	1.04
	102	Y	2.21E-09	0.68
	103	G	7.62E-10	1.14
	104	S	7.12E-10	0.88
	105	P	1.18E-09	1.09
	106	K	4.41E-10	1.00
	107	L	1.05E-09	0.71
	108	G	4.76E-10	0.96
	109	G	4.89E-09	0.34
	110	D	9.56E-10	0.79
	111	Y	5.84E-10	0.99

[0290] 〔実施例19〕マウス抗g p NMB抗体：GPN18-2のヒト化デザイン

:

抗g p NMB抗体：GPN18-2のアミノ酸配列を基にして、IMGT (Lefranc, M.-P., Pommie, C., Ruiz, M., Giudicelli, V., Foulquier, E., Truong, L., Thouvenin-Contet, V. and Lefranc, G. "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains". Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77 (2003) PMID: 12477501 LIGM:268.) とKabatのナンバリングを参考にしてCDR領域を同定した。IMGT/Kabatを組み合わせた方法によってCDRループ構造を最適に保つようにした。

[0291] ＜重鎖ヒト化デザイン＞

マウス重鎖可変領域のアミノ酸配列（GPN18-2__VH）（配列番号141）と最も近似しているヒト生殖系列（germline）遺伝子はIGHV2-05*09であった。一方でBLASTサーチを使用して、GPN18-2__VHと相同性の高い200種のヒトIgG配列を候補として選び出した。その後、フレームワークのホモロジーやフレームワークでキーとなるアミノ酸の保持やループ構造などの観点から最終的に4種のフレームワーク配列を選択した。それらにCDRグラフティングを行い、ヒト化変異配列hGPN18-2__VH1、hGPN18-2__VH2、hGPN18-2__VH3、hGPN18-2__VH4とした。また、IGHV2-05*09の配列をフレームワークとしてCDRグラフティングしたものをヒト化変異配列hGPN18-2__VH5とした。これらのヒト化変異配列VH1～VH5のマウスGPN18-2__VHに対するアラインメントを図22に示した。下線部分が同定されたCDRグラフティング領域である。また、下記の表15にこれらのヒト化変異配列hGPN18-2__VH1～VH5のマウス配列GPN18-2__VHに対する同一性及び相同性を示す。ヒト化変異配列hGPN18-2__VH1～VH5をマウスGPN18-2__VHに対する同一性及び相同性の高い順に並べると、VH5>VH3>VH1>VH2>VH4であった。

[0292] [表15]

表15：マウス配列GPN18-2_VHに対するヒト化変異配列hGPN18-2_VH1～VH5の同一性・相同性

	アミノ酸配列 同一性	アミノ酸配列 相同性
hGPN18-2_VH1	88.6%	96.7%
hGPN18-2_VH2	87.8%	94.3%
hGPN18-2_VH3	89.4%	96.7%
hGPN18-2_VH4	82.1%	89.4%
hGPN18-2_VH5	91.1%	97.6%

[0293] <軽鎖ヒト化デザイン>

マウス軽鎖可変領域のアミノ酸配列（GPN18-2__VL）（配列番号

143)と最も近似しているヒト生殖系列(germline)遺伝子はIGKV2-30*01であった。一方でBLASTサーチを使用して、GPN18-2__VLと相同性の高い200種のヒトIgK配列を候補として選び出した。その後、フレームワークのホモロジーやフレームワークでキーとなるアミノ酸の保持やループ構造などの観点から最終的に4種のフレームワーク配列を選択した。それらにCDRグラフティングを行い、ヒト化変異配列hGPN18-2__VL1、hGPN18-2__VL2、hGPN18-2__VL3、hGPN18-2__VL4配列とした。また、IGKV2-30*01の配列をフレームワークとしてCDRグラフティングしたものをヒト化変異配列hGPN18-2__VL5とした。これらのヒト化変異配列hGPN18-2__VL1~VL5のマウスGPN18-2__VLに対するアラインメントを図23に示した。下線部分が同定されたCDRグラフティング領域である。また、下記の表16にこれらのヒト化変異配列hGPN18-2__VL1~VL5のマウス配列GPN18-2__VLに対する同一性及び相同性を示した。ヒト化変異配列hGPN18-2__VL1~VL5をマウスGPN18-2__VLに対する同一性及び相同性の高い順に並べると、VL5>VL1>VL2>VL3>VL4であった。

[0294] [表16]

表16：マウス配列GPN18-2_VLに対するヒト化変異配列hGPN18-2_VL1~VL5の同一性・相同性

	アミノ酸配列 同一性	アミノ酸配列 相同性
hGPN18-2_VL1	88.4%	95.5%
hGPN18-2_VL2	86.6%	96.4%
hGPN18-2_VL3	84.8%	93.8%
hGPN18-2_VL4	82.1%	90.2%
hGPN18-2_VL5	92.0%	97.3%

[0295] [実施例20] GPN18-2ヒト化抗体の選択

実施例19でデザインされた抗gpNMB抗体：GPN18-2のヒト化重鎖配列5種、ヒト化軽鎖配列5種を組み合わせることで25種のヒト化抗体を作

製した。これらのヒト化抗体を抗原ELISAで結合性を評価して、結合活性がヒトキメラ抗体hGPN18-2__H0L0に近いヒト化抗体を選んだ。

[0296] 具体的には、実施例19でデザインされたヒト化抗gpNMB抗体のH鎖をコードする遺伝子配列及びL鎖をコードする遺伝子配列それぞれにシグナル配列をコードする遺伝子配列を5'末端に付加した遺伝子配列を動物細胞発現ベクターpcDNA3.4に挿入したプラスミドを作製し、ExpicoHO Expression System (A29133、ThermoFisher Scientific) を使用して一過性発現させ、培地中に抗体を分泌させた。その後、培養上清を回収し、プロテインAカラム (Ab-Capcher、プロテノバ)、ゲル濾過カラム (Superdex 200 Increase、Cytiva) を用いて精製した。

[0297] 組換えヒト可溶性gpNMB (配列番号221) を固定したプレートに段階希釈した精製ヒト化抗体溶液を添加して、抗原ELISAを実施した。結果を下記の表17に示す。その結果、hGPN18-2__H1L3、hGPN18-2__H1L4、hGPN18-2__H2L3、hGPN18-2__H2L4、hGPN18-2__H2L5、hGPN18-2__H3L3、hGPN18-2__H3L4、hGPN18-2__H5L3、及びhGPN18-2__H5L4が、ヒトキメラ抗体 (hGPN18-2__H0L0) と同等レベルの結合性を有する (EC₅₀値がヒトキメラ抗体hGPN18-2__H0L0と比較して3倍以内である) ことがわかった。

[0298]

[表17]

表 17 : GPN18-2ヒト化抗体のヒトgpNMBに対する
抗原ELISA結果

抗体名	EC ₅₀ (M)	相対結合活性
hGPN18-2_H0L0	1.21E-09	1
hGPN18-2_H1L1	4.95E-09	0.59
hGPN18-2_H1L2	1.62E-08	0.25
hGPN18-2_H1L3	1.93E-09	0.77
hGPN18-2_H1L4	3.07E-09	0.68
hGPN18-2_H1L5	9.55E-09	0.36
hGPN18-2_H2L1	9.12E-09	0.41
hGPN18-2_H2L2	6.91E-09	0.46
hGPN18-2_H2L3	1.84E-09	0.84
hGPN18-2_H2L4	2.00E-09	0.81
hGPN18-2_H2L5	3.35E-09	0.61
hGPN18-2_H3L1	5.50E-09	0.55
hGPN18-2_H3L2	2.35E-08	0.23
hGPN18-2_H3L3	2.11E-09	0.79
hGPN18-2_H3L4	2.59E-09	0.73
hGPN18-2_H3L5	1.01E-08	0.35
hGPN18-2_H4L1	4.54E-08	0.05
hGPN18-2_H4L2	2.99E-08	0.20
hGPN18-2_H4L3	6.09E-09	0.46
hGPN18-2_H4L4	5.54E-09	0.50
hGPN18-2_H4L5	2.54E-08	0.15
hGPN18-2_H5L1	9.25E-09	0.46
hGPN18-2_H5L2	1.76E-08	0.23
hGPN18-2_H5L3	2.41E-09	0.79
hGPN18-2_H5L4	3.10E-09	0.72
hGPN18-2_H5L5	1.10E-08	0.35

[0299] [実施例 2 1] 表面プラズモン共鳴法による G P N 1 8 - 2 ヒト化抗 g p N
M B 抗体の相互作用解析 :

実施例 2 0 で取得したヒト化 G P N 1 8 - 2 抗体 2 5 種について、ヒト g
p N M B に対する結合特性（結合速度及び解離速度）の比較検討のため、表
面プラズモン共鳴（S P R）法により測定した。具体的には、以下に記載す
る条件の他は、実施例 7 と同様の測定解析条件により実施した。

[0300] 測定システムの温度は36℃に設定した。アナライトとしては、実施例20にて調製されたヒト化GPN18-2抗体を使用した。アナライトをHBS-EP+で希釈し(100nmol/L)とし、全フローセルに300秒ずつ反応させ結合曲線を得た後、HBS-EP+を300秒反応させ解離曲線を得た。反応終了後、再生用バッファー1(0.2%SDS)、再生用バッファー2(100mmol/L Tris-HCl (pH8.5)、1mol/L NaCl、15mmol/L MgCl₂)及び再生用バッファー3(10mmol/L グリシン-HCl (pH1.5))を各1分間反応させ、測定システムのgpNMB-FLAG-Hisを除去し洗浄した。BLACORE T200 Evaluation software (ver2.0)を使用して、1:1 BindingのModelで解析し序数として、結合速度値(Ass:1/Ms)、結合安定値(Diss:1/s)及び平衡解離値(Diss/Ass:M)を数値化した。結果を表18に示す。

[0301]

[表18]

表18 ヒトgpNMBに対する各抗gpNMB抗体の
SPR法による速度論的解析結果

抗体名	Ass (1/Ms)	Diss (1/s)	Diss/Ass (M)
hGPN18-2_H0L0	1.41E+05	4.71E-07	3.46E-12
hGPN18-2_H1L1	8.79E+04	6.01E-07	6.84E-12
hGPN18-2_H1L2	3.19E+04	3.50E-08	1.10E-12
hGPN18-2_H1L3	9.15E+04	8.15E-08	8.91E-13
hGPN18-2_H1L4	7.67E+04	5.59E-07	7.30E-12
hGPN18-2_H1L5	4.63E+04	4.37E-08	9.43E-13
hGPN18-2_H2L1	2.84E+04	3.92E-06	1.38E-10
hGPN18-2_H2L2	8.02E+04	5.20E-07	6.48E-12
hGPN18-2_H2L3	9.62E+04	7.49E-07	7.78E-12
hGPN18-2_H2L4	8.90E+04	1.47E-07	1.65E-12
hGPN18-2_H2L5	5.65E+04	8.61E-08	1.52E-12
hGPN18-2_H3L1	5.04E+04	2.53E-08	5.01E-13
hGPN18-2_H3L2	6.31E+04	1.69E-04	2.68E-09
hGPN18-2_H3L3	3.04E+04	1.48E-08	4.87E-13
hGPN18-2_H3L4	7.79E+04	3.70E-10	4.74E-15
hGPN18-2_H3L5	4.45E+04	2.49E-08	5.60E-13
hGPN18-2_H4L1	1.66E+04	3.51E-04	2.11E-08
hGPN18-2_H4L2	9.08E+04	9.93E-08	1.09E-12
hGPN18-2_H4L3	1.03E+05	8.11E-07	7.91E-12
hGPN18-2_H4L4	9.14E+04	2.06E-07	2.26E-12
hGPN18-2_H4L5	9.63E+04	2.68E-05	2.78E-10
hGPN18-2_H5L1	not measured	not measured	not measured
hGPN18-2_H5L2	2.91E+04	2.16E-08	7.40E-13
hGPN18-2_H5L3	7.45E+04	1.68E-07	2.25E-12
hGPN18-2_H5L4	7.20E+04	5.19E-09	7.21E-14
hGPN18-2_H5L5	2.68E+04	3.40E-07	1.27E-11

[0302] [実施例22] GPN18-2ヒト化抗体のアラニン置換による結合に重要なCDR領域アミノ酸同定

実施例20で作製したヒト化抗g p NMB抗体h G P N 1 8 - 2 __ H 2 L 3のCDR領域のアミノ酸をアラニンに置換したヒト化抗g p NMB抗体h G P N 1 8 - 2 __ H 2 L 3のCDR置換体を74種作製した。これらのアラニン置換体抗体の組換えヒト可溶性g p NMB（配列番号221）に対する結合性を抗原ELISAで評価して、結合に重要なCDRグラフティング領域内のアミノ酸を決定した。作製したヒト化抗g p NMB抗体h G P N 1 8 - 2 __ H 2 L 3のアラニン置換体と結合活性の測定結果を以下の表19及び表20に示す。

[0303] 得られた結果から、各CDR領域においてアラニン置換することで結合活性が低下したアミノ酸、すなわち、ヒト化抗g p NMB抗体h G P N 1 8 - 2 __ H 2 L 3の軽鎖可変領域（配列番号325）の、CDRグラフティング領域-L1（配列番号305）における第31位のロイシン、第37位のチロシン、及び第39位のグルタミン酸；CDRグラフティング領域-L2（配列番号307）における第55位のリジン；CDRグラフティング領域-L3（配列番号309）における第94位のフェニルアラニン；並びに、ヒト化抗g p NMB抗体h G P N 1 8 - 2 __ H 2 L 3の重鎖可変領域（配列番号323）の、CDRグラフティング領域-H2（配列番号301）における第52位のアスパラギン酸、第54位のトリプトファン、第58位のアスパラギン酸、及び第63位のプロリン；CDRグラフティング領域-H3（配列番号303）における第99位のア르기ニン、第100位のトレオニン、第102位のチロシン、第105位のチロシン、第107位のチロシン、及び第110位のメチオニンが、結合維持に極めて重要であることが同定された。

[0304]

[表19-1]

表 19-1: 軽鎖CDRグラフティング領域の
アラニン置換体の結合活性評価結果

	アラニン 置換位置	置換前 アミノ酸	EC ₅₀ (M)	相対結合 活性
hGPN18-2 _H2L3	–	–	4.39E-09	1.00
CDR グラフ ティング 領域-L1	24	R	4.73E-09	1.04
	25	S	3.76E-09	1.01
	26	S	3.14E-09	1.03
	27	Q	4.00E-09	1.04
	28	T	2.91E-09	1.05
	29	I	6.04E-09	0.75
	30	I	4.10E-09	1.00
	31	L	2.07E-08	0.41
	32	S	8.67E-09	0.92
	33	N	3.66E-09	0.82
	34	G	3.94E-09	1.00
	35	N	3.08E-09	1.11
	36	T	4.74E-09	1.06
	37	Y	2.71E-08	0.37
	38	L	4.15E-09	1.06
	39	E	8.48E-08	0.10

[表19-2]

表 19-2: 軽鎖CDRグラフティング領域の
アラニン置換体の結合活性評価結果 (続き)

	アラニン 置換位置	置換前 アミノ酸	EC ₅₀ (M)	相対結合 活性
hGPN18-2 _H2L3	-	-	4.39E-09	1.00
CDR グラフ ティング 領域-L2	55	K	4.83E-08	0.31
	56	V	2.99E-09	1.07
	57	S	3.14E-09	1.05
	58	N	2.86E-09	1.04
	59	R	2.36E-09	1.11
	60	F	2.28E-09	1.12
	61	S	3.63E-09	0.94
CDR グラフ ティング 領域-L3	94	F	1.80E-08	0.07
	95	Q	5.49E-09	0.79
	96	G	1.08E-08	0.91
	97	S	3.29E-09	1.04
	98	H	5.69E-09	0.80
	99	V	9.93E-09	0.81
	100	P	4.22E-09	0.84
	101	F	7.66E-09	0.69
	102	T	4.73E-09	0.81

[0305]

[表20-1]

表 20-1: 重鎖CDRグラフティング領域の
アラニン置換体の結合活性評価結果

	アラニン 置換位置	置換前 アミノ酸	EC ₅₀ (M)	相対結合 活性
hGPN18-2 _H2L3	--	--	4.39E-09	1.00
CDR グラフ ティング 領域-H1	26	G	3.92E-09	0.84
	27	F	5.47E-09	0.69
	28	S	3.22E-09	0.88
	29	L	4.41E-09	0.82
	30	S	6.60E-09	0.97
	31	T	3.12E-09	0.97
	32	S	4.31E-09	0.78
	33	V	8.88E-09	0.55
	34	M	3.58E-09	0.91
	35	G	5.16E-09	0.68
	36	V	3.43E-09	0.92
	37	G	3.32E-09	0.87
CDR グラフ ティング 領域-H2	52	D	1.00E-07	0.05
	53	I	6.94E-09	0.60
	54	W	3.80E-08	0.20
	55	W	8.36E-09	0.66
	56	D	8.98E-09	0.63
	57	D	5.61E-09	0.86
	58	D	1.02E-08	0.50
	59	K	4.42E-09	0.78
	60	D	3.13E-09	0.98

[表20-2]

表 20-2: 重鎖CDRグラフティング領域の
アラニン置換体の結合活性評価結果(続き)

	アラニン 置換位置	置換前 アミノ酸	EC ₅₀ (M)	相対結合 活性
hGPN18-2 _H2L3	-	-	4.39E-09	1.00
CDR グラフ ティング 領域-H2 (続き)	61	Y	7.55E-09	0.70
	62	N	4.58E-09	0.97
	63	P	1.20E-08	0.43
	64	S	3.59E-09	1.09
	65	L	5.04E-09	0.94
	66	K	4.96E-09	0.96
	67	S	4.25E-09	1.01
CDR グラフ ティング 領域-H3	99	R	1.06E-08	0.37
	100	T	8.44E-09	0.47
	101	Y	7.68E-09	0.61
	102	Y	4.91E-08	0.07
	103	S	4.04E-09	0.94
	104	N	5.62E-09	0.80
	105	Y	1.56E-08	0.47
	106	E	1.08E-08	0.64
	107	Y	6.09E-08	0.06
	108	Y	4.70E-09	0.91
	109	G	1.05E-08	0.61
	110	M	2.34E-08	0.41
	111	D	1.13E-08	0.62
	112	Y	3.73E-09	1.05

[0306] 「参考例 2」 パーキンソン病モデルマウスにおけるミクログリアの検討

<病理解析>

14 か月齢の A53T 変異ヒト α シヌクレイン-Tg マウスを還流固定し、脳を取り出して、5 μ m 厚のパラフィン切片を作製した。脱パラ後、脳切片をクエン酸緩衝液 (pH 6) 中で 30 分間ボイルして抗原を賦活化したの

ち、抗 g p N M B 抗体 A F 2 3 3 0 (R & D、 2 μ g / m L) + F I T C -
ロバ抗ヤギ I g G 抗体 (Jackson Lab) と抗 I b a 1 抗体 (W A K O、 5 μ g
/ m L) + ロードミン-ロバ抗ウサギ I g G 抗体 (Jackson Lab) で二重染色
した。結果を図 2 4 に示す。

[0307] 〔実施例 2 3〕 抗 g p N M B 抗体のパーキンソン病モデルマウス (A 5 3 T
変異ヒト α シヌクレイン-T g マウス) における認知機能改善解析

8 ~ 9 か月齢の A 5 3 T 変異ヒト α シヌクレイン-T g マウスを使用して
、本発明の抗 g p N M B 抗体を 1 週間に 1 回の頻度で合計 5 回投与し、投与
後の認知機能改善作用をモリス水迷路試験によって解析した。比較対象とし
て同腹で生まれた 9 ~ 1 0 か月齢の N o n - T g (野生型マウス) を使用し
た。

[0308] < 群構成 >

・評価抗体群 1 : 抗 g p N M B マウスモノクローナル抗体 G P N 0 6 - 1、
0. 0 2 M ヒスチジンを含む 1 5 0 m M N a C l バッファー (p H 6. 5)
中 2. 5 m g / m L の 0. 4 m L 腹腔内投与を週 1 回の頻度で合計 5 回投与
した (n = 1 0) 。

・評価抗体群 2 : 抗 g p N M B マウスモノクローナル抗体 G P N 1 8 - 2、
0. 0 2 M ヒスチジンを含む 1 5 0 m M N a C l バッファー (p H 6. 5)
中 2. 5 m g / m L の 0. 4 m L 腹腔内投与を週 1 回の頻度で合計 5 回投与
した (n = 9) 。

・ α S y n - T g 群 : 0. 0 2 M ヒスチジンを含む 1 5 0 m M N a C l バッ
ファー (p H 6. 5) の 0. 4 m L 腹腔内投与を週 1 回の頻度で合計 5 回投
与した (n = 1 0) 。

・ N o n - T g 群 : 0. 0 2 M ヒスチジンを含む 1 5 0 m M N a C l バッ
ファー (p H 6. 5) の 0. 4 m L 腹腔内投与を週 1 回の頻度で合計 5 回投与
した (n = 1 2) 。

[0309] < 水迷路試験 >

・準備 : 内径 1 0 0 c m、高さ 4 5 c m の黒色プール内に 1 6 c m 深の水を

はった。水温は21～23℃に調整し、無色透明に保った。毎試行日 (trial day) 後に、糞の排除と、水の入替えを約10Lずつ行った。

[0310] ・獲得 (Acquisition) 試験：15cm高の透明なプラットフォームを壁から20cm (中心より30cm) の位置に沈めた。プラットフォームを沈めた場所を含め4象限に区切り、マウスはプラットフォームのない3象限のいずれかからのみランダムに投入した。1試行60秒を限度とし、5試行/日で行った。1試行の間隔は約5分。プラットフォームへ辿り着くまでの脱出時間 (escape time) をデータとして記録した。60秒以内に逃避しないマウスについては、オペレーターの手によってプラットフォームへ誘導し、脱出時間は60秒として扱った。プラットフォーム上のマウスは10秒後にプールから取り除き、次の試行まで自由に行動させ、体を乾燥させた。日毎のマウスの成績には、5試行の脱出時間の平均秒数を用いた。試験は4日間実施した。

[0311] Non-Tg群の成績が安定した時点で獲得試験を終了し、翌日プローブ (probe) 試験を行った。

・プローブ (probe) 試験：獲得 (Acquisition) 試験の最終日の翌日、プラットフォームをプールから取り除き、60秒間の自由遊泳をビデオカメラで撮影した。撮影されたビデオを観察し、自由遊泳中のマウスが4象限のうち、プラットフォームの存在した象限 (target quadrant) 内を泳いでいる時間を測定し、60秒間におけるパーセンテージで表した。

[0312] 各試験の有意差検定は、反復測定 (repeated measure)、フィッシャーの制約付最小有意差検定 (Fisher's PLSD)、プローブ (probe) 試験の有意差検定はフィッシャーの制約付最小有意差検定 (Fisher's PLSD) により行った。

[0313] 獲得 (Acquisition) 試験の結果を図25のグラフに示す。解析の結果、 α Syn-Tg (A53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス) 群は、Non-Tg (同腹野生型マウス) 群と比較して、モリス水迷路試験において隠し踏み台へ到達する時間 (Escape Latency) が有意に長かった。一方、A5

3 T変異ヒト α シヌクレイン-T g マウスへ本発明の抗 g p N M B 抗体 : G P N 0 6 - 1 あるいは G P N 1 8 - 2 を投与した群では、統計学的有意に隠し踏み台への到達時間が短縮されることが示された。

[0314] 〔実施例 2 4〕 抗 g p N M B 抗体のパーキンソン病モデルマウス (A 5 3 T 変異ヒト α シヌクレイン-T g マウス) における運動機能障害抑制解析

抗 g p N M B 抗体のパーキンソン病モデルマウス (A 5 3 T 変異ヒト α シヌクレイン-T g マウス) の運動機能への治療効果を評価するために、実施例 2 3 においてモリス水迷路試験で認知機能評価を実施したマウスを使用して、翌週に運動機能評価を実施した。なお、モリス水迷路試験の実施時には運動障害などは観察されなかった。

[0315] <ロータロッド試験>

運動機能に関して、初めにロータロッド試験を実施した。具体的には、マウス用 M K - 6 1 0 A ロータロッド トレッドミル (室町機械、東京、日本) を使用したロータロッド テストによって評価した。先ず初日に、マウスは、5 r p m で回転するロッド上に 1 8 0 秒間留まるように訓練された。次に、回転速度を 2 4 0 秒かけて 4 r p m から 4 0 r p m に上げ、この加速ロータロッド トレーニングを 2 回繰り返した。翌日、加速ロータロッド テストを 1 時間の間隔をおいて 2 回実施し、マウスがロッドから落ちた時間を記録した。マウスがロッドにしがみついて完全に下向きに回転した場合は、ロッドからの落下とみなした。2 回の試行の平均時間を計算し、グラフに表した (図 2 6) 。

[0316] <インバーテッドスクリーン試験>

上記のロータロッド試験の次に、さらに運動強度と調整能力に関して、反転スクリーン試験 (インバーテッドスクリーンテスト) によって評価した。マウスを、金属棒上に水平に取り付けられた円形ワイヤースクリーン (直径 2 4 c m 、開口部 1 . 2 c m $\times$ 1 . 2 c m) 上に個別に配置した。次にスクリーンを 1 8 0 $^{\circ}$ 回転させ、その際のマウスの行動を 2 分間観察し、マウスが画面から落ちた時間を記録した。マウスが画面の上部に登った場合、または画

面の下部にしがみついたままの場合、120秒の待ち時間が割り当てられた。2回の試行の平均時間を計算し、グラフに表した（図27）。

[0317] 〔実施例25〕抗gpNMB抗体投与パーキンソン病モデルマウス（A53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス）の病理解析

<病理解析>

抗gpNMB抗体：GPN18-2或いはGPN06-1を1mg/head投与した9～10か月齢のA53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス及び媒体を投与した9～10か月齢のA53T変異ヒト α シヌクレイン-Tgマウス（比較対照）を還流固定し、脳を取り出して、5 μ m厚のパラフィン切片を8作製した。脱パラ後、脳切片をクエン酸緩衝液（pH6）中で30分間ボイルして抗原を賦活化したのち、抗gpNMB抗体AF2330（R&D、2 μ g/mL）+FITC-ロバ抗ヤギIgG抗体（Jackson Lab）とIba1抗体（WAKO、5 μ g/mL）+ローダミン-ロバ抗ウサギIgG抗体（Jackson Lab）で二重染色した。リポフスチン消光剤TrueBlack plus（Biotium）で室温で10分間処理後、DAPI含有封入剤（Vector）で封入した。得られた染色した結果を図28に示した。

[0318] さらに、上記免疫染色結果に関して、統計学的な解析を実施した。具体的には、gpNMB（AF2330）とIba1の共染色シグナルを抽出し、画像処理ソフトウェアImageJを使用して、それぞれの染色領域の面積を定量した。得られた数値をもとにグラフ化を行った。得られたグラフを図29に示した。なお、有意差検定はStatViewを用いて、3群のANOVAにて解析した。Fisher's PLSDによるp値0.05を下回ったもののみを「有意差あり」として、グラフ中にそのp値を記載した。

[0319] 以上の解析結果から、抗gpNMBモノクローナル抗体GPN18-2、GPN06-1投与によって、統計学的な有意差をもって脳内のgpNMB陽性ミクログリアが低減されたことが確認された。このことは、gpNMB陽性ミクログリアの少なくとも一部をなす機能異常ミクログリアが低減されたことを意味する。また、こうした機能異常ミクログリアの低減効果が病態

を改善させたことは、後述に示すようにシヌクレインオリゴマーやリン酸化シヌクレインが除去され、シナプス数の低下が抑制され、或いは回復した結果からも支持される。

[0320] また、リン酸化 α シヌクレイン、 α シヌクレインオリゴマー、及びシナプトフィジン染色も同時に行った。脳切片を10 mM塩酸 (pH 2) 中で10分間ボイル後、[pSer129] α シヌクレインウサギモノクローナル抗体 (Abcam-EpitoMics, Cambridge, UK) を反応させた。一方、10 mM クエン酸緩衝液 (pH 6) 中で30分間ボイル後、 α シヌクレインオリゴマー (Syn33; Merck Millipore, Darmstadt, Germany)、シナプトフィジン (SVP-38; Sigma-Aldrich) の抗体を反応させた。その後、シヌクレイン染色に関しては、ビオチン化2次抗体、HRP標識アビジン-ビオチン複合体、DAB (ジアミノベンチジン) を反応させ発色させた。一方、シナプトフィジンはFITC-ヤギ抗マウスIgG抗体 (Jackson Lab) で染色した。リポフスチン消光剤True Black plus (Biotium) で室温で10分間処理後、DAPI含有封入剤 (Vector) で封入した。リン酸化 α シヌクレイン、 α シヌクレインオリゴマー、及びシナプトフィジンを染色した結果を図30、32、及び34にそれぞれに示した。

[0321] さらに、上記免疫染色結果に関して、統計学的な解析を実施した。具体的には、リン酸化 α シヌクレイン、 α シヌクレインオリゴマー、及びシナプトフィジン染色シグナルをそれぞれ抽出し、画像処理ソフトウェアImage Jを使用して、それぞれの染色領域の面積を定量した。得られた数値をもとにグラフ化を行った。得られたグラフをリン酸化 α シヌクレイン、 α シヌクレインオリゴマーおよびシナプトフィジンに関してそれぞれ図31、33、35に示した。なお、有意差検定はStatViewを用いて、3群のANOVAにて解析した。Fisher's PLSDによるp値0.05を下回ったもののみを「有意差あり」として、グラフ中にそのp値を記載した。

産業上の利用可能性

[0322] 本発明は、脊椎動物の $\alpha 7$ nAChR を発現したミクログリアに特異的に結合することにより、機能異常ミクログリアを除去し、毒性タンパク質であるアミロイド β オリゴマー及び／又はリン酸化タウ及び／又はシヌクレインオリゴマーの除去を促進し、シナプス数を回復させ、及び／又は、認知機能や運動機能の低下を抑制し、又は回復させる抗体を提供することができるため、アルツハイマー病やパーキンソン病を始めとするミクログリアが関与する神経変性疾患などの治療、予防又は診断等に利用可能である。

配列表フリーテキスト

[0323] SEQ ID NO: 1

Sequence Name: Antibody GPN05-1 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GYAFSNHL

SEQ ID NO: 2

Sequence Name: Antibody GPN05-1 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGCTACGCCTTCAGCAACCACCTG

SEQ ID NO: 3

Sequence Name: Antibody GPN05-1 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

INPGSGGT

SEQ ID NO: 4

Sequence Name: Antibody GPN05-1 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATCAACCCTGGCAGCGCGGCACC

SEQ ID NO: 5

Sequence Name: Antibody GPN05-1 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

ARGANWDVGFAY

SEQ ID NO: 6

Sequence Name: Antibody GPN05-1 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCTAGAGGCGCTAATTGGGACGTGGGGTTCGCGTAT

SEQ ID NO: 7

Sequence Name: Antibody GPN05-1 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QDIVKN

SEQ ID NO: 8

Sequence Name: Antibody GPN05-1 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAAGACATCGTGAAGAAC

SEQ ID NO: 9

Sequence Name: Antibody GPN05-1 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

YAT

SEQ ID NO: 10

Sequence Name: Antibody GPN05-1 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TACGCCACC

SEQ ID NO: 11

Sequence Name: Antibody GPN05-1 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

LQFHEFPRT

SEQ ID NO: 12

Sequence Name: Antibody GPN05-1 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CTGCAGTTCCACGAGTTCCTAGAACC

SEQ ID NO: 13

Sequence Name: Antibody GPN05-1 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCASGYAFSNHLIEWVKQRPQGLEWIGVINPGSGGTNYIEKFKGKAT

LTADKSSSTAYMQLSSLTSDDSAVYFCARGANWDVGFAYWGQGLTVTVSA

SEQ ID NO: 14

Sequence Name: Antibody GPN05-1 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAAGTGCGCTGCAGCAATCTGGCGCCGAGCTGGTGAGACCTGGCACAAGCGTGAAGGTGAGCTGCAAG

GCTAGCGGCTACGCCTTCAGCAACCACCTGATCGAGTGGGTGAAGCAGAGACCTGGCCAAGGCCTGGAG

TGGATCGGCGTGATCAACCCTGGCAGCGGCGGCACCACTACATCGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACC

CTGACCGCCGACAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGCAGCTGAGCAGCCTGACAAGCGACGACAGCGCC

GTGTACTTCTGCGCTAGAGGCGCTAATTGGGACGTGGGGTTCGCGTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTG

ACCGTGAGCGCC

SEQ ID NO: 15

Sequence Name: Antibody GPN05-1 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

EIQMTQSPSSMSASLGDRITITCQATQDIVKNLNWYQQKPKPPSFLIYYATELAEGVPSRFSGSGSGS
DFSILTISNLESEDFADYYCLQFHEFPRTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO: 16

Sequence Name: Antibody GPN05-1 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GAGATTCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCATGAGCGCTAGCCTGGGCGACAGAATCACCATCACCTGC
CAAGCCACCCAAGACATCGTGAAGAACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGCCTCCTAGCTTC
CTGATCTACTACGCCACCGAGCTGGCCGAGGGCGTGCCTAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCAGC
GACTTCAGCCTGACCATCAGCAACCTGGAGAGCGAGGACTTCGCCGACTACTACTGCCTGCAGTTCAC
GAGTTCCCTAGAACCTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

SEQ ID NO: 17

Sequence Name: Antibody GPN06-1 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GYTFTDNW

SEQ ID NO: 18

Sequence Name: Antibody GPN06-1 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGCTACACCTTCACCGACAACTGG

SEQ ID NO: 19

Sequence Name: Antibody GPN06-1 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

IDPSDSFT

SEQ ID NO: 20

Sequence Name: Antibody GPN06-1 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATCGACCCTAGCGACAGCTTCACC

SEQ ID NO: 21

Sequence Name: Antibody GPN06-1 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

TRSGYYGSPKLGGDY

SEQ ID NO: 22

Sequence Name: Antibody GPN06-1 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ACAAGAAGCGGCTACTATGGCTCCCCTAAATTGGCGGCGACTAC

SEQ ID NO: 23

Sequence Name: Antibody GPN06-1 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

SSISY

SEQ ID NO: 24

Sequence Name: Antibody GPN06-1 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

AGCAGCATCAGCTAC

SEQ ID NO: 25

Sequence Name: Antibody GPN06-1 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

STS

SEQ ID NO: 26

Sequence Name: Antibody GPN06-1 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

AGCACAAGC

SEQ ID NO: 27

Sequence Name: Antibody GPN06-1 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

HQWNSYPCT

SEQ ID NO: 28

Sequence Name: Antibody GPN06-1 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CATCAGTGGAACAGCTACCCTTGCACC

SEQ ID NO: 29

Sequence Name: Antibody GPN06-1 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QVQLQQPGAIEIVRPGASVKLSCKASGYTFDNDWMGWVKQRPGGLEWIGAIDPSDSFTNYNQNFKGKAT

LTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYYGSPKLGGDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 30

Sequence Name: Antibody GPN06-1 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAAGTGCAGCTGCAGCAGCCTGGCGCCGAGATCGTGAGACCTGGCGCTAGCGTGAAGCTGAGCTGCAAG
GCTAGCGGCTACACCTTCACCGACAACCTGGATGGGCTGGGTGAAGCAGAGACCTGGCCAAGGCCTGGAG
TGGATCGGCGCCATCGACCCTAGCGACAGCTTCACCAACTACAATCAGAACTTCAAGGGCAAGGCGACG
TTAACCGTCGACACAAGCAGCAGCACC GCCTACATGCAGCTGAGCAGCCTGACAAGCGAGGACAGCGCC
GTGTACTTCTGCACAAGAAGCGGCTACTATGGCTCCCCTAAATTGGGCGGCGACTACTGGGGCCAAGGC
ACCACACTGACGGTTAGCTCC

SEQ ID NO: 31

Sequence Name: Antibody GPN06-1 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCSASSSISYMHYQQKSGTSPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTF
YSLTISSVEAEDAADYYCHQWNSYPCTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO: 32

Sequence Name: Antibody GPN06-1 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCATCATGAGCGCTAGCCTGGGCGAGGAGATCACCTGACCTGC
AGCGCTAGCAGCAGCATCAGCTACATGCACTGGTATCAGCAGAAGAGCGGTACAAGCCCTAAGCTGCTG
ATCTACAGCACAAGCAACCTGGCTAGCGGCGTGCCTAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCTTC
TACAGCCTGACCATCAGCAGCGTGAGGCCGAGGACGCCGCCGACTACTACTGCCATCAGTGGAACAGC
TACCCTTGACCTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

SEQ ID NO: 33

Sequence Name: Antibody GPN07-1 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GYTFTDYW

SEQ ID NO: 34

Sequence Name: Antibody GPN07-1 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGCTACACCTTCACCGACTACTGG

SEQ ID NO: 35

Sequence Name: Antibody GPN07-1 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

IDPSDSYT

SEQ ID NO: 36

Sequence Name: Antibody GPN07-1 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATCGACCCTAGCGACAGCTACACC

SEQ ID NO: 37

Sequence Name: Antibody GPN07-1 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

ARSGYYGSPKLGGDY

SEQ ID NO: 38

Sequence Name: Antibody GPN07-1 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCTAGAAGCGGCTACTATGGCTCCCCTAAATTGGGCGGCGACTAC

SEQ ID NO: 39

Sequence Name: Antibody GPN07-1 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

SSISY

SEQ ID NO: 40

Sequence Name: Antibody GPN07-1 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

AGCAGCATCAGCTAC

SEQ ID NO: 41

Sequence Name: Antibody GPN07-1 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

STS

SEQ ID NO: 42

Sequence Name: Antibody GPN07-1 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

AGCACAAGC

SEQ ID NO: 43

Sequence Name: Antibody GPN07-1 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

HQWNSYPCT

SEQ ID NO: 44

Sequence Name: Antibody GPN07-1 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CATCAGTGGAACAGCTACCCTTGCACC

SEQ ID NO: 45

Sequence Name: Antibody GPN07-1 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QVQLQQPGAIEIVRPGASVKLSCKASGYTFTDYWMNVKQRPQGQLEWIGRIDPSDSTNYNQEFNGKAT
LTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARSGYYGSPKLGGDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 46

Sequence Name: Antibody GPN07-1 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAAGTGCAGCTGCAGCAGCCTGGCGCCGAGATCGTGAGACCTGGCGCTAGCGTGAAGCTGAGCTGCAAG
GCTAGCGGCTACACCTTCACCGACTACTGGATGAAGTGGTGAAGCAGAGACCTGGCCAAGGCCTGGAG
TGGATCGGCGCCATCGACCCTAGCGACAGCTACACCAACTACAACCAAGAGTTCAACGGCAAGGCGACG
TTAACCGTCGACACAAGCAGCAGCACCCTACATGCAGCTGAGCAGCCTGACAAGCGAGGACAGCGCC
GTGTACTTCTGCGCTAGAAGCGGCTACTATGGCTCCCCTAAATTGGGCGGCGACTACTGGGGCCAAGGC
ACCACACTGACGGTTAGCTCC

SEQ ID NO: 47

Sequence Name: Antibody GPN07-1 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QIVLTQSPAISASLGEITLTCSASSSISYMHYQQKSGTSPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTF
YSLTISSVEAEDAADYYCHQWNSYPCTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO: 48

Sequence Name: Antibody GPN07-1 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCATCATGAGCGCTAGCCTGGGCGAGGAGATCACCTGACCTGC
AGCGCTAGCAGCAGCATCAGCTACATGCACTGGTATCAGCAGAAGAGCGGTACAAGCCCTAAGCTGCTG
ATCTACAGCACAAGCAACCTGGCTAGCGGCGTGCCTAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCTTC
TACAGCCTGACCATCAGCAGCGTGGAGGCCGAGGACGCCGCCGACTACTACTGCCATCAGTGGAACAGC

TACCCTTGACCTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

SEQ ID NO: 49

Sequence Name: Antibody GPN11-10 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GYTFTDCY

SEQ ID NO: 50

Sequence Name: Antibody GPN11-10 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGGTACACCTTTACCGACTGCTAC

SEQ ID NO: 51

Sequence Name: Antibody GPN11-10 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

INPNSGYT

SEQ ID NO: 52

Sequence Name: Antibody GPN11-10 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATCAACCCCAACAGTGGCTACACG

SEQ ID NO: 53

Sequence Name: Antibody GPN11-10 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

TRGDYYTSNLYDWFAY

SEQ ID NO: 54

Sequence Name: Antibody GPN11-10 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ACAAGAGGCGATTACTACACCTCCAATCTCTATGACTGGTTTGCATAC

SEQ ID NO: 55

Sequence Name: Antibody GPN11-10 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QTVGTV

SEQ ID NO: 56

Sequence Name: Antibody GPN11-10 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGACCGTAGGGACTGTG

SEQ ID NO: 57

Sequence Name: Antibody GPN11-10 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

WAT

SEQ ID NO: 58

Sequence Name: Antibody GPN11-10 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TGGGCAACG

SEQ ID NO: 59

Sequence Name: Antibody GPN11-10 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

LQYGSVPPT

SEQ ID NO: 60

Sequence Name: Antibody GPN11-10 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CTGCAGTATGGCAGCGTTCCACCCACC

SEQ ID NO: 61

Sequence Name: Antibody GPN11-10 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QVNLLQSGAALVKPGASVRLSCKTSGYTFITDCYIHWVRQSHGKSLEWIGFINPNSGYTFYNEKFKSKAT

LTVAKSTNTAYMELSRLTSEDSATYFCTRGDYITSNLYDWFAYWQQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 62

Sequence Name: Antibody GPN11-10 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGGTCAATCTGCTGCAGTCCGGAGCTGCATTGGTCAAACCCGGAGCCAGCGTACGGCTTTCCTGTAAG

ACATCTGGGTACACCTTTACCGACTGCTACATTCAGTGGGTAAGGCAGTCACATGGGAAGAGCCTTGAG

TGGATTGGCTTCATCAACCCCAACAGTGGCTACACGTTCTACAACGAGAAGTTCAAGTCCAAAGCTACA

CTGACAGTGGCCAAAAGCACCAACACTGCCTATATGGAGCTGTCACGCTTGACATCCGAAGATAGTGCC

ACATATTTCTGCACAAGAGGCGATTACTACACCTCCAATCTCTATGACTGGTTTGCATACTGGGGTCAA

GGCACCTGGTTACCGTGTCTCT

SEQ ID NO: 63

Sequence Name: Antibody GPN11-10 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

DTVMTQSPASMSTSVGERVTVNCKASQTVGTVVAWFQQKPGQSPKRLIYWATNRHTGVPDRFTGSGFGR

DFSLTISNVEAEDLAVYYCLQYGSVPPTFGGGTKLELK

SEQ ID NO: 64

Sequence Name: Antibody GPN11-10 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GACACAGTCATGACCCAATCACCAGCATCCATGAGCACTTCAGTTGGCGAGAGAGTGACCGTGAAGTGT
AAGGCCTCTCAGACCGTAGGGACTGTGGTTGCCTGGTTCCAGCAGAAACCAGGGCAAAGCCCCAAACGG
CTGATATACTGGGCAACGAATCGACACACTGGTGTACCTGACCGCTTTACCGGCAGTGGGTTCGGAAGG
GACTTCTCCCTCACCATTTCGAACGTCGAAGCCGAAGATCTTGCCGTGTACTATTGCCTGCAGTATGGC
AGCGTTCCACCCACCTTTGGAGGAGGCACAAAGTTGGAGCTGAAG

SEQ ID NO: 65

Sequence Name: Antibody GPN15-2 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GYTFTNHN

SEQ ID NO: 66

Sequence Name: Antibody GPN15-2 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGCTACACATTTACCAATCACAAT

SEQ ID NO: 67

Sequence Name: Antibody GPN15-2 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

FYTGNGDT

SEQ ID NO: 68

Sequence Name: Antibody GPN15-2 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TTTTATACAGGAAATGGTGATACT

SEQ ID NO: 69

Sequence Name: Antibody GPN15-2 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

ARERYDGYIAMDY

SEQ ID NO: 70

Sequence Name: Antibody GPN15-2 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCAAGAGAAAGGTATGATGGTTACTATATTGCTATGGACTAC

SEQ ID NO: 71

Sequence Name: Antibody GPN15-2 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

SSVYY

SEQ ID NO: 72

Sequence Name: Antibody GPN15-2 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TCGAGTGTGTATTAC

SEQ ID NO: 73

Sequence Name: Antibody GPN15-2 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

LTS

SEQ ID NO: 74

Sequence Name: Antibody GPN15-2 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CTCACATCC

SEQ ID NO: 75

Sequence Name: Antibody GPN15-2 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QQWSSNPQWT

SEQ ID NO: 76

Sequence Name: Antibody GPN15-2 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGCAGTGGAGTAGTAACCCACAGTGGACG

SEQ ID NO: 77

Sequence Name: Antibody GPN15-2 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTNHNMHVVKQTPGQGLEWIGAFYTGNGDTSYNQKFKGKAT

LTADKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCARERYDGYIAMDYWGQGTSTVTVSS

SEQ ID NO: 78

Sequence Name: Antibody GPN15-2 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGGTACAACGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGATGTCCTGCAAG

GCTTCTGGCTACACATTTACCAATCACAATATGCACTGGGTAAAGCAGACACCTGGACAGGGCCTGGAA

TGGATTGGAGCTTTTTATACAGGAAATGGTGATACTTCCTACAATCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACA

TTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCG

GTCTATTACTGTGCAAGAGAAAGGTATGATGGTTACTATATTGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACC

TCAGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 79

Sequence Name: Antibody GPN15-2 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QIVLTQSPAFMSVSPGEKVTMTCSASSSVYYMFYQQKPRSSPKWIYLTSLASGVPARFSGSGSGTS
YSVTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPQWTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO: 80

Sequence Name: Antibody GPN15-2 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCATTGCTGTATCTCCAGGGGAGAAGGTCACCATGACCTGC
AGTGCCAGCTCGAGTGTGTATTACATGTTCTGGTACCAGCAGAAGCCAAGATCCTCCCCAAACCCTGG
ATTATCTCACATCCAAGCTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCT
TACTCTGTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGTGGAGTAGT
AACCACAGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA

SEQ ID NO: 81

Sequence Name: Antibody GPN15-3 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GFSLTTSGMG

SEQ ID NO: 82

Sequence Name: Antibody GPN15-3 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGGTTTTCACTGACCACTTCTGGTATGGGT

SEQ ID NO: 83

Sequence Name: Antibody GPN15-3 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

MWWDDDK

SEQ ID NO: 84

Sequence Name: Antibody GPN15-3 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGTGGTGGGATGACGATAAG

SEQ ID NO: 85

Sequence Name: Antibody GPN15-3 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

ARRVYSSWFAY

SEQ ID NO: 86

Sequence Name: Antibody GPN15-3 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCTCGAAGAGTCTACAGTAGTTGGTTTGCTTAC

SEQ ID NO: 87

Sequence Name: Antibody GPN15-3 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QNVGAN

SEQ ID NO: 88

Sequence Name: Antibody GPN15-3 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGAAATGTGGGTGCTAAT

SEQ ID NO: 89

Sequence Name: Antibody GPN15-3 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

SAS

SEQ ID NO: 90

Sequence Name: Antibody GPN15-3 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TCGGCATCC

SEQ ID NO: 91

Sequence Name: Antibody GPN15-3 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QQYNNYPLT

SEQ ID NO: 92

Sequence Name: Antibody GPN15-3 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGCAATATAACAACCTATCCTCTCAG

SEQ ID NO: 93

Sequence Name: Antibody GPN15-3 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLTTSGMGVGWIRQPSGKGLEWLADMWWDDDKNYNPSLKSRL

TISKDNSKKQVFLKIASVDTADTATYYCARRVYSSWFAYWGQGLVTVSA

SEQ ID NO: 94

Sequence Name: Antibody GPN15-3 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGGTTACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGAATATTGCAGCCCTCCCAGACCCTCAGTCTGACTTGTTCT
TTCTCTGGGTTTTCACTGACCACTTCTGGTATGGGTGTAGGCTGGATTCTGCAGCCTTCAGGAAAGGGT
CTAGAGTGGCTGGCAGACATGTGGTGGGATGACGATAAGAATTATAATCCATCCCTGAAGAGCCGGCTC
ACAATCTCCAAGGATAACTCCAAAAAGCAGGTATTCCTCAAGATCGCCAGTGTGGACACTGCAGATACT
GCCACTTACTACTGTGCTCGAAGAGTCTACAGTAGTTGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTC
ACTGTCTCTGCA

SEQ ID NO: 95

Sequence Name: Antibody GPN15-3 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

DGDIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTKASQNVGANVAWYQQKPGQSPKTLIYSASYRYGGVPDRFTGSGS
GTDFTFTITNVQSEDLAEYFCQQYNNYPLTFGAGTKLDLK

SEQ ID NO: 96

Sequence Name: Antibody GPN15-3 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GATGGAGACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTC
ACCTGCAAGGCCAGTCAGAATGTGGGTGCTAATGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCT
AAAACACTGATTTATTCGGCATCCTACCGGTACGGTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCT
GGGACAGATTTCACTTTACCATCACTAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAGTATTTCTGTCAGCAA
TATAACAACATATCCTCTCACGTTCCGGTGCTGGGACCAAGTTGGACCTGAAA

SEQ ID NO: 97

Sequence Name: Antibody GPN18-4 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GYTLSSYW

SEQ ID NO: 98

Sequence Name: Antibody GPN18-4 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGCTACACTTTAAGTAGTTATTGG

SEQ ID NO: 99

Sequence Name: Antibody GPN18-4 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

INPSNNYT

SEQ ID NO: 100

Sequence Name: Antibody GPN18-4 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATTAATCCTAGCAATAATTATACT

SEQ ID NO: 101

Sequence Name: Antibody GPN18-4 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

ATWGY

SEQ ID NO: 102

Sequence Name: Antibody GPN18-4 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCAACATGGGGCTAC

SEQ ID NO: 103

Sequence Name: Antibody GPN18-4 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QDVSTA

SEQ ID NO: 104

Sequence Name: Antibody GPN18-4 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGGATGTGAGTACTGCT

SEQ ID NO: 105

Sequence Name: Antibody GPN18-4 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

SAS

SEQ ID NO: 106

Sequence Name: Antibody GPN18-4 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TCGGCATCT

SEQ ID NO: 107

Sequence Name: Antibody GPN18-4 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QHHYTTTWT

SEQ ID NO: 108

Sequence Name: Antibody GPN18-4 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGCACCATTATACTACTACGTGGACG

SEQ ID NO: 109

Sequence Name: Antibody GPN18-4 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QVQLQQSGAELTKPGTSVKMSCKASGYTLSSYWMNWIKQRPQGQLEWIGTINPSNNYTAYNLKFKDKAM
LTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCATWGYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 110

Sequence Name: Antibody GPN18-4 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCTGAACTGACAAAACCTGGGACCTCAGTGAAGATGTCCTGCAAG
GCCTCTGGCTACACTTTAAGTAGTTATTGGATGAACTGGATAAACAGAGGCCTGGACAAGGTCTGGAA
TGGATTGGGACTATTAATCCTAGCAATAATTATACTGCATACAATCTGAAGTTTAAGGACAAGGCCATG
TTGACTGCAGACAAATCCTCCAGTACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCA
GTCTATTACTGTGCAACATGGGGCTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 111

Sequence Name: Antibody GPN18-4 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWHQKPGQPPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGT
DFTFTISSVQTEDLAIYYCQHYYTTTWTFGGKLEIR

SEQ ID NO: 112

Sequence Name: Antibody GPN18-4 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCATCACCTGC
AAGGCCAGTCAGGATGTGAGTACTGCTGTAGCCTGGCATCAACAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTA
CTGATTTACTCGGCATCTTACCGGTACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACG
GATTTCACTTTACCATCAGCAGTGTGCAGACTGAAGACCTGGCAATTTATTACTGTCAGCACCATTAT
ACTACTACGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAGA

SEQ ID NO: 113

Sequence Name: Antibody GPN18-1 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GFSLSTSVMG

SEQ ID NO: 114

Sequence Name: Antibody GPN18-1 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGCTTCTCTGTCCACATCTGTGATGGGC

SEQ ID NO: 115

Sequence Name: Antibody GPN18-1 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

IWWDDDK

SEQ ID NO: 116

Sequence Name: Antibody GPN18-1 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATCTGGTGGGACGACGATAAG

SEQ ID NO: 117

Sequence Name: Antibody GPN18-1 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

ARAYYSNYEYYGMDY

SEQ ID NO: 118

Sequence Name: Antibody GPN18-1 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCCCGCGCTTATTACTCTAACTACGAGTACTATGGCATGGATTAC

SEQ ID NO: 119

Sequence Name: Antibody GPN18-1 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QSIVHSNGNTY

SEQ ID NO: 120

Sequence Name: Antibody GPN18-1 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGAGCATTGTTTCATAGTAATGGAAACACCTAT

SEQ ID NO: 121

Sequence Name: Antibody GPN18-1 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

KVS

SEQ ID NO: 122

Sequence Name: Antibody GPN18-1 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

AAGGTTTCC

SEQ ID NO: 123

Sequence Name: Antibody GPN18-1 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

FQGSHVPFT

SEQ ID NO: 124

Sequence Name: Antibody GPN18-1 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TTTCAAGGTTACATGTTCCATTACG

SEQ ID NO: 125

Sequence Name: Antibody GPN18-1 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QVTLKESGPILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSVMGVGWIRQPSGKLEWLADIWWDDDKDYNPSLKSRL
TISKDTSKNQVFLKIASVDTADTATYYCARAYYSNYEYYGMDYWGQGTSTVTVSS

SEQ ID NO: 126

Sequence Name: Antibody GPN18-1 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGGTCACACTGAAAGAGTCTGGTCCCGGCATCCTGCAGCCTTCTCAGACCCTGTCTCTGACCTGTAGC
TTCTCCGGCTTCTCTCTGTCCACATCTGTGATGGGCGTGGGCTGGATCAGACAGCCTTCTGGCAAGGGC
CTGGAGTGGCTGGCTGACATCTGGTGGGACGACGATAAGGATTACAACCCTTCCCTGAAGTCTCGGCTG
ACCATCAGCAAGGATACATCCAAGAATCAGGTGTTCTGAAGATCGCTTCTGTGGACACCGCCGACACC
GCCACATATTACTGTGCCCGCGCTTATTACTCTAACTACGAGTACTATGGCATGGATTACTGGGGCCAG
GGCACATCTGTGACAGTGTCTTCC

SEQ ID NO: 127

Sequence Name: Antibody GPN18-1 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSQVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDLGYYCFQGSHVPFTFGSGTKLEIK

SEQ ID NO: 128

Sequence Name: Antibody GPN18-1 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GATGTTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGC
AGATCTAGTCAGAGCATTGTTTCATAGTAATGGAAACACCTATTTAGAATGGTACCTGCAGAAACCAGGC
CAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAGGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAAGTGGC
AGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTAC
TGCTTTCAAGGTTACATGTTCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGAAATAAAA

SEQ ID NO: 129

Sequence Name: Antibody GPN18-2 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GFSLSTVMG

SEQ ID NO: 130

Sequence Name: Antibody GPN18-2 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGGTTTTCACTGAGTACTTCTGTT

SEQ ID NO: 131

Sequence Name: Antibody GPN18-2 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

IWWDDDK

SEQ ID NO: 132

Sequence Name: Antibody GPN18-2 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATTTGGTGGGATGACGATAAG

SEQ ID NO: 133

Sequence Name: Antibody GPN18-2 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

ARTYYSNYEYGYMDY

SEQ ID NO: 134

Sequence Name: Antibody GPN18-2 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCTCGAACCTACTATAGTAACTACGAATACTATGGTATGGACTAC

SEQ ID NO: 135

Sequence Name: Antibody GPN18-2 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QTIILSNGNTY

SEQ ID NO: 136

Sequence Name: Antibody GPN18-2 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGACCATTATACTTAGTAATGGAAACACCTAT

SEQ ID NO: 137

Sequence Name: Antibody GPN18-2 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

KVS

SEQ ID NO: 138

Sequence Name: Antibody GPN18-2 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

AAAGTTTCC

SEQ ID NO: 139

Sequence Name: Antibody GPN18-2 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

FQGSHVPFT

SEQ ID NO: 140

Sequence Name: Antibody GPN18-2 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TTTCAAGGTTACATGTTCCATTCACG

SEQ ID NO: 141

Sequence Name: Antibody GPN18-2 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSVMGVGWIRQPSGKGLEWLADIWWDDDKDYNPSLKSRL

TISKDTSKNQVFLKIASVDTADTATYYCARTYYSNYEYYGMDYWGQGTSVTVSS

SEQ ID NO: 142

Sequence Name: Antibody GPN18-2 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGGTTACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGAATATTGCAGCCCTCCCAGACCCTCAGTCTGACTTGTCT

TTCTCTGGGTTTTCACTGAGTACTTCTGTTATGGGTGTAGGCTGGATTGCTCAGCCTTCAGGAAAGGGT

CTAGAGTGGCTGGCAGACATTTGGTGGGATGACGATAAGGACTATAACCCATCCCTGAAGAGCCGGCTC

ACAATCTCCAAGGATACCTCCAAAAACCAGGTATTCCTCAAGATCGCCAGTGTGGACACTGCAGATACT

GCCACTTACTACTGTGCTCGAACCTACTATAGTAACGAACTATGGTATGGACTACTGGGGTCAA

GGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 143

Sequence Name: Antibody GPN18-2 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

DVLMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQTIILSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEADLGVYYCFQGSHVPFTFGSGTKLEIK

SEQ ID NO: 144

Sequence Name: Antibody GPN18-2 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GACGTTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGC
AGATCTAGTCAGACCATTATACTTAGTAATGAAACACCTATTTAGAATGGTACCTGCAGAAACCAGGC
CAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAAGTGGC
AGTGGATCGGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTAC
TGTTTTCAAGGTTACATGTTCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTAGAAATAAAA

SEQ ID NO: 145

Sequence Name: Antibody GPN18-6 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GYTFDY

SEQ ID NO: 146

Sequence Name: Antibody GPN18-6 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGATACACATTCACTGACTACTAC

SEQ ID NO: 147

Sequence Name: Antibody GPN18-6 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

INPINGDI

SEQ ID NO: 148

Sequence Name: Antibody GPN18-6 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATTAATCCGATCAATGGTGATATT

SEQ ID NO: 149

Sequence Name: Antibody GPN18-6 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

AREAFFGYKGNFYDY

SEQ ID NO: 150

Sequence Name: Antibody GPN18-6 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCAAGAGAGGCTTTCTTTGGTTACAAGGGGAAGTACTTTGACTAC

SEQ ID NO: 151

Sequence Name: Antibody GPN18-6 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

ESVDNYGISF

SEQ ID NO: 152

Sequence Name: Antibody GPN18-6 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GAAAGTGTGATAATTATGGCATTAGTTTT

SEQ ID NO: 153

Sequence Name: Antibody GPN18-6 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

AAS

SEQ ID NO: 154

Sequence Name: Antibody GPN18-6 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCTGCATCC

SEQ ID NO: 155

Sequence Name: Antibody GPN18-6 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QQTKEVPYT

SEQ ID NO: 156

Sequence Name: Antibody GPN18-6 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGCAAATAAGGAGGTCCGTACACG

SEQ ID NO: 157

Sequence Name: Antibody GPN18-6 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

EVQLQQSGPELVMPGSSVKISCKASGYTFTDYMNWVRQSHGKSLEWIGDINPINGDITYNQKFKGKAT

LTVDKSSSTDYME LRGLTSEDSAVYYCAREAFFGYKGNFYDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 158

Sequence Name: Antibody GPN18-6 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGGCCTGAGCTGGTGATGCCTGGGTCTTCAGTGAAGATATCATGTAAG
GCTTCTGGATACACATTCACTGACTACTACATGAACTGGGTGAGGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAG
TGGATTGGAGATATTAATCCGATCAATGGTGATATTACCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACA
TTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAGACTACATGGAGCTCCGCGGCCTGACATCTGAGGACTCTGCA
GTCTATTACTGTGCAAGAGAGGCTTTCTTTGGTTACAAGGGGAAGTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGC
ACCACTCTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 159

Sequence Name: Antibody GPN18-6 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGISFMSWFQQKPGQPPKLLIYAASNQSGVPAKFSGS
GSGTDFSLNIHPMEEDDPAMYFCQQTKEVPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO: 160

Sequence Name: Antibody GPN18-6 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGGCCACCATCTCCTGC
AGAGCCAGCGAAAGTGTTGATAATTATGGCATTAGTTTTATGAGCTGGTTCCAACAGAAACCAGGACAG
CCACCCAACTCCTCATCTATGCTGCATCCAACCAAGGATCCGGGGTCCCTGCCAAGTTTAGTGGCAGT
GGGTCTGGGACAGACTTCAGCCTCAACATCCATCCTATGGAGGAGGATGATCCTGCAATGTATTTCTGT
CAGCAAATAAGGAGGTTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA

SEQ ID NO: 161

Sequence Name: Antibody GPN18-7 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GFSLSTSVMG

SEQ ID NO: 162

Sequence Name: Antibody GPN18-7 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGGTTTTCACTGAGTACTTCTGTTATGGGT

SEQ ID NO: 163

Sequence Name: Antibody GPN18-7 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

IWWDDDK

SEQ ID NO: 164

Sequence Name: Antibody GPN18-7 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATTGGTGGGATGACGATAAG

SEQ ID NO: 165

Sequence Name: Antibody GPN18-7 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

ARAYYSNFEYYGMDY

SEQ ID NO: 166

Sequence Name: Antibody GPN18-7 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCTCGAGCCTACTATAGTAACTTCGAATACTATGGTATGGACTAC

SEQ ID NO: 167

Sequence Name: Antibody GPN18-7 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QTIVHSNGNTY

SEQ ID NO: 168

Sequence Name: Antibody GPN18-7 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGACCATTGTACATAGTAATGGAAACACCTAT

SEQ ID NO: 169

Sequence Name: Antibody GPN18-7 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

KVS

SEQ ID NO: 170

Sequence Name: Antibody GPN18-7 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

AAAGTTTCC

SEQ ID NO: 171

Sequence Name: Antibody GPN18-7 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

FQGSHVPFT

SEQ ID NO: 172

Sequence Name: Antibody GPN18-7 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TTTCAAGGTTACATGTTCCATTACG

SEQ ID NO: 173

Sequence Name: Antibody GPN18-7 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSVMGVGWIRQPSGKGLEWLADIWWDDDKDYNPSLKSRL
TISKDTSKNQVFLKIASVDTADTATYYCARAYYSNFEYYGMDYWGGQTSVTVSS

SEQ ID NO: 174

Sequence Name: Antibody GPN18-7 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGGTTACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGAATATTGCAGCCCTCCCAGACCCTCAGTCTGACTTGTTCT
TTCTCTGGGTTTTCACTGAGTACTTCTGTTATGGGTGTAGGCTGGATTCTGCAGCCTTCAGGAAAGGT
CTTGAGTGGCTGGCAGACATTTGGTGGGATGACGATAAGGACTATAACCCATCTCTGAAGAGCCGGCTC
ACAACTCTCCAAGGATACCTCCAAAACCAGGTATTCCTCAAGATCGCCAGTGTGGACACTGCAGATACT
GCCACTTACTACTGTGCTCGAGCCTACTATAGTAACCTCGAATACTATGGTATGGACTACTGGGGTCAA
GGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 175

Sequence Name: Antibody GPN18-7 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

DVLMTQIPLSLPVSLGDQASISCRSSQTIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSG
SGSGTDFTLKISRVEAEDLGYYCFQGSHVPFTFGSGTKLEIK

SEQ ID NO: 176

Sequence Name: Antibody GPN18-7 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GATGTTTTGATGACCCAAATCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGC
AGATCTAGTCAGACCATTGTACATAGTAATGAAACACCTATTTAGAATGGTACCTGCAGAAACCAGGC
CAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCACTGGC
AGTGGATCGGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTAC
TGCTTTCAAGGTTACATGTTCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGAAATAAAA

SEQ ID NO: 177

Sequence Name: Antibody GPN18-5 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GYTFTTYWMN

SEQ ID NO: 178

Sequence Name: Antibody GPN18-5 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGCTACACCTTTACTACCTACTGGATGAAC

SEQ ID NO: 179

Sequence Name: Antibody GPN18-5 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

INPSNDYT

SEQ ID NO: 180

Sequence Name: Antibody GPN18-5 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATTAATCCTAGCAATGATTATACT

SEQ ID NO: 181

Sequence Name: Antibody GPN18-5 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GRSYSPDY

SEQ ID NO: 182

Sequence Name: Antibody GPN18-5 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGAAGGAGTTACTCCCCTGACTAC

SEQ ID NO: 183

Sequence Name: Antibody GPN18-5 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QNVDNH

SEQ ID NO: 184

Sequence Name: Antibody GPN18-5 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGAATGTGGATAATCAT

SEQ ID NO: 185

Sequence Name: Antibody GPN18-5 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

SAS

SEQ ID NO: 186

Sequence Name: Antibody GPN18-5 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TCGGCATCC

SEQ ID NO: 187

Sequence Name: Antibody GPN18-5 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QQYKSYPT

SEQ ID NO: 188

Sequence Name: Antibody GPN18-5 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGCAATATAAAAGCTATCCATTCACG

SEQ ID NO: 189

Sequence Name: Antibody GPN18-5 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QVQLQQSGAELAKPGTSVKMSCKASGYTFTTYWMNVKQRPQDLEWIGAINPSNDYTEYNQKFKDKAI
LTADKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCGRSPDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 190

Sequence Name: Antibody GPN18-5 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCTGAACTGGCAAAACCTGGGACCTCAGTGAAGATGTCCTGCAAG
GCTTCTGGCTACACCTTTACTACCTACTGGATGAACTGGGTAAAACAGAGGCCTGGACAGGATCTGGAA
TGGATTGGGGCTATTAATCCTAGCAATGATTATACTGAGTACAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCATA
TTGACTGCAGACAAATCCTCCAACACAGCCTACATGCAACTGAGTAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCA
GTCTATTACTGTGGAAGGAGTTACTCCCCTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCATCA

SEQ ID NO: 191

Sequence Name: Antibody GPN18-5 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVNHNVAWHQQKPGQSPKALIYSASYRYSQVDPDRFTGSGSGT
DFTLTIRDVQSEDLADYFCQQYKSYPTFTGSGTELEIK

SEQ ID NO: 192

Sequence Name: Antibody GPN18-5 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGC
AAGGCCAGTCAGAATGTGGATAATCATGTAGCCTGGCATCAACAGAAACCAGGGCAGTCTCCTAAGGCA
CTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACA
GATTTCACTCTACCATCCGCGATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGACTATTTCTGTCAGCAATATAAA
AGCTATCCATTACGTTTCGGCTCGGGACAGAGTTGGAATAAAA

SEQ ID NO: 193

Sequence Name: Antibody 1-5E CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GFNIKDY

SEQ ID NO: 194

Sequence Name: Antibody 1-5E CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGCTTCAACATTAAAGACTACTAT

SEQ ID NO: 195

Sequence Name: Antibody 1-5E CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

IDPENGDT

SEQ ID NO: 196

Sequence Name: Antibody 1-5E CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATTGATCCTGAGAATGGTGATACT

SEQ ID NO: 197

Sequence Name: Antibody 1-5E CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

NGVYYGSRGFFDY

SEQ ID NO: 198

Sequence Name: Antibody 1-5E CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

AATGGAGTTTACTACGGTAGTAGAGGGTTCTTTGACTAC

SEQ ID NO: 199

Sequence Name: Antibody 1-5E CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QSLLDSDGKTY

SEQ ID NO: 200

Sequence Name: Antibody 1-5E CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGAGCCTCTTAGATAGTGATGGAAAGACATAT

SEQ ID NO: 201

Sequence Name: Antibody 1-5E CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

LVS

SEQ ID NO: 202

Sequence Name: Antibody 1-5E CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CTGGTGTCT

SEQ ID NO: 203

Sequence Name: Antibody 1-5E CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

CQITHFPFT

SEQ ID NO: 204

Sequence Name: Antibody 1-5E CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TGCCAAATTACACATTTTCATTACAG

SEQ ID NO: 205

Sequence Name: Antibody 1-5E VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

EVQLQQSGAELVRSGASVKLSCTASGFNIKDYIMHWVKQRPDQGLEWIGWIDPENGDEYAPKFQ GKAT

MTADTSPNTAYLQLSSLTSED TAVYYCNGVYYGSRGFFDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 206

Sequence Name: Antibody 1-5E VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAGCTTGTGAGGTCAGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCCTGCACA

GCTTCTGGCTTCAACATTAAAGACTACTATATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGATCAGGGCCTGGAG

TGGATTGGATGGATTGATCCTGAGAATGGTGATACTGAATACGCCCCGAAGTTCAGGGCAAGGCCACT

ATGACTGCAGACACATCCCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCC

GTCTATTACTGTAATGGAGTTTACTACGGTAGTAGAGGGTTCTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACT

CTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 207

Sequence Name: Antibody 1-5E VL

Sequence Type: AA
Organism Name: Mus musculus
DVVMTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLDSDGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTG
SGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCCQITHFPFTFGSGTKLEIK
SEQ ID NO: 208

Sequence Name: Antibody 1-5E VL
Sequence Type: DNA
Organism Name: synthetic construct
GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTTGTCGGTTACCATTGGACAACCAGCCTCCATCTCTTGC
AAGTCAAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGATGGAAAGACATATTTGAATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGC
CAGTCTCCAAAGCGCCTAATCTATCTGGTGTCTAAACTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTCACTGGC
AGTGGATCAGGGACAGATTTCACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATTAT
TGCTGCCAAATTACACATTTTCCATTCACGTTCTGGCTCGGGGACAAAGTTGAAATAAAA
SEQ ID NO: 209

Sequence Name: h_gpNMB FL (NP_001005340)
Sequence Type: AA
Organism Name: Homo sapiens
MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDVLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGMRW
KNSWKGGRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFPRCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW
SESDSGENGTGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNTANVTLGPQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVVVTDQIPVFVTMFQKNDRNSSDETFLKDLPIMFDVLIHDPHFHFLNY
STINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGTFSNLTVKAAAPGPCPPPPPPRPSKPTPSLATTLS
YDSNTPGPAGDNPLELSRIPDENCQINRYGHFQATITIVEGILEVNIQMTDVLMPVPWPPESSLIDFVV
TCQGSIPTEVCTIISDPTCEITQNTVCSPVDVDEMCLLTVRRTFNGSGTYCVNLTGDDTSLALTSTLI
SVPDRDPASPLRMANSALISVGCLAIFVTVISLLVYKKHKEYNPIENSPGNVVRSGKLSVFLNRAKAVF
FPGNQEKDPLLKNQEFKGS
SEQ ID NO: 210

Sequence Name: h_gpNMB FL (NM_001005340)

Sequence Type: DNA

Organism Name: Homo sapiens

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAATCAATTAAATGGC
TGGTCTTCTGATGAAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGGAGACATGAGGTGG
AAAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGGCGGTCTGACCAGTGA CTACCAGCCCTCGTGGGCTCA
AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAACCTGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGGAAAATGGCACCGGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT
TTTCTCACCACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTTTCATCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTT
CAGAAATTGGGACGATGTTTCAGTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCCTCAACTC
ATGGAAGTGACTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAGTGAAAGATGTGTAC
GTGGTAACAGATCAGATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGACGATCGAAATTCATCCGACGAA
ACCTTCCTCAAAGATCTCCCCATTATGTTTGATGTCCTGATTCATGATCCTAGCCACTTCCTCAATTAT
TCTACCATTAAGTACAAGTGGAGCTTCGGGGATAATACTGGCCTGTTTGTTCACCAATCATACTGTG
AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAGCCTTAACCTCACTGTGAAAGCTGCAGCACCAGGACCT
TGTCGCCACCGCCACCACCACCCAGACCTTCAAACCCACCCCTTCTTTAGCAACTACTCTAAAATCT
TATGATTCAAACACCCAGGACCTGCTGGTGACAACCCCTGGAGCTGAGTAGGATTCCTGATGAAAAC
TGCCAGATTAACAGATATGGCCACTTTCAAGCCACCATCACAATTGTAGAGGGAATCTTAGAGGTAAAC
ATCATCCAGATGACAGACGTCCTGATGCCGGTGCCATGGCCTGAAAGCTCCCTAATAGACTTTGTCGTG
ACCTGCCAAGGGAGCATTCCACGGAGGTCTGTACCATCATTTCTGACCCACCTGCGAGATCACCAG
AACACAGTCTGCAGCCCTGTGGATGTGGATGAGATGTGTCTGCTGACTGTGAGACGAACCTTCAATGGG
TCTGGGACGTACTGTGTGAACCTCACCTGGGGGATGACACAAGCCTGGCTCTCAGGAGCACCTGATT
TCTGTTCTGACAGAGACCCAGCCTCGCCTTTAAGGATGGCAAACAGCGCCCTGATCTCCGTTGGCTGC
TTGGCCATATTTGTCAGTGTGATCTCCCTCTTGGTGTACAAAAACACAAGGAATACAACCAATAGAA
AATAGTCCTGGGAATGTGGTCAGAAGCAAAGGCCTGAGTGTCTTTCTCAACCGTGCAAAGCCGTGTTT
TTCCCGGGAACCCAGGAAAAGGATCCGCTACTCAAAACCAAGAATTTAAAGGAGTTTCT

SEQ ID NO: 211

Sequence Name: m_gpNMB FL (NP_444340)

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

MESLCGVLGFLLLAAGLPLQAAKRFRDVLGHEQYPNHMREHNQLRGWSSDENWEHLYPVWRRGDGRW
KDSWEGGRVQAVLTSDSPALVGSNITFVNLVFPRCQKEDANGNIVYEKNCRNDLGLTSDLHVYNWTAG
ADDGDWEDGTSRSQHLRFPDRRPFPRPHGWKKWSFVYVFHTLGQYFQKLGRCSARVSINTVNLTAGPQV
MEVTVFRRYGRAYIPISKVKDVYVITDQIPVFVTMSQKNDRLSDEIFLRDLPIVFDVLIHDP SHFLND
SAISYKWNFGDNTGLFVSNHNTLNHTYVLNGTFNLNLTVQTAVPGPCPPSPSTPPPPSTPPSPPPSPL
PTLSTPSPSLMPTGYKSMELSDISNENCRINRYGYFRATITIVEGILEVSIMQIADVPMPTPQPANSLM
DFTVTCKGATPMEACTIISDPTCQIAQNRVCSPVAVDGLCLLSVRRAFNGSGTYCVNFTLGDDASLALT
STLISIPGKDPDSPLRAVNGVLISIGCLAVLVTMTILLYKKHKAYKPIGNCPRNTVKGKGLSVLLSHA
KAPFFRGDQEKDPLLQDKPRTL

SEQ ID NO: 212

Sequence Name: m_gpNMB FL (NM_053110)

Sequence Type: DNA

Organism Name: Mus musculus

ATGGAAGTCTCTGCGGGGTCCTGGGATTTCTGCTGCTGGCTGCAGGACTGCCTCTCCAGGCTGCCAAG
CGATTTCTGTATGTGCTGGGCCATGAACAGTATCCCAATCACATGAGAGAGCACAACCAATTACGTGGC
TGGTCTTCGGATGAAATGAATGGGATGAACACCTGTATCCAGTGTGGAGGAGGGGAGACGGCAGGTGG
AAGGACTCCTGGGAAGGAGGCCGTGTGCAGGCAGTCTGACCACTGACTCACCAGCTCTGGTGGGTTCC
AATATCACCTTTGTGGTGAACCTGGTGTTCCTCCAGATGCCAGAAGGAAGATGCTAATGGCAATATCGTC
TATGAGAAGAACTGCAGGAATGATTTGGGACTGACCTCTGACCTGCATGTCTACAACTGGACTGCAGGG
GCAGATGATGGTGAAGATGGCACCAGCCGAAGCCAGCATCTCAGGTTCCCGGACAGGAGGCC
TTCCCTCGCCCCATGGATGGAAGAAATGGAGCTTTGTCTACGTCTTTCACACACTTGGCCAGTATTTTC
CAAAAAGTGGTGGTGTTCAGCACGGGTTTCTATAAACACAGTCAACTTGACAGCTGGCCCTCAGGTC
ATGGAAGTGAAGTGTCTTTTGAAGATACGGCCGGGCATACATTCCCATCTCGAAGGTGAAAGATGTGTAT
GTGATAACAGATCAGATCCCTGTATTCGTGACCATGTCCCAGAAGAATGACAGGAAGTGTCTGATGAG
ATCTTCCTCAGAGACCTCCCCATCGTCTTCGATGTCCTCATTCTGATCCCAGCCACTTCCTCAACGAC

TCTGCCATTTCTACAAGTGGAACTTTGGGGACAACACTGGCCTGTTTGTCTCCAACAATCACACTTTG
AATCACACTTATGTGCTCAATGGAACCTTCAACCTTAACCTCACCGTGCAAAGTGCAGTGCCCGGGCCA
TGCCCTCCCCCTTCGCCTTCGACTCCGCCTCCACCTTCAACTCCGCCCTCACCTCCGCCCTCACCTCTG
CCCACATTATCAACACCTAGCCCCTCTTTAATGCCTACTGGTTACAAATCCATGGAGCTGAGTGACATT
TCCAATGAAAAGTGCCGAATAAACAGATATGGCTACTTCAGAGCCACCATCACAATTGTAGAGGGGATC
CTGGAAGTCAGCATCATGCAGATAGCAGATGTCCCATGCCACACCGCAGCCTGCCAACTCCCTGATG
GACTTCACTGTGACCTGCAAAGGGGCCACCCCATGGAAGCCTGTACGATCATCTCCGACCCACCTGC
CAGATCGCCAGAACCGGGTCTGCAGCCCTGTGGCTGTGGATGGGCTGTGCCTGCTGTCTGTGAGAAGA
GCCTTCAATGGGTCTGGCACCTACTGTGTGAATTTCACTCTGGGAGATGATGCAAGCCTGGCCCTCACC
AGCACCTGATCTCTATCCCTGGCAAAGACCCAGACTCCCCTCTGAGAGCAGTGAATGGTGTCTGATC
TCCATTGGCTGCCTGGCTGTGCTTGTACCATGTTACCATCTTGCTGTACAAAAACACAAGGGGTAC
AAGCCAATAGGAAAGTGGCCAGGAACACGGTCAAGGGCAAAGGCCTGAGTGTCTCTCAGCCACGCG
AAAGCCCCGTTCTTCGAGGAGACCAGGAGAAGGATCCATTGCTCCAGGACAAGCCAAGGACACTC

SEQ ID NO: 213

Sequence Name: r_gpNMB FL (NP_579832)

Sequence Type: AA

Organism Name: Rattus norvegicus

MESLCGVLVFLLLAAGLPLQAAKRFRDVLGHEQYPDHMRENNQLRGWSSDENWDEQLYPVWRRGEGRW
KDSWEGGRVQAALTSDSPALVGSNITFVVLVFPKQKEDANGNIVYERNCRSDLELASDPYVYNWTTG
ADDEDWEDSTSQQQHLRFPDGKPFPRPHGRKKWNFVYVFHTLGQYFQKLGRCSARVSINTVNLTVGPQV
MEVIVFRRHGRAYIPISKVKDVYVITDQIPIFVTMYQKNDRNSSDETFLRDLPIFFDVLIHDPHFHLY
SAISYKWNFGDNTGLFVSNHNLNHTYVLNGTFNFLTQAVPGPCPSPTSPSSSTSPSPASSPSPT
LSTPSPSLMPTGHKSMELSDISNENCRINRYGYFRATITIVDGILEVNIQVADVPIPTPQPDNSLMDF
IVTCKGATPTEACTIISDPTCQIAQNRVCSPVAVDELCLLSVRRAFNGSGTYCVNFTLGDDASLALTS
LISIPGKDLGSPLRTVNGVLISIGCLAMFVTMTILLYKKHKTYKPIGNCTRNVVKGKGLSVFLSHAKA
PFSRGDREKDPLLQDKPWML

SEQ ID NO: 214

Sequence Name: r_gpNMB FL (NM_133298)

Sequence Type: DNA

Organism Name: *Rattus norvegicus*

ATGGAAGTCTCTGCGGGTCCTGGTATTTCTGCTGGCTGCAGGACTGCCGCTCCAGGCGGCCAAG
CGTTCCGTGATGTGCTGGGCCATGAGCAGTATCCGGATCACATGAGGGAGAACAACCAATTACGTGGC
TGGTCTTCAGATGAAAATGAATGGGATGAACAGCTGTATCCAGTGTGGAGGAGGGGAGAGGGCAGATGG
AAGGACTCCTGGGAAGGAGGCCGTGTGCAGGCAGCCCTAACCAAGTGATTCACCGGCCTTGGTGGGTTCC
AATATCACCTTCGTAGTGAACCTGGTGTTCCTCCAGATGCCAGAAGGAAGATGCCAACGGCAATATCGTC
TATGAGAGGAACTGCAGAAGTGATTTGGAGCTGGCTTCTGACCCGTATGTCTACAACTGGACCACAGGG
GCAGACGATGAGGACTGGGAAGACAGCACCAGCCAAGGCCAGCACCTCAGGTTCCCCGACGGGAAGCCC
TTCCTCGCCCCACGGACGGAAGAAATGGAACCTTCGTCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTT
CAAAAGCTGGGTGGTGTTCAGCACGAGTTTCTATAAACACAGTCAACTTGACAGTTGGCCCTCAGGTC
ATGGAAGTGATTGTCTTTGGAAGACACGGCCGGGCATACATTCCCATCTCCAAAGTGAAAGACGTGTAT
GTGATAACAGATCAGATCCCTATATTCGTGACCATGTACCAGAAGAATGACCGGAACCTCGTCTGATGAA
ACCTTCCTCAGAGACCTCCCCATTTTCTTCGATGTCTCATTACGATCCCAGTCATTTCTCAACTAC
TCTGCCATTTCTACAAGTGGAACCTTTGGGGACAACACTGGCCTGTTTGTCTCCAACAATCACACTTTG
AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAACTTTAACCTCACCGTGCAAACCTGCAGTGCCGGGACCA
TGCCCTCACCCACACCTTCGCCTTCTTCTCGACTTCTCCTTCGCCTGCATCTTCGCCTCACCCACA
TTATCAACACCTAGTCCCTCTTTAATGCCTACTGGCCACAAATCCATGGAGCTGAGTGACATTTCCAAT
GAAAACCTGCCGAATAAACAGATATGGTTACTTCAGAGCCACCATCACAATTGTAGATGGAATCCTAGAA
GTCAACATCATCCAGGTAGCAGATGTCCCAATCCCCACACCGCAGCCTGACAACCTCACTGATGGACTTC
ATTGTGACCTGCAAAGGGGCCACTCCACGGAAGCCTGTACGATCATCTCTGACCCACCTGCCAGATC
GCCCAGAACAGGGTGTGCAGCCCGGTGGCTGTGGATGAGCTGTGCCTCCTGTCCGTGAGGAGAGCCTTC
AATGGGTCCGGCACGTACTGTGTGAATTTCACTCTGGGAGACGATGCAAGCCTGGCCCTCACCAAGCGCC
CTGATCTCTATCCCTGGCAAAGACCTAGGCTCCCCTCTGAGAACAGTGAATGGTGTCTGATCTCCATT
GGCTGCCTGGCCATGTTTGTACCATGGTTACCATCTTGCTGTACAAAAACACAAGACGTACAAGCCA
ATAGGAAACTGCACCAGGAACGTGGTCAAGGGCAAAGGCCTGAGTGTTTTTCTCAGCCATGCAAAGCC
CCGTTCTCCCGAGGAGACCGGGAGAAGGATCCACTGCTCCAGGACAAGCCATGGATGCTC

SEQ ID NO: 215

Sequence Name: h_gpNMB ECD

Sequence Type: AA

Organism Name: Homo sapiens

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDVLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGMRW
KNSWKGGRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIIFRCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW
SESDSGENGTGQSHHNVPDGPFPHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNTANVTLGPQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVTQIPVFVTMFQKNDNRSSDETFLKDLPIIMFDVLIHDPHFNLNY
STINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGTFSNLTVKAAAPGPCPPPPPPRPSKPTPSLATTLS
YDSNTPGPAGDNPLELSRIPDENCQINRYGHFQATITIVEGILEVNIQMTDVLMPVPWPESLIDFVV
TCQGSIPTEVCTIISDPTCEITQNTVCSPVDVDEMCLLTVRRTFNGSGTYCVNLTLGDDTSLALTSTLI
SVPDRDPASPLRMAN

SEQ ID NO: 216

Sequence Name: h_gpNMB ECD

Sequence Type: DNA

Organism Name: Homo sapiens

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAATCAATTAATGGC
TGGTCTTCTGATGAAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGGAGACATGAGGTGG
AAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGGCGGTCTGACCAGTGACTCACCAGCCCTCGTGGGCTCA
AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAACCTGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGGAAAATGGCACGGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT
TTTCCTCACCACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTTCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTTC
CAGAAATTGGGACGATGTTTCTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCTCAACTC
ATGGAAGTGACTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAGTGAAAGATGTGTAC
GTGGTAACAGATCAGATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGAACGATCGAAATTCATCCGACGAA
ACCTTCCTCAAAGATCTCCCCATTATGTTTGATGTCCTGATTCATGATCCTAGCCACTTCCTCAATTAT
TCTACCATTAACATAAGTGGAGCTTCGGGGATAATACTGGCCTGTTTGTTCACCAATCATACTGTG

AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAGCCTTAACCTCACTGTGAAAGCTGCAGCACCAGGACCT
TGTCGGCCACCGCCACCACCACCCAGACCTTCAAAACCCACCCCTTCTTTAGCAACTACTCTAAAATCT
TATGATTCAAACACCCAGGACCTGCTGGTGACAACCCCTGGAGCTGAGTAGGATTCTGATGAAAAC
TGCCAGATTAACAGATATGGCCACTTTCAAGCCACCATCACAATTGTAGAGGGAATCTTAGAGGTTAAC
ATCATCCAGATGACAGACGTCCTGATGCCGGTGCCATGGCCTGAAAGCTCCCTAATAGACTTTGTCGTG
ACCTGCCAAGGGAGCATTCCCACGGAGGTCTGTACCATCATTTCTGACCCACCTGCGAGATCACCCAG
AACACAGTCTGCAGCCCTGTGGATGTGGATGAGATGTGTCTGCTGACTGTGAGACGAACCTTCAATGGG
TCTGGGACGTACTGTGTGAACCTCACCTGGGGGATGACACAAGCCTGGCTCTCACGAGCACCTGATT
TCTGTTCTGACAGAGACCCAGCCTCGCCTTTAAGGATGGCAAAC

SEQ ID NO: 217

Sequence Name: m_gpNMB ECD

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

MESLCGVLGFLLLAAGLPLQAAKRFRDVLGHEQYPDHMREHNQLRGWSSDENWEHLYPVWRRGDGRW
KDSWEGGRVQAVLTSDSPALVGSNITFVVNLVFPQCQKEDANGNIVYEKNCRNDLGLTSDLHVYNWTAG
ADDGDWEDGTSRSQHLRFPDRPFPRPHGWKKWSFVYVFHTLGQYFQKLGRCSARVSINTVNLTAGPQV
MEVTVFRRYGRAYIPISKVKDVYVITDQIPVFVTMSQKNDRLSDEIFLRDLPIVFDVLIHDP SHFLND
SAISYKWNFGDNTGLFVSNHTLNHTYVLNGTFNLNLTVQTAVPGPCPPSPSTPPPPSTPPSPPPSPL
PTLSTPSPSLMPTGYKSMELSDISNENCRINRYGYFRATITIVEGILEVSIMQIADVPMPTPQPANSLM
DFTVTCKGATPMEACTIISDPTCQIAQNRVCSPVAVDGLCLLSVRRAFNGSGTYCVNFTLGDDASLALT
STLISIPGKDPDSPLRAVN

SEQ ID NO: 218

Sequence Name: m_gpNMB ECD

Sequence Type: DNA

Organism Name: Mus musculus

ATGGAAAGTCTCTGCGGGGTCCTGGGATTTCTGCTGCTGGCTGCAGGACTGCCTCTCCAGGCTGCCAAG
CGATTTCTGATGTGCTGGGCCATGAACAGTATCCCGATCACATGAGAGAGCACAACCAATTACGTGGC
TGGTCTTCGGATGAAAATGAATGGGATGAACACCTGTATCCAGTGTGGAGGAGGGGAGACGGCAGGTGG

AAGGACTCCTGGGAAGGAGGCCGTGTGCAGGCAGTCCTGACCAGTGA CTACCGGCTCTGGTGGGTTCC
AATATCACTTTTGTGGTGAACCTGGTGTCCCCAGATGCCAGAAGGAAGATGCTAATGGCAATATCGTC
TATGAGAAGAACTGCAGGAATGATTTGGGACTGACATCTGACCTGCATGTCTACA ACTGGACTGCAGGG
GCAGATGATGGTGA CTGGGAAGATGGCACCAGCCGAAGCCAGCATCTCAGGTTCCCGGACAGGAGGCC
TTCCCTCGCCCCCATGGATGGAAGAAATGGAGCTTTGTCTACGTCTTTCACACACTTGGCCAGTATTTT
CAAAAACTGGGTGGTGTTCAGCACGGGTTTCTATAAACACAGTCAACTTGACAGCTGGCCCTCAGGTC
ATGGAAGTGA CTGTCTTTGGAAGATACGGCCGGGCATACATTCCCATCTCGAAGGTGAAAGATGTGTAT
GTGATAACAGATCAGATCCCTGTATTCGTGACCATGTCCCAGAAGAA TGACAGGAAC TTGTCTGATGAG
ATCTTCCTCAGAGACCTCCCCATCGTCTTCGATGTCCTCATT CATGATCCCAGCCACTTCCTCAACGAC
TCTGCCATTTCTACAAGTGGAACTTTGGGGACAACACTGGCCTGTTTGTCTCCAACAATCACACTTTG
AATCACACTTATGTGCTCAATGGAACCTTCAACCTTAACCTCACC GTGCAA ACTGCAGTGCCCGGGCCA
TGCCCTCCCCCTTCGCCTTCGACTCCGCCTCCACCTTCAACTCCGCCCTCACCTCGGCCCTCACCTCTG
CCCACATTATCAACACCTAGCCCTCTTTAATGCCTACTGGTTACAAATCCATGGAGCTGAGTGACATT
TCCAATGAAA ACTGCCGAATAAACAGATATGGCTACTTCAGAGCCACCATCACAATTGTAGAGGGGATC
CTGGAAGTCAGCATCATGCAGATAGCAGATGTCCCCATGCCACACCGCAGCCTGCCAACTCCCTGATG
GACTTCACTGTGACCTGCAAAGGGGCCACCCCATGGAAGCCTGTACGATCATCTCCGACCCACCTGC
CAGATCGCCCAGAACCGGTCTGCAGCCCTGTGGCTGTGGATGGGCTGTGCCTGCTGTCTGTGAGAAGA
GCCTTCAATGGGTCTGGCACCTACTGTGTGAATTTCACTCTGGGAGATGATGCAAGCCTGGCCCTCACC
AGCACCTGATCTCTATCCCTGGCAAAGACCCAGACTCCCCTCTGAGAGCAGTGAAT

SEQ ID NO: 219

Sequence Name: r_gpNMB ECD

Sequence Type: AA

Organism Name: Rattus norvegicus

MESLCGVLVFLLLAAGLPLQAAKRFRDVLGHEQYPDHMRNNQLRGWSSDENWDEQLYPVWRRGEGRW
KDSWEGGRVQAALTSDSPALVGSNITFVVNLVFPRCQKEDANGNIVYERNCRSDLELASDPYVYNWTTG
ADDEDWEDNTSQGQHLRFPDGKPFPRPHGRKKWNFVYVFHTLGQYFQKLGC SARVSINTVNLTVGPQV
MEVIVFRRHGRAYIPISKVKDVYVITDQIPIFVTMYQKNDNRSSDETFLRDLPIFFDVLIHDP SHFLNY
SAISYKWNFGDNTGLFVSNHNTLNHTYVLNGTFNFNLTVQTAVPGPCPSPTSPSSSTSPSPASSPSPT

LSTPSPSLMPTGYKSMELSDISNENCRINRYGYFRATITIVDGILEVNIIQVADVPIPTLQPDNSLMDF
IVTCKGATPTEACTIISDPTCQIAQNRVCSPVAVDELCLLSVRRAFNGSGTYCVNFTLGDDASLAL TSA
LISIPGKDLGSPLRTVN

SEQ ID NO: 220

Sequence Name: r_gpNMB ECD

Sequence Type: DNA

Organism Name: *Rattus norvegicus*

ATGGAAGTCTCTGCGGGTCCTGGTATTTCTGCTGCTGGCTGCAGGACTGCCGCTCCAGGCGGCCAAG
CGGTTCCGTGATGTGCTGGGCCATGAGCAGTATCCGGATCACATGAGGGAGAACAACCAATTACGTGGC
TGGTCTTCAGATGAAAATGAATGGGATGAACAGCTGTATCCAGTGTGGAGGAGGGGAGAGGGCAGATGG
AAGGACTCCTGGGAAGGAGGCCGTGTGCAGGCAGCCCTAACCAAGTATTACCGGCCCTTGGTGGGTTCC
AATATCACCTTCGTAGTGAACCTGGTGTTCCTCCAGATGCCAGAAGGAAGATGCCAACGGCAATATCGTC
TATGAGAGGAAGTGCAGAAGTGATTTGGAGCTGGCTTCTGACCCGTATGTCTACAACTGGACCACAGGG
GCAGACGATGAGGACTGGGAAGACAACACCAGCCAAGGCCAGCACCTCAGGTTCCCCGACGGGAAGCCC
TTCCCTCGCCCCACGGACGGAAGAAATGGAACCTCGTCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTT
CAAAAGCTGGGTCAGTGTTGAGCAGGTTTCTATAAACACAGTCAACTTGACAGTTGGCCCTCAGGTC
ATGGAAGTGATTGTCTTTGGAAGACACGGCCGGGCATACATTCCCATCTCCAAAGTGAAAGACGTGTAT
GTGATAACAGATCAGATCCCTATATTCGTGACCATGTACCAGAAGAATGACCGGAAGTCTGTGATGAA
ACCTTCCTCAGAGACCTCCCCATTTTCTTCGATGTCTCATTACAGTCCCAGTCATTTCTCAACTAC
TCTGCCATTTCTACAAGTGGAACCTTTGGGGACAACACTGGCCTGTTTGTCTCCAACAATCACACTTTG
AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAACTTTAACCTCACCGTGCAAAGTGCAGTGCCGGGACCA
TGCCCTCACCCACACCTTCGCCTTCTTCTCGACTTCTCCTTCGCCTGCATCTTCGCCTTCACCCACA
TTATCAACACCTAGTCCCTCTTTAATGCCTACTGGCTACAAATCCATGGAGCTGAGTGACATTTCCAAT
GAAAAGTCCGAATAAACAGATATGGTTACTTCAGAGCCACCATCACAATTGTAGATGGAATCCTAGAA
GTCAACATCATCCAGGTAGCAGATGTCCAATCCCCACACTGCAGCCTGACAACTCACTGATGGACTTC
ATTGTGACCTGCAAAGGGGCCACTCCACGGAAGCCTGTACGATCATCTCTGACCCACCTGCCAGATC
GCCCAGAACAGGGTGTGCAGCCCGGTGGCTGTGGATGAGCTGTGCCTCCTGTCCGTGAGGAGAGCCTTC
AATGGGTCCGGCACGTACTGTGTGAATTTCACTCTGGGAGACGATGCAAGCCTGGCCCTCACCAGCGCC

CTGATCTCTATCCCTGGCAAAGACCTAGGCTCCCCTCTGAGAACAGTGAAT

SEQ ID NO: 221

Sequence Name: h_gpNMB ECD-FH

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGD MRW
KNSWKGGRRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFPRCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW
SESDSGENG TGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNTANVT LGPQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVTQIPVFVTMFQKNDRNSSDETFLKDLPI MFDVLIHDP SHFLNY
STINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGTFSLNLTVKAAAPGPCPPPPPPRPSKPTPSLATT LKS
YDSNTPGPAGDNPLELSRIPDENCQINRYGHFQATITIVEGILEVNIIQMTDVLMPVPWPES SLIDFVV
TCQGSIPTEVCTIISDPTCEITQNTVCSPVDVDEMCLLTVRRTFNGSGTYCVNLT LGDDTSLALTSTLI
SVPDRDPASPLRMANEFDYKDDDDKLEHHHHHH

SEQ ID NO: 222

Sequence Name: h_gpNMB ECD-FH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAATCAATTAATGGC
TGGTCTTCTGATGAAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGGAGACATGAGGTGG
AAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGGCGGTCCTGACCAGTGACTCACCAGCCCTCGTGGGCTCA
AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAAC TGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGGAAAATGGCACC GGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT
TTTCCTCACCACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTTTCATCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTT C
CAGAAATTGGGACGATGTTCA GTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCTCAACTC
ATGGAAGTGACTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAGTGAAAGATGTGTAC
GTGGTAACAGATCAGATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGAACGATCGAAATTCATCCGACGAA

ACCTTCCTCAAAGATCTCCCCATTATGTTTGATGTCCTGATTCATGATCCTAGCCACTTCCTCAATTAT
TCTACCATTAAC TACAAGTGGAGCTTCGGGGATAATACTGGCCTGTTTGTTCACCAATCATACTGTG
AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAGCCTTAACCTCACTGTGAAAGCTGCAGCACCAGGACCT
TGTCGGCCACCGCCACCACCACCCAGACCTTCAAACCCACCCCTTCTTTAGCAACTACTCTAAAATCT
TATGATTCAAACACCCCAGGACCTGCTGGTGACAACCCCTGGAGCTGAGTAGGATTCTGATGAAAAC
TGCCAGATTAAACAGATATGGCCACTTTCAAGCCACCATCACAATTGTAGAGGGAATCTTAGAGGTAAAC
ATCATCCAGATGACAGACGTCCTGATGCCGGTGCCATGGCCTGAAAGCTCCCTAATAGACTTTGTCGTG
ACCTGCCAAGGGAGCATTCCCACGGAGGTCTGTACCATCATTTCTGACCCACCTGCGAGATCACCCAG
AACACAGTCTGCAGCCCTGTGGATGTGGATGAGATGTGTCTGCTGACTGTGAGACGAACCTTCAATGGG
TCTGGGACGTACTGTGTGAACCTCACCTGGGGGATGACACAAGCCTGGCTCTCAGGAGCACCTGATT
TCTGTTCTGACAGAGACCCAGCCTCGCCTTTAAGGATGGCAAACGAATTCGATTATAAGGATGACGAT
GACAAGCTCGAGCATCACCACCATCACCAC

SEQ ID NO: 223

Sequence Name: m_gpNMB ECD-FH

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MESLCGVLGFLLLAAGLPLQAAKRFRDVLGHEQYPDHMRHNQLRGWSSDENEDHLYPVWRRGDGRW
KDSWEGGRVQAVLTSDSPALVGSNITFVNLVFPRCQKEDANGNIVYEKNCRNDLGLTSDLHVYNWTAG
ADDGDWEDGTSRSQHLRFPDRPFPRPHGWKKWSFVYVFHTLGQYFQKLGRC SARVSINTVNLTAGPQV
MEVTVFRRYGRAYIPISKVKDVYVITDQIPVFVTMSQKNDRLSDEIFLRDLPVFDVLIHDP SHFLND
SAISYKWNFGDNTGLFVSNHNLNHTYVLNGTFNLNLTVQTAVPGPCPPSPSTPPPSTPPSPPPSPL
PTLSTPSPSLMPTGYKSMELSDISNENCRINRYGYFRATITIVEGILEVSIMQIADVPMPTPQPANSLM
DFTVTCKGATPMEACTIISDPTCQIAQNRVCSPVAVDGLCLLSVRRAFNGSGTYCVNFTLGDDASLALT
STLISIPGKDPDSPLRAVNEFDYKDDDDKLEHHHHHH

SEQ ID NO: 224

Sequence Name: m_gpNMB ECD-FH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAAGTCTCTGCGGGTCTGGGATTTCTGCTGCTGGCTGCAGGACTGCCTCTCCAGGCTGCCAAG
CGATTTCTGTATGTGCTGGGCCATGAACAGTATCCCGATCACATGAGAGAGCACAACCAATTACGTGGC
TGGTCTTCGGATGAAAATGAATGGGATGAACACCTGTATCCAGTGTGGAGGAGGGAGACGGCAGGTGG
AAGGACTCCTGGGAAGGAGGCCGTGTGCAGGCAGTCCTGACCAGTGACTCACCGGCTCTGGTGGGTTCC
AATATCACTTTTGTGGTGAACCTGGTGTTCCTCCAGATGCCAGAAGGAAGATGCTAATGGCAATATCGTC
TATGAGAAGAACTGCAGGAATGATTTGGGACTGACATCTGACCTGCATGTCTACAACTGGACTGCAGGG
GCAGATGATGGTGAAGATGGCACCAGCCGAAGCCAGCATCTCAGGTTCCCGGACAGGAGGCC
TTCCCTCGCCCCATGGATGGAAGAAATGGAGCTTTGTCTACGTCTTTCACACACTTGGCCAGTATTTT
CAAAACTGGGTGGTGTTCAGCACGGGTTTCTATAAACACAGTCAACTTGACAGCTGGCCCTCAGGTC
ATGGAAGTGACTGTCTTTGGAAGATACGGCCGGGCATACATTCCCATCTCGAAGGTGAAAGATGTGTAT
GTGATAACAGATCAGATCCCTGTATTCTGTGACCATGTCCAGGAAGATGACAGGAAGTGTCTGATGAG
ATCTTCCTCAGAGACCTCCCATCGTCTTCGATGTCTCATTGATGCCAGCCACTTCTCAACGAC
TCTGCCATTTCTACAAGTGAAGCTTTGGGGACAACACTGGCCTGTTTGTCTCCAACAATCACACTTTG
AATCACACTTATGTGCTCAATGGAACCTTCAACCTTAACCTCACCGTGCAAAGTGCAGTGCCCGGGCCA
TGCCCTCCCCCTTCGCTTCGACTCCGCCTCCACCTTCAACTCCGCCCTCACCTCCGCCCTCACCTCTG
CCCACATTATCAACACCTAGCCCTCTTTAATGCCTACTGGTTACAAATCCATGGAGCTGAGTGACATT
TCCAATGAAAAGTGGCAATAAACAGATATGGCTACTTCAGAGCCACCATCACAATTGTAGAGGGGATC
CTGGAAGTCAGCATCATGCAGATAGCAGATGTCCCATGCCACACCGCAGCCTGCCAACTCCCTGATG
GACTTCACTGTGACCTGCAAAGGGGCCACCCCATGGAAGCCTGTACGATCATCTCCGACCCACCTGC
CAGATCGCCAGAACCGGGTCTGCAGCCCTGTGGCTGTGGATGGGCTGTGCCTGCTGTCTGTGAGAAGA
GCCTTCAATGGGTCTGGCACCTACTGTGTGAATTTCACTCTGGGAGATGATGCAAGCCTGGCCCTCACC
AGCACCTGATCTCTATCCCTGGCAAAGACCCAGACTCCCTCTGAGAGCAGTGAATGAATTCGATTAT
AAGGATGACGATGACAAGCTCGAGCATCACCATCACAC

SEQ ID NO: 225

Sequence Name: r_gpNMB ECD-FH

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MESLCGVLVFLLLAAGLPLQAARFRDVLGHEQYPDHMRNNQLRGWSSDENWDEQLYPVWRRGEGRW

KDSWEGGRVQAALTSDSPALVGSNITFVVNLVFPRCQKEDANGNIVYERNCRSDLELASDPYVYNWTTG
ADDEDWEDNTSQGQHLRFPDGKPFPRPHGRKKWNFVYVFHTLGQYFQKLGQCSARVSINTVNLTVGPQV
MEVIVFRRHGRAYIPISKVKDVYVITDQIPIFVTMYQKNDRNSSDETFLRDLPIFFDVLIHDPHFNLNY
SAISYKWNFGDNTGLFVSNHHTLNHTYVLNGTFNFNLTQTAVPGPCPSPTPSPSSSTSPSPASSPSPT
LSTPSPSLMPTGYKSMELSDISNENCRINRYGYFRATITIVDGILEVNIIQVADVPIPTLQPDNSLMDF
IVTCKGATPTEACTIISDPTCQIAQNRVCSPVAVDELCLLSVRRAFNGSGTYCVNFTLGDDASLAL TSA
LISIPGKDLGSPLRTVNEFDYKDDDDKLEHHHHHH

SEQ ID NO: 226

Sequence Name: r_gpNMB ECD-FH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAAGTCTCTGCGGGTCCTGGTATTTCTGCTGGCTGCAGGACTGCCGCTCCAGGCGGCCAAG
CGGTTCCGTGATGTGCTGGGCCATGAGCAGTATCCGGATCACATGAGGGAGAACAACCAATTACGTGGC
TGGTCTTCAGATGAAAATGAATGGGATGAACAGCTGTATCCAGTGTGGAGGAGGGAGAGGGCAGATGG
AAGGACTCCTGGGAAGGAGGCCGTGTGCAGGCAGCCCTAACCAAGTGATTCACCGGCCTTGGTGGGTTCC
AATATCACCTTCGTAGTGAACCTGGTGTTCCTCCAGATGCCAGAAGGAAGATGCCAACGGCAATATCGTC
TATGAGAGGAAGTGCAGAAGTGATTTGGAGCTGGCTTCTGACCCGTATGTCTACAACTGGACCACAGGG
GCAGACGATGAGGACTGGGAAGACAACACCAGCCAAGGCCAGCACCTCAGGTTCCCCGACGGGAAGCCC
TTCCCTCGCCCCACGGACGGAAGAAATGGAACCTTCGTCTACGTCTTCACACACTTGGTCAGTATTTT
CAAAAGCTGGGTGAGTGTTCAGCACGAGTTTCTATAAACACAGTCAACTTGACAGTTGGCCCTCAGGTC
ATGGAAGTGATTGTCTTTTGAAGACACGGCCGGGCATACATTCCCATCTCCAAAGTGAAAGACGTGTAT
GTGATAACAGATCAGATCCCTATATTCGTGACCATGTACCAGAAGAATGACCGGAACCTCGTCTGATGAA
ACCTTCCTCAGAGACCTCCCCATTTTCTTCGATGTCCTCATTACGATCCAGTCATTTCTCAACTAC
TCTGCCATTTCTACAAGTGGAACCTTTGGGGACAACACTGGCCTGTTTGTCTCCAACAATCACACTTTG
AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAACTTTAACCTCACCGTGCAAACTGCAGTGCCGGGACCA
TGCCCCCTACCCACACCTTCGCCTTCTTCTCGACTTCTCCTTCGCCTGCATCTTCGCCTTACCCACA
TTATCAACACCTAGTCCCTCTTTAATGCCTACTGGCTACAAATCCATGGAGCTGAGTGACATTTCCAAT
GAAAAC TGCCGAATAAACAGATATGGTTACTTCAGAGCCACCATCACAATTGTAGATGGAATCCTAGAA

GTCAACATCATCCAGGTAGCAGATGTCCCAATCCCCACACTGCAGCCTGACAACTCACTGATGGACTTC
ATTGTGACCTGCAAAGGGGCCACTCCCACGGAAGCCTGTACGATCATCTCTGACCCACCTGCCAGATC
GCCCAGAACAGGGTGTGCAGCCGGTGGCTGTGGATGAGCTGTGCCTCCTGTCCGTGAGGAGAGCCTTC
AATGGGTCCGGCACGTACTGTGTGAATTTCACTCTGGGAGACGATGCAAGCCTGGCCCTCACCAGCGCC
CTGATCTCTATCCCTGGCAAAGACCTAGGCTCCCCTCTGAGAACAGTGAATGAATTCGATTATAAGGAT
GACGATGACAAGCTCGAGCATCACCACCATCACCAC

SEQ ID NO: 227

Sequence Name: hgpNMBd03_1-251

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDVLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGDNRW
KNSWKGGRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFPRCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW
SESDSGENGTGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNTANVTLPQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVTQIPVFVTMFQKDRNSSEFDYKDDDDKLEHHHHHH

SEQ ID NO: 228

Sequence Name: hgpNMBd03_1-251

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAATCAATTAATGGC
TGGTCTTCTGATGAAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGGAGACATGAGGTGG
AAAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGGCGGTCTGACCAGTGACTCACCAGCCCTCGTGGGCTCA
AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAACCTGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGGAAAATGGCACCGGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT
TTTCTCACCACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTTTCATCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTT
CAGAAATTGGGACGATGTTTCAGTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCTCAACTC
ATGGAAGTGACTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGACAAGTGAAAGATGTGTAC

GTGGTAACAGATCAGATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGAACGATCGAAATTCATCCGAATTC
GATTATAAGGATGACGATGACAAGCTCGAGCATCACCACCATCACCAC

SEQ ID NO: 229

Sequence Name: hgpNMBd04_1-321

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGMRW
KNSWKGGRRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFRCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW
SESDSGENGTGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNTANVTLGPQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVTDDQIPVFVTMFQKNDNRNSSDETFLKDLPIIMFDVLIHDP SHFLNY
STINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGTFSNLTVKAAAPGEFDYKDDDDKLEHHHHHH

SEQ ID NO: 230

Sequence Name: hgpNMBd04_1-321

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAATCAATTAATGGC
TGGTCTTCTGATGAAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGGAGACATGAGGTGG
AAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGGCGGTCTGACCAGTGACTCACCAGCCCTCGTGGGCTCA
AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAACTGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGGAAAATGGCACCGGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT
TTTCCTCACCACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTTCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTTC
CAGAAATTGGGACGATGTTTCAGTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCTCAACTC
ATGGAAGTGACTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAGTGAAAGATGTGTAC
GTGGTAACAGATCAGATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGAACGATCGAAATTCATCCGACGAA
ACCTTCCTCAAAGATCTCCCCATTATGTTTGATGTCCTGATTCATGATCCTAGCCACTTCCTCAATTAT
TCTACCATTAACATAAGTGGAGCTTCGGGGATAATACTGGCCTGTTTGTTCACCAATCATACTGTG

AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAGCCTTAACCTCACTGTGAAAGCTGCAGCACCAGGAGAA
TTCGATTATAAGGATGACGATGACAAGCTCGAGCATCACCACCATCACCAC

SEQ ID NO: 231

Sequence Name: hgpNMBd05_1-375

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGMRW
KNSWKGGRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFRCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW
SESDSGENGTGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNTANVTLGSQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVDQIPVFVTMFQKNDRNSSDETLKDLPIIMFDVLIHDP SHFLNY
STINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGTFSNLTVKAAAPGPCPPPPPPRPSKPTPSLATTLKS
YDSNTPGPAGDNPLELSRIPDENCQINRYGEFDYKDDDDKLEHHHHHH

SEQ ID NO: 232

Sequence Name: hgpNMBd05_1-375

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAATCAATTAATGGC
TGGTCTTCTGATGAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGAGACATGAGGTGG
AAAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGGCGGTCTGACCAGTGACTCACCAGCCCTCGTGGGCTCA
AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAACTGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGAAAATGGCACCGGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT
TTTCCTCACCACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTTTCATCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTT
CAGAAATTGGGACGATGTTTCAGTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCTCAACTC
ATGGAAGTGACTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAGTGAAAGATGTGTAC
GTGGTAACAGATCAGATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGAACGATCGAAATTCATCCGACGAA
ACCTTCCTCAAAGATCTCCCCATTATGTTTGATGTCCTGATTCATGATCCTAGCCACTTCCTCAATTAT

TCTACCATTA ACTACAAGTGGAGCTTCGGGGATAATACTGGCCTGTTTGTTCACCAATCATACTGTG
AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAGCCTTAACCTCACTGTGAAAGCTGCAGCACCAGGACCT
TGTCGGCCACCGCCACCACCACCCAGACCTTCAAACCCACCCCTTCTTTAGCAACTACTCTAAATCT
TATGATTCAAACACCCAGGACCTGCTGGTGACAACCCCTGGAGCTGAGTAGGATTCTGATGAAAAC
TGCCAGATTAACAGATATGGCGAATTCGATTATAAGGATGACGATGACAAGCTCGAGCATCACCACCAT
CACCAC

SEQ ID NO: 233

Sequence Name: hgpNMBd06_1-418

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGD MRW
KNSWKGGRRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFPRCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW
SESDSGENGTGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNTANVT LGPQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVT DQIPVFVTMFQKNDRNSSDETF LKDLPI MFDVLIHDP SHFLNY
STINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGTFSLNLTVKAAAPGPCPPPPPPRPSKPTPSLATT LKS
YDSNTPGPAGDNPLELSRIPDENCQINRYGHFQATITIVEGILEVNI IQMTDVLMPVPWPES SLIDFVV
TCQGEFDYKDDDDKLEHHHHHH

SEQ ID NO: 234

Sequence Name: hgpNMBd06_1-418

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAAATCAATTAATGGC
TGGTCTTCTGATGAAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGAGACATGAGGTGG
AAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGGCGGTCCTGACCAGTGACTCACCAGCCCTCGTGGGCTCA
AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAAC TGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGGAAAATGGCACCGGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT

TTTCCTCACCACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTCATCTACGTCTTCACACACTTGGTCAGTATTTTC
CAGAAATTGGGACGATGTTCACTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCTCAACTC
ATGGAAGTGACTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAGTGAAAGATGTGTAC
GTGGTAACAGATCAGATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGAACGATCGAAATTCATCCGACGAA
ACCTTCCTCAAAGATCTCCCCATTATGTTTGATGTCCTGATTCATGATCCTAGCCACTTCCTCAATTAT
TCTACCATTAACATAAGTGGAGCTTCGGGGATAATACTGGCCTGTTTGTTCACCAATCATACTGTG
AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAGCCTTAACCTCACTGTGAAAGCTGCAGCACCAGGACCT
TGTCGGCCACCGCCACCACCACCCAGACCTTCAAACCCACCCCTTCTTTAGCAACTACTCTAAATCT
TATGATTCAAACACCCAGGACCTGCTGGTGACAACCCCTGGAGCTGAGTAGGATTCCTGATGAAAAC
TGCCAGATTAAACAGATATGGCCACTTTCAAGCCACCATCACAATTGTAGAGGGAATCTTAGAGGTTAAC
ATCATCCAGATGACAGACGTCCTGATGCCGGTGCCATGGCCTGAAAGCTCCCTAATAGACTTTGTCGTG
ACCTGCCAAGGGGAATTCGATTATAAGGATGACGATGACAAGCTCGAGCATCACCACCATCACCAC

SEQ ID NO: 235

Sequence Name: hgpNMBd07_76-498

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAGSGRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFPRCQKEDANGNIVYEKNC
RNEAGLSADPYVYNWTAWSESDGENGTGQSHHNVPDGPFPHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGR
CSVRVSVNTANVTLGQPLMEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVTQIPVFVTMFQKNDNRNSSDETFKLD
LPIMFDVLIHDP SHFLNYSTINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGTFSNLTVKAAAPGPCPPPP
PPRPSKPTPSLATTLSYDSNTPGPAGDNPLELSRIPDENCQINRYGHFQATITIVEGILEVNIQMT
DVLMPVPWPESLIDFVVTCCGSIPTEVCTIISDPTCEITQNTVCSPVDVDEMCLLTVRRTFNGSGTYC
VNLTGDDTSLALTSTLISVPDRDPASPLRMANEFDYKDDDDKLEHHHHHH

SEQ ID NO: 236

Sequence Name: hgpNMBd07_76-498

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCGGA

TCCGGCCGTGTGCAGGCGGTCCTGACCAGTGA CTCACCAGCCCTCGTGGGCTCAAATATAACATTTGCG
GTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTCTATGAGAAGAACTGC
AGAAATGAGGCTGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAACCTGGACAGCATGGTCAGAGGACAGTGAC
GGGGAATGGCACC GGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCTTTTCTCACCACCCC
GGATGGAGAAGATGGAATTCATCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTCCAGAAATTGGGACGA
TGTT CAGTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCTCAACTCATGGAAGTGACTGTC
TACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAGTGAAAGATGTGTACGTGGTAACAGATCAG
ATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGAACGATCGAAATTCATCCGACGAAACCTTCTCAAAGAT
CTCCCCATTATGTTTGATGTCCTGATTCATGATCCTAGCCACTTCCTCAATTATTCTACCATTA ACTAC
AAGTGGAGCTTCGGGGATAATACTGGCCTGTTTGTTCACCAATCATACTGTGAATCACACGTATGTG
CTCAATGGAACCTTCAGCCTTAACCTCACTGTGAAAGCTGCAGCACCAGGACCTTGTCCGCCACCGCCA
CCACCACCCAGACCTTCAAACCCACCCCTTCTTTAGCAACTACTCTAAAATCTTATGATTCAAACACC
CCAGGACCTGCTGGTGACAACCCCTGGAGCTGAGTAGGATTCTGATGAAA ACTGCCAGATTAACAGA
TATGGCCACTTTCAAGCCACCATCACAATTGTAGAGGGAATCTTAGAGGTTAACATCATCCAGATGACA
GACGTCCTGATGCCGGTGCCATGGCCTGAAAGCTCCCTAATAGACTTTGTCGTGACCTGCCAAGGGAGC
ATTCCCACGGAGGTCTGTACCATCATTTCTGACCCACCTGCGAGATCACCAGAACACAGTCTGCAGC
CCTGTGGATGTGGATGAGATGTGTCTGCTGACTGTGAGACGAACCTTCAATGGGTCTGGGACATACTGT
GTGAACCTCACCTGGGGGATGACACAAGCCTGGCTCTCAGGAGCACCTGATTTCTGTTCTGACAGA
GACCCAGCCTCGCCTTTAAGGATGGCAAACGAATTCGATTATAAGGATGACGATGACAAGCTCGAGCAT
CACCACCATCACCAC

SEQ ID NO: 237

Sequence Name: hgpNMBd13_1-412

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGD MRW
KNSWKGRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFPRCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW
SESDSGENGTGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNTANVT LGPQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVTQIPVFVTMFQKNDNRNSSDETFLKDLPIIMFDVLIHDP SHFLNY

STINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGTFSNLTVKAAAPGPCPPPPPPRPSKPTPSLATTLS
YDSNTPGPAGDNPLELSRIPDENCQINRYGHFQATITIVEGILEVNIIQMTDVLMPVPWPPESSLIDFEF
DYKDDDDKLEHHHHH

SEQ ID NO: 238

Sequence Name: hgpNMBd13_1-412

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAATCAATTAATGGC
TGGTCTTCTGATGAAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGGAGACATGAGGTGG
AAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGGCGGTCTGACCAGTGACTACCAGCCCTCGTGGGCTCA
AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAACTGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGGAAAATGGCACCGGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT
TTTCTCACACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTTCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTTC
CAGAAATTGGGACGATGTTTCAGTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCTCAACTC
ATGGAAGTGACTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAGTGAAAGATGTGTAC
GTGGTAACAGATCAGATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGAACGATCGAAATTCATCCGACGAA
ACCTTCCTCAAAGATCTCCCCATTATGTTTGATGTCCTGATTCATGATCCTAGCCACTTCCTCAATTAT
TCTACCATTAACACAAGTGAGCTTCGGGGATAATACTGGCCTGTTTGTTCACCAATCATACTGTG
AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAGCCTTAACCTCACTGTGAAAGCTGCAGCACCAGGACCT
TGTCGGCCACCGCCACCACCACCCAGACCTTCAAACCCACCCCTTCTTTAGCAACTACTCTAAATCT
TATGATTCAAACACCCAGGACCTGCTGGTGACAACCCCTGGAGCTGAGTAGGATTCTGATGAAAAC
TGCCAGATTAAACAGATATGGCCACTTTCAAGCCACCATCACAATTGTAGAGGGAATCTTAGAGGTTAAC
ATCATCCAGATGACAGACGTCCTGATGCCGGTGCCATGGCCTGAAAGCTCCCTAATAGACTTTGAATTC
GATTATAAGGATGACGATGACAAGCTCGAGCATCACCACCATCACCAC

SEQ ID NO: 239

Sequence Name: hgpNMBd14_1-406

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDVLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGD MRW
KNSWKGGRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFPCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW
SESDSGENGTGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNTANVT LGPQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVT DQIPVFVTMFQKNDRNSSDETFLKDLPIIMFDVLIHDP SHFLNY
STINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGTFSLNLTVKAAAPGPCPPPPPPRPSKPTPSLATT LKS
YDSNTPGPAGDNPLELSRIPDENCQINRYGHFQATITIVEGILEVNI IQMTDVLMPVPWPPEEFDYKDDD
DKLEHHHHHH

SEQ ID NO: 240

Sequence Name: hgpNMBd14_1-406

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGCTGGGATTTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAATCAATTAATAGGC
TGGTCTTCTGATGAAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGGAGACATGAGGTGG
AAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGGCGGTCCTGACCAGTGACTCACCAGCCCTCGTGGGCTCA
AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAACCTGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGGAAAATGGCACC GGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT
TTTCCTCACCACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTTCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTCT
CAGAAATTGGGACGATGTTTCTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCTCAACTC
ATGGAAGTGACTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAGTGAAAGATGTGTAC
GTGGTAACAGATCAGATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGACGATCGAAATTCATCCGACGAA
ACCTTCCTCAAAGATCTCCCCATTATGTTTGATGTCCTGATTCATGATCCTAGCCACTTCCTCAATTAT
TCTACCATTAAC TACAAGTGGAGCTTCGGGGATAATACTGGCCTGTTTGTTCACCAATCATACTGTG
AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAGCCTTAACCTCACTGTGAAAGCTGCAGCACCAGGACCT
TGTCGGCCACCGCCACCACCACCCAGACCTTCAAACCCACCCCTTCTTTAGCAACTACTCTAAATCT

TATGATTCAAACACCCCAGGACCTGCTGGTGACAACCCCTGGAGCTGAGTAGGATTCTGATGAAAAC
TGCCAGATTAAACAGATATGGCCACTTTCAAGCCACCATCACAATTGTAGAGGGAATCTTAGAGGTTAAC
ATCATCCAGATGACAGACGTCCTGATGCCGGTGCCATGGCCTGAAGAATTGATTATAAGGATGACGAT
GACAAGCTCGAGCATCACCACCATCACCAC

SEQ ID NO: 241

Sequence Name: hgpNMBd15_1-400

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDVLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGD MRW
KNSWKGGRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFPRCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW
SESDSGENGTGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNTANVT LGPQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVDQIPVFVTMFQKNDRNSSDETFLKDLPIIMFDVLIHDP SHFLNY
STINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGTFSNLTVKAAAPGPCPPPPPPRPSKPTPSLATT LKS
YDSNTPGPAGDNPLELSRIPDENCQINRYGHFQATITIVEGILEVNI IQMTDVLMEFDYKDDDDKLEHH
HHHH

SEQ ID NO: 242

Sequence Name: hgpNMBd15_1-400

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAATCAATTAATGGC
TGGTCTTCTGATGAAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGGAGACATGAGGTGG
AAAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGGCGGTCTGACCAGTGA CTACCAGCCCTCGTGGGCTCA
AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAACTGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGGAAAATGGCACCGGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT
TTTCCTCACCACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTTTCATCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTT C
CAGAAATTGGGACGATGTTTCAGTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCTCAACTC

ATGGAAGTGA CTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAGTGAAAGATGTGTAC
GTGGTAACAGATCAGATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGAACGATCGAAATTCATCCGACGAA
ACCTTCCTCAAAGATCTCCCCATTATGTTTGATGTCCTGATTCATGATCCTAGCCACTTCCTCAATTAT
TCTACCATTA ACTACAAGTGGAGCTTCGGGGATAATACTGGCCTGTTTGTTCACCAATCATACTGTG
AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAGCCTTAACCTCACTGTGAAAGCTGCAGCACCAGGACCT
TGTCGGCCACCGCCACCACCACCCAGACCTTCAAACCCACCCCTTCTTTAGCAACTACTCTAAATCT
TATGATTCAAACACCCAGGACCTGCTGGTGACAACCCCTGGAGCTGAGTAGGATTCTGATGAAAAC
TGCCAGATTAA CAGATATGGCCACTTTCAAGCCACCATCACAATTGTAGAGGGAATCTTAGAGGTAAAC
ATCATCCAGATGACAGACGTCCTGATGGAATTCGATTATAAGGATGACGATGACAAGCTCGAGCATCAC
CACCATCACCAC

SEQ ID NO: 243

Sequence Name: hgpNMBd16_1-394

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDLGNERP SAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGD MRW
KNSWKGGRRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLI FPRCQKEDANGNI VYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW
SESDSGENGTGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRC SVRVS VNTANVT LGPQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVT DQIPVFVTMFQKNDRNSSDEFLKDLPI MF DVL IHDPSHFLNY
STINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGT FSLNLT VKAAAPGPCPPPPPPRPSKPTPSLATT LKS
YDSNTPGPAGDNPLELSRIPDENCQINRYGHFQATIT IVEGILEVNI IQEFDYKDDDDKLEHHHHHH

SEQ ID NO: 244

Sequence Name: hgpNMBd16_1-394

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAATCAATTAAATGGC
TGGTCTTCTGATGAAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGGAGACATGAGGTGG
AAAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGGCGGTCTGACCAGTGACTCACCAGCCCTCGTGGGCTCA

AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAACTGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGGAAAATGGCACCGGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT
TTTCCTCACCACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTTTCATCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTT
CAGAAATTGGGACGATGTTTCAGTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCTCAACTC
ATGGAAGTGACTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAGTAAAGATGTGTAC
GTGGTAACAGATCAGATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGAAGATCGAAATTCATCCGACGAA
ACCTTCCTCAAAGATCTCCCATTATGTTTGATGTCCTGATTCATGATCCTAGCCACTTCCTCAATTAT
TCTACCATTAACATAAGTGGAGCTTCGGGGATAATACTGGCCTGTTTGTTCACCAATCATACTGTG
AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAGCCTTAACCTCACTGTGAAAGCTGCAGCACCAGGACCT
TGTCGCCACCGCCACCACCACCCAGACCTTCAAACCCACCCCTTCTTTAGCAACTACTCTAAAATCT
TATGATTCAAACACCCAGGACCTGCTGGTGACAACCCCTGGAGCTGAGTAGGATTCTGATGAAAAC
TGCCAGATTAACAGATATGGCCACTTTCAAGCCACCATCACAATTGTAGAGGAATCTTAGAGGTTAAC
ATCATCCAGGAATTCGATTATAAGGATGACGATGACAAGCTCGAGCATCACCACCATCACCAC

SEQ ID NO: 245

Sequence Name: hgpNMBd17_1-388

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDVLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGD MRW
KNSWKGGRRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFPRCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW
SESDSGENGTGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNTANVT LGPQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVTQIPVFVTMFQKNDRNSSDETFLKDLPI MFVDVLIHDP SHFLNY
STINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGTFSNLNTVAAAAPGPCPPPPPPRPSKPTPSLATT LKS
YDSNTPGPAGDNPLELSRIPDENCQINRYGHFQATITIVEGILEFDYKDDDDKLEHHHHHH

SEQ ID NO: 246

Sequence Name: hgpNMBd17_1-388

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAATCAATTAAATGGC
TGGTCTTCTGATGAAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGGAGACATGAGGTGG
AAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGGCGGTCTGACCAGTGACTCACCAGCCCTCGTGGGCTCA
AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAACTGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGGAAAATGGCACCGGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT
TTTCCTCACCACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTTTCATCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTT
CAGAAATTGGGACGATGTTTCAGTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCTCAACTC
ATGGAAGTGACTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAGTAAAAGATGTGTAC
GTGGTAACAGATCAGATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGAACGATCGAAATTCATCCGACGAA
ACCTTCCTCAAAGATCTCCCATTATGTTTGATGTCCTGATTCATGATCCTAGCCACTTCCTCAATTAT
TCTACCATTAAGTACAAGTGGAGCTTCGGGGATAATACTGGCCTGTTTGTTCACCAATCATACTGTG
AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAGCCTTAACCTCACTGTGAAAGCTGCAGCACCAGGACCT
TGTCGCCACCGCCACCACCACCCAGACCTTCAAACCCACCCCTTCTTTAGCAACTACTCTAAAATCT
TATGATTCAAACACCCAGGACCTGCTGGTGACAACCCCTGGAGCTGAGTAGGATTCTGATGAAAAC
TGCCAGATTAACAGATATGGCCACTTTCAAGCCACCATCACAATTGTAGAGGAATCTTAGAATTCGAT
TATAAGGATGACGATGACAAGCTCGAGCATCACCACCATCACCAC

SEQ ID NO: 247

Sequence Name: hgpNMBd18_1-382

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGD MRW
KNSWKGGRRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFPRCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW
SESDSGENGTGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNTANVT LGPQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVTQIPVFVTMFQKNDRNSSDETFLKDLPIIMFDVLIHDP SHFLNY
STINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVLNGTFSNLTVKAAAPGPCPPPPPPRSPKPTPSLATTLKS
YDSNTPGPAGDNPLELSRIPDENCQINRYGHFQATITEFDYKDDDDKLEHHHHHH

SEQ ID NO: 248

Sequence Name: hgpNMBd18_1-382

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTTCTGCTCCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAATCAATTAATGGC
TGGTCTTCTGATGAAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGGAGACATGAGGTGG
AAAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGCGGCTCCTGACCAGTGACTCACCAGCCCTCGTGGGCTCA
AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAACTGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGGAAAATGGCACCGGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT
TTTCCTCACCACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTTTCATCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTT
CAGAAATTGGGACGATGTTTCAGTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCTCAACTC
ATGGAAGTGACTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAGTAAAAGATGTGTAC
GTGGTAACAGATCAGATTCCTGTGTTTGTGACTATGTTCCAGAAGAACGATCGAAATTCATCCGACGAA
ACCTTCCTCAAAGATCTCCCCATTATGTTTGATGTCCTGATTCATGATCCTAGCCACTTCCTCAATTAT
TCTACCATTAACATAAGTGGAGCTTCGGGGATAATACTGGCCTGTTTGTTCACCAATCATACTGTG
AATCACACGTATGTGCTCAATGGAACCTTCAGCCTTAACCTCACTGTGAAAGCTGCAGCACCAGGACCT
TGTCCGCCACCGCCACCACCACCCAGACCTTCAAACCCACCCCTTCTTTAGCAACTACTCTAAAATCT
TATGATTCAAACACCCAGGACCTGCTGGTGACAACCCCTGGAGCTGAGTAGGATTCCTGATGAAAAC
TGCCAGATTAACAGATATGGCCACTTTCAAGCCACCATCACAGAATTCGATTATAAGGATGACGATGAC
AAGCTCGAGCATCACCACCATCACCAC

SEQ ID NO: 249

Sequence Name: hgpNMBd19_1-234

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

MECLYYFLGFLLLAARLPLDAAKRFHDVLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGD MRW
KNSWKGGRRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFPRCQKEDANGNIVYEKNCRNEAGLSADPYVYNWTAW

SESDSGENGTGQSHHNVFPDGKPFPHHPGWRRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNTANVTLGPQL
MEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVTDEFDYKDDDDKLEHHHHHH

SEQ ID NO: 250

Sequence Name: hgpNMBd19_1-234

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATGGAATGTCTCTACTATTTCTGGGATTTCGTCTGGCTGCAAGATTGCCACTTGATGCCGCCAAA
CGATTTTCATGATGTGCTGGGCAATGAAAGACCTTCTGCTTACATGAGGGAGCACAATCAATTAATGGC
TGGTCTTCTGATGAAAATGACTGGAATGAAAACTCTACCCAGTGTGGAAGCGGGAGACATGAGGTGG
AAAAACTCCTGGAAGGGAGGCCGTGTGCAGGCGGTCTGACCAGTGACTCACCAGCCCTCGTGGGCTCA
AATATAACATTTGCGGTGAACCTGATATTCCTAGATGCCAAAAGGAAGATGCCAATGGCAACATAGTC
TATGAGAAGAACTGCAGAAATGAGGCTGGTTTATCTGCTGATCCGTATGTTTACAACTGGACAGCATGG
TCAGAGGACAGTGACGGGGAAAATGGCACCGGCCAAAGCCATCATAACGTCTTCCCTGATGGGAAACCT
TTTCTCACCACCCCGGATGGAGAAGATGGAATTTTCATCTACGTCTTCCACACACTTGGTCAGTATTTT
CAGAAATTGGGACGATGTTTCAGTGAGAGTTTCTGTGAACACAGCCAATGTGACACTTGGGCCTCAACTC
ATGGAAGTGACTGTCTACAGAAGACATGGACGGGCATATGTTCCCATCGCACAAAGTAAAGATGTGTAC
GTGGTAACAGATGAATTCGATTATAAGGATGACGATGACAAGCTCGAGCATCACCACCATCACCAC

SEQ ID NO: 251

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H0L0 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

QVQLQQPGAIEIVRPGASVKLSCKASGYTFDNDWMGWVKQRPGGLEWIGAIIDPSDSTFTNYNQNFKGKAT
LTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYYGSPKLGDDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 252

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H0L0 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCTGGGGCCGAAATCGTGAGACCTGGCGCTAGCGTGAAGCTGTCTTGAAG

GCCAGCGGCTACACCTTCACAGACAACTGGATGGGCTGGGTGAAGCAGAGACCTGGCCAGGGCCTGGAG
TGGATCGGCGCCATCGATCCCTCCGACAGCTTACCAATTACAATCAGAACTTTAAGGGCAAGGCCACC
CTGACAGTGGATACCTCTTCCAGCACAGCTTACATGCAGCTGTCTAGCCTGACAAGCGAGGATTCTGCC
GTGTATTTTTGTACAAGAAGCGGCTATTACGGCAGCCCTAAGCTGGGCGGCGACTACTGGGGCCAGGGC
ACCACACTGACAGTGTCTTCC

SEQ ID NO: 253

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H0L0 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCSASSISYMHWYQQKSGTSPKLLIYSTNLASGVPSRFSGSGSGTF
YSLTISSVEAEDAADYYCHQWNSYPCTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO: 254

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H0L0 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGATTGTGCTGACTCAGTCACCCGCTATCATGTCCGCTTCTCTGGGCGAGGAGATCACACTGACCTGT
TCTGCCTCCAGCTCTATCTCCTACATGCACTGGTATCAGCAGAAGTCTGGCACCTCTCCAAAGCTGCTG
ATCTACTCCACCTCTAACCTGGCTTCTGGCGTGCCTTCCAGATTCTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCTTC
TATTCCTGACAATCTCCAGCGTGGAGGCTGAGGATGCCGCTGACTACTATTGCCACCACTGGAAGTCT
TACCCATGCACATTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAG

SEQ ID NO: 255

Sequence Name: Antibody GPN09-1 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

GLSLTSIN

SEQ ID NO: 256

Sequence Name: Antibody GPN09-1 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGCCTTCCCTGACGAGCATCAAC

SEQ ID NO: 257

Sequence Name: Antibody GPN09-1 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

IWSDGDT

SEQ ID NO: 258

Sequence Name: Antibody GPN09-1 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATTGGAGTGATGGGGATACT

SEQ ID NO: 259

Sequence Name: Antibody GPN09-1 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

ARGIRD

SEQ ID NO: 260

Sequence Name: Antibody GPN09-1 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCTAGAGGCATAAGGGAC

SEQ ID NO: 261

Sequence Name: Antibody GPN09-1 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QSLKYSDGKTY

SEQ ID NO: 262

Sequence Name: Antibody GPN09-1 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGTCCCTGAAGTATAGCGATGGGAAAACCTAC

SEQ ID NO: 263

Sequence Name: Antibody GPN09-1 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QVS

SEQ ID NO: 264

Sequence Name: Antibody GPN09-1 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGGTCAGC

SEQ ID NO: 265

Sequence Name: Antibody GPN09-1 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

CQGSYSPT

SEQ ID NO: 266

Sequence Name: Antibody GPN09-1 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TGTCAAGGGTCCTATTACCCCATACC

SEQ ID NO: 267

Sequence Name: Antibody GPN09-1 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

QVQLKASGPGLVQPSQTLSTCTVSGLSLTSININWIRQPPGKGLEWMGVIWSDGDTDFNSAVKSRLSI
SRDTSKSQVFLNMNSLQTEDTAMYFCARGIRDWGGQVMVTVSS

SEQ ID NO: 268

Sequence Name: Antibody GPN09-1 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGGTCCAGCTGAAAGCCAGTGGTCCTGGACTGGTTCAGCCAAGCCAGACCCTCTCACTCACATGCACC
GTTTCTGGCCTTTCCTGACGAGCATCAACATCAATTGGATTCGGCAACCACCTGGCAAAGGATTGGAG
TGATGGGCGTGATTTGGAGTGATGGGATACTGACTTCAACTCCGCTGTGAAGTCCCGACTGTCCATT
TCACGCGATACCAGCAAGTCTCAGGTGTTCTGAACATGAATAGCCTGCAGACTGAGGACACTGCCATG
TACTTCTGTGCTAGAGGCATAAGGGACTGGGGTCAAGGAGTCATGGTTACCGTGTCTCT

SEQ ID NO: 269

Sequence Name: Antibody GPN09-1 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: Mus musculus

DIVMTQTPLSLSLVAIGQSASISCKSSQSLKYSKGKTYLNWVFQSPGQSPKRLIYQVSKLDSGVPDRFSG
TGSETDFTLKISRVEAEDLGVYYCCQGSYPHTFGSGTKLEIK

SEQ ID NO: 270

Sequence Name: Antibody GPN09-1 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GACATAGTGATGACCCAGACACCCTTGAGTCTGAGTGTGCCATTGGCCAAAGTGCCTCTATCTCCTGC
AAGTCAAGTCAGTCCCTGAAGTATAGCGATGGGAAAACCTACCTGAACTGGGTCTTTCAGAGCCCAGGT
CAGTCACCCAAACGGCTGATTTACCAGGTCAGCAAACCTCGACTCTGGAGTACCAGACCGCTTTTCCGGA
ACAGGTAGCGAGACTGACTTCACCCTCAAGATCTCTAGGGTGGAAGCCGAGGATCTTGGCGTGATTAC
TGCTGTCAAGGGTCTATTACCCCATACCTTTGGTTCGGGCACAAAGCTGGAGATCAAG

SEQ ID NO: 271

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 graft-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

GYTFTDNWMG

SEQ ID NO: 272

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 graft-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGCTACACCTTCACCGATAATTGGATGGGC

SEQ ID NO: 273

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 graft-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

AIDPSDSFTNYNQNFKG

SEQ ID NO: 274

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 graft-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCCATCGACCCTTCTGACTCCTTTACCAACTACAACCAGAACTTCAAGGGC

SEQ ID NO: 275

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 graft-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

TRSGYYGSPKLGGDY

SEQ ID NO: 276

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 graft-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ACCAGATCTGGATACTACGGCTCTCCCAAGCTGGGAGGCGACTAC

SEQ ID NO: 277

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 graft-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

SASSSISYMH

SEQ ID NO: 278

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 graft-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TCCGCCTCCTCCTCAATCTCCTACATGCAC

SEQ ID NO: 279

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 graft-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

STSNLAS

SEQ ID NO: 280

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 graft-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TCCACCTCCAACCTGGCCTCT

SEQ ID NO: 281

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 graft-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

HQWNSYPCT

SEQ ID NO: 282

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 graft-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CACCAGTGGAATTCTTACCCCTGCACC

SEQ ID NO: 283

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

GYTFTDNW

SEQ ID NO: 284

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGCTACACCTTCACCGATAATTGG

SEQ ID NO: 285

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

IDPSDSFT

SEQ ID NO: 286

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATCGACCCTTCTGACTCCTTTACC

SEQ ID NO: 287

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

TRSGYYGSPKLGGDY

SEQ ID NO: 288

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ACCAGATCTGGATACTACGGCTCTCCCAAGCTGGGAGGCGACTAC

SEQ ID NO: 289

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

SSISY

SEQ ID NO: 290

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TCCTCAATCTCCTAC

SEQ ID NO: 291

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

STS

SEQ ID NO: 292

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TCCACCTCC

SEQ ID NO: 293

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

HQWNSYPCT

SEQ ID NO: 294

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CACCAGTGGAAATTCTTACCCCTGCACC

SEQ ID NO: 295

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDNNMGWVKQRPQGQGLEWIGAIDPSDSFTNYNQNFKGRVT

MTVDTISISTAYMELSRLRSDDSAVYFCTRSGYYGSPKLGGDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 296

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGGTGCAGCTGGTCCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCTAGCGTGAAAGTGCCTGCAAG

GCCTCTGGCTACACCTTCACCGATAATTGGATGGGCTGGGTCAAGCAGAGACCTGGCCAAGGCCTGGAA

TGGATCGGCGCCATCGACCCTTCTGACTCCTTTACCAACTACAACCAGAACTTCAAGGGCCGGGTGACC

ATGACAGTGGATACCTCCATCAGCACCGCCTACATGGAAGTGTCCAGACTGAGATCCGACGACAGCGCT

GTGTACTTCTGCACCAGATCTGGATACTACGGCTCTCCCAAGCTGGGAGGCGACTACTGGGGCCAGGGC

ACCCTGGTGACCGTGTCTCTCC

SEQ ID NO: 297

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

EIVLTQSPSSLSASVGDRTITCSASSISYMHYQQKSGTAPKLLIYSTSNLASGVPSRFSGSGSGTD

FTFTISLQPEDAATYYCHQWNSYPCTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO: 298

Sequence Name: Antibody hGPN06-1_H1L1 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GAGATCGTGCTGACCCAATCTCCTTCTTCTGTCTGCTTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGC
TCCGCCTCCTCCTCAATCTCCTACATGCACTGGTACCAGCAGAAGTCTGGAACAGCTCCTAACTTCTG
ATCTACTCCACCTCCAACCTGGCCTCTGGCGTGCCATCTCGCTTCTCCGGCTCTGGCAGCGGAACCGAC
TTTACATTTACCATCTCTAGCCTGCAGCCTGAGGACGCCGCTACATACTACTGCCACCAGTGGAATTCT
TACCCCTGCACCTTCGGCGGGCGCACCAAGCTGGAATCAAG

SEQ ID NO: 299

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 graft-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

GFSLSTSVMGVG

SEQ ID NO: 300

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 graft-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGCTTCAGCCTGTCTACCTCCGTGATGGGCGTGGGC

SEQ ID NO: 301

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 graft-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

DIWWDDDKDYNPSLKS

SEQ ID NO: 302

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 graft-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GACATCTGGTGGGACGACGACAAGGACTACAATCCCTCTCTGAAGTCC

SEQ ID NO: 303

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 graft-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

ARTYYSNYEYYGMDY

SEQ ID NO: 304

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 graft-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCCAGAACCTACTACTCCAACCTACGAGTACTACGGCATGGATTAC

SEQ ID NO: 305

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 graft-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

RSSQTIILSNGNTYLE

SEQ ID NO: 306

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 graft-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

AGATCCTCTCAGACCATCATCCTGTCCAACGGCAACACCTACCTGGAA

SEQ ID NO: 307

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 graft-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

KVSNRFS

SEQ ID NO: 308

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 graft-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

AAGGTGTCCAATCGGTTCTCT

SEQ ID NO: 309

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 graft-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

FQGSHVPFT

SEQ ID NO: 310

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 graft-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TTCCAAGGCTCTCACGTGCCCTTTACC

SEQ ID NO: 311

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 CDR-H1

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

GFSLSTSVMG

SEQ ID NO: 312

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 CDR-H1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GGCTTCAGCCTGTCTACCTCCGTGATGGGC

SEQ ID NO: 313

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 CDR-H2

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

IWWDDDK

SEQ ID NO: 314

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 CDR-H2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

ATCTGGTGGGACGACACAAG

SEQ ID NO: 315

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 CDR-H3

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

ARTYYSNYEYYGMDY

SEQ ID NO: 316

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 CDR-H3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GCCAGAACCTACTACTCCAACTACGAGTACTACGGCATGGATTAC

SEQ ID NO: 317

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 CDR-L1

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

QTIILSNGNTY

SEQ ID NO: 318

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 CDR-L1

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAGACCATCATCCTGAGCAACGGCAACACCTAC

SEQ ID NO: 319

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 CDR-L2

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

KVS

SEQ ID NO: 320

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 CDR-L2

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

AAGGTGTCC

SEQ ID NO: 321

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 CDR-L3

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

FQGSHVPFT

SEQ ID NO: 322

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 CDR-L3

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

TTCCAGGGCTCTCACGTGCCCTTCACC

SEQ ID NO: 323

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 VH

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

QVQLVQSGPGLVQPTQTLTLTCSFSGFSLSTSVMGVGVIRQPSGKGLEWLADIWWDDDKDYNPSLKSRL

TISKDTSKNQVVLMTNMDTVDTATYYCARTYYSNYEYYGMDYWQQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 324

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 VH

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

CAAGTGCAACTAGTGCAAAGTGGTCCAGGTCTGGTGCAGCCTACCCAGACCCTGACACTGACCTGTAGC

TTCTCCGGCTTCAGCCTGTCTACCTCCGTGATGGCGTGGGCTGGATCCGGCAACCTTCTGGCAAGGGC
CTGGAATGGCTGGCCGACATCTGGTGGGACGACGACAAGGACTACAATCCCTCTCTGAAGTCCAGACTG
ACCATCTCCAAAGATACCTCTAAGAACCAGGTCGTGCTGACCATGACCAACATGGATACCGTGGACACC
GCTACATATTACTGCGCCAGAACCTACTACTCCAACCTACGAGTACTACGGCATGGATTACTGGGGCCAG
GGAACACTCGTGACCGTGTCTCT

SEQ ID NO: 325

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 VL

Sequence Type: AA

Organism Name: synthetic construct

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQTIILSNGNTYLEWYQQKPGQPPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSG
SGSGTDFLTITSSSLQAEDVAVYYCFQGSHVPFTFGSGTKLEIKR

SEQ ID NO: 326

Sequence Name: Antibody hGPN18-2_H2L3 VL

Sequence Type: DNA

Organism Name: synthetic construct

GATATTGTGATGACTCAAAGTCCAGATAGTCTGGCTGTCTCTCTGGGCGAGAGAGCTACAATCAACTGT
AGATCCTCTCAGACCATCATCCTGTCCAACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATCAGCAGAAACCAGGC
CAGCCTCCTAAGCTGCTGATCTACAAGGTGTCCAATCGGTTCTCTGGCGTGCCTGATAGATTCTCCGGC
TCTGGAAGCGGAACCGACTTACCCTGACCATCTCCAGCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTAC
TGCTTCCAAGGCTCTCACGTGCCCTTTACCTTCGGCTCCGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGG

請求の範囲

- [請求項1] ヒト g p N M B (glycoprotein nonmetastatic melanoma protein B) の P M E L - C A F 様 (PMEL Core Amyloid Fragment-like) ドメインから P K D ドメインにわたる領域の少なくとも 1 箇所の特異的に結合する、抗 g p N M B ヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。
- [請求項2] 配列番号 2 0 9 のアミノ酸配列を有するヒト g p N M B の D 2 8 7 および／または H 3 0 1 のアミノ酸残基を含む領域に特異的に結合する、請求項 1 に記載の抗 g p N M B ヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。
- [請求項3] 配列番号 2 0 9 のアミノ酸配列を有するヒト g p N M B の R 2 1 4 および／または R 2 1 5 のアミノ酸残基を含む領域に特異的に結合する、請求項 1 又は 2 に記載の抗 g p N M B ヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。
- [請求項4] 配列番号 2 0 9 のアミノ酸配列を有するヒト g p N M B の K 2 5 7 及び／又は D 2 5 8 のアミノ酸残基を含む領域、H 2 6 8 及び／又は D 2 6 9 のアミノ酸残基を含む領域、K 2 8 2 のアミノ酸残基を含む領域、K 3 1 6 のアミノ酸残基を含む領域、K 1 8 6 のアミノ酸残基を含む領域、並びに、H 2 1 6 および／または R 2 1 8 のアミノ酸残基を含む領域のうち、1 又は 2 以上の領域にも特異的に結合する、請求項 2 又は 3 に記載の抗 g p N M B ヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。
- [請求項5] 前記抗 g p N M B 抗体が、マウス g p N M B の P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインにわたる領域の少なくとも 1 箇所にも特異的に結合する、請求項 1 ～ 4 の何れか一項に記載の抗 g p N M B ヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。
- [請求項6] 機能異常ミクログリアの数を減少させる活性、アミロイド β オリゴマー及び／又はリン酸化タウ及び／又はシヌクレインオリゴマーを除

去する活性、シナプス数を増加させる活性、及び、認知機能及び又は運動機能の低下を抑制し、又は回復させる活性から選択される1又は2以上の活性を有する、請求項1～5の何れか一項に記載の抗g p NMBヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[請求項7] モノクローナル抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体である、請求項1～6の何れか一項に記載の抗g p NMBヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。

[請求項8] 少なくとも重鎖可変領域を含み、前記重鎖可変領域が、
(13) CDR-H1として、配列番号283に記載のアミノ酸配列、または、配列番号283に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号283に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、
CDR-H2として、配列番号285に記載のアミノ酸配列、または、配列番号285に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号285に記載のアミノ酸配列と62.5%以上、75.0%以上、もしくは87.5%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、
CDR-H3として、配列番号287に記載のアミノ酸配列、または、配列番号287に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号287に記載のアミノ酸配列と60.0%以上、66.6%以上、73.3%以上、80.0%以上、86.6%以上、もしくは93.3%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、
(14) CDR-H1として、配列番号311に記載のアミノ酸配列

、または、配列番号 3 1 1 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 3 1 1 に記載のアミノ酸配列と 6 0. 0 % 以上、7 0. 0 % 以上、8 0. 0 % 以上、もしくは 9 0. 0 % 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H2 として、配列番号 3 1 3 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 3 1 3 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所もしくは 2 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 3 1 3 に記載のアミノ酸配列と 7 1. 4 % 以上もしくは 8 5. 7 % 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、

CDR-H3 として、配列番号 3 1 5 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 3 1 5 に記載のアミノ酸配列のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、4 か所、5 か所、もしくは 6 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号 3 1 5 に記載のアミノ酸配列と 6 0. 0 % 以上、6 6. 6 % 以上、7 3. 3 % 以上、8 0. 0 % 以上、8 6. 6 % 以上、もしくは 9 3. 3 % 以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、あるいは、

（15）CDR グラフティング領域-H1 として、配列番号 2 7 1 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 2 7 1 に記載のアミノ酸配列のうち、第 2 7 位のチロシン、第 3 2 位のアスパラギン、及び第 3 3 位のトリプトファン以外のいずれか 1 か所、2 か所、3 か所、もしくは 4 か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDR グラフティング領域-H2 として、配列番号 2 7 3 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 2 7 3 に記載のアミノ酸配列のうち、第 5 5 位のアスパラギン酸、第 5 7 位のフェニルアラニン、第 5 8 位

のスレオニン、第59位のアスパラギン、第60位のチロシン、及び第61位のアスパラギン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDRグラフティング領域-H3として、配列番号275に記載のアミノ酸配列、または、配列番号275に記載のアミノ酸配列のうち、第98位のアルギニン、第100位のグリシン、及び第109位のグリシン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、あるいは、

(16) CDRグラフティング領域-H1として、配列番号299に記載のアミノ酸配列、または、配列番号299に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDRグラフティング領域-H2として、配列番号301に記載のアミノ酸配列、または、配列番号301に記載のアミノ酸配列のうち、第52位のアスパラギン酸、第54位のトリプトファン、第58位のアスパラギン酸、及び第63位のプロリン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDRグラフティング領域-H3として、配列番号303に記載のアミノ酸配列、または、配列番号303に記載のアミノ酸配列のうち、第99位のアルギニン、第100位のトレオニン、第102位のチロシン、第105位のチロシン、第107位のチロシン、及び第110位のメチオニン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列

を有する、請求項1～7のいずれか一項に記載の抗gpNMBヒト化

抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。

- [請求項9] 少なくとも重鎖可変領域を含み、前記重鎖可変領域が、
- (1) 配列番号295に記載のアミノ酸配列、または、配列番号295に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
- (2) 配列番号323に記載のアミノ酸配列、または、配列番号323に記載のアミノ酸配列と60%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有する、請求項1～7の何れか一項に記載の抗gpNMBヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。
- [請求項10] 前記重鎖可変領域が、フレームワーク配列として、ヒト免疫グロブリンの何れかのクラスのフレームワーク配列を含む、請求項8または9に記載の抗gpNMBヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。
- [請求項11] 更に重鎖定常領域を含み、前記重鎖定常領域が、ヒト免疫グロブリンの何れかのクラスの重鎖定常領域のアミノ酸配列を有する、請求項8～10の何れか一項に記載の抗gpNMBヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。
- [請求項12] 少なくとも軽鎖可変領域を含み、前記軽鎖可変領域が、
- (13) CDR-L1として、配列番号289に記載のアミノ酸配列、または、配列番号289に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号289に記載のアミノ酸配列と60.0%以上もしくは80.0%以上の相同性（好ましくは同一性）を有するアミノ酸配列、
- CDR-L2として、配列番号291に記載のアミノ酸配列、または、配列番号291に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号291に記載のアミノ酸配列と66.6%以上の相同性（好まし

くは同一性)を有するアミノ酸配列、および、

C D R - L 3として、配列番号293に記載のアミノ酸配列、または、配列番号293に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号293に記載のアミノ酸配列と66、6%以上、77、7%以上、もしくは88、8%以上の相同性(好ましくは同一性)を有するアミノ酸配列、あるいは、

(14) C D R - L 1として、配列番号317に記載のアミノ酸配列、または、配列番号317に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号317に記載のアミノ酸配列と63、6%以上、72、7%以上、81、8%以上、もしくは90、9%以上の相同性(好ましくは同一性)を有するアミノ酸配列、

C D R - L 2として、配列番号319に記載のアミノ酸配列、または、配列番号319に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号319に記載のアミノ酸配列と66、6%以上の相同性(好ましくは同一性)を有するアミノ酸配列、および、

C D R - L 3として、配列番号321に記載のアミノ酸配列、または、配列番号321に記載のアミノ酸配列のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、または、配列番号321に記載のアミノ酸配列と66、6%以上、77、7%以上、もしくは88、8%以上の相同性(好ましくは同一性)を有するアミノ酸配列、あるいは、

(15) C D R グラフティング領域-L 1として、配列番号277に記載のアミノ酸配列、または、配列番号277に記載のアミノ酸配列のうち、第29位のイソロイシン、第31位のチロシン、及び第33

位ヒスチジン以外のいずれか1か所、2か所、3か所、もしくは4か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、CDRグラフティング領域-L2として、配列番号279に記載のアミノ酸配列、または、配列番号279に記載のアミノ酸配列のうち、第50位のスレオニン以外のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、CDRグラフティング領域-L3として、配列番号281に記載のアミノ酸配列、または、配列番号281に記載のアミノ酸配列のうち、第88位のヒスチジン、第89位のグルタミン、第90位のトリプトファン、第92位のセリン、第93位のチロシン、第94位のプロリン、及び第95位のシステイン以外のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、あるいは、

(16) CDRグラフティング領域-L1として、配列番号305に記載のアミノ酸配列、または、配列番号305に記載のアミノ酸配列のうち、第31位のロイシン、第37位のチロシン及び第39位のグルタミン酸以外のいずれか1か所、2か所、3か所、4か所、5か所、もしくは6か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDRグラフティング領域-L2として、配列番号307に記載のアミノ酸配列、または、配列番号307に記載のアミノ酸配列のうち、第55位のリジン以外のいずれか1か所もしくは2か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列、

CDRグラフティング領域-L3として、配列番号309に記載のアミノ酸配列、または、配列番号309に記載のアミノ酸配列のうち、第94位のフェニルアラニン以外のいずれか1か所、2か所、もしくは3か所のアミノ酸残基が置換、欠失、もしくは挿入されたアミノ酸配列

を有する、請求項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の抗 g p N M B ヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。

- [請求項13] 少なくとも軽鎖可変領域を含み、前記軽鎖可変領域が、
 (1) 配列番号 2 9 7 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 2 9 7 に記載のアミノ酸配列と 6 0 % 以上の相同性を有するアミノ酸配列、あるいは、
 (2) 配列番号 3 2 5 に記載のアミノ酸配列、または、配列番号 3 2 5 に記載のアミノ酸配列と 6 0 % 以上の相同性を有するアミノ酸配列を有する、請求項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の抗 g p N M B ヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。
- [請求項14] 前記軽鎖可変領域が、フレームワーク配列として、ヒト免疫グロブリンの何れかのクラスのフレームワーク配列を含む、請求項 1 2 または 1 3 に記載の抗 g p N M B ヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。
- [請求項15] 更に軽鎖定常領域を含み、前記軽鎖定常領域が、ヒト免疫グロブリンの何れかのクラスの軽鎖定常領域のアミノ酸配列を有する、請求項 1 2 ～ 1 4 の何れか一項に記載の抗 g p N M B ヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。
- [請求項16] F a b、s c F v、D i a b o d y、N a n o b o d y、V H H、二重特異性抗体、もしくは多重特異性抗体、またはそれらの誘導体である、請求項 1 ～ 1 5 の何れか一項に記載の抗 g p N M B ヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。
- [請求項17] g p N M B の P M E L - C A F 様ドメインから P K D ドメインにわたる領域の少なくとも 1 箇所への結合に対して、請求項 1 ～ 1 6 の何れか一項に記載の抗 g p N M B 抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体と競合結合する、抗 g p N M B ヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体。
- [請求項18] 請求項 1 ～ 1 7 の何れか一項に記載の抗 g p N M B ヒト化抗体もし

くはその断片またはそれらの誘導体をコードするポリヌクレオチド配列からなる核酸分子。

[請求項19] 請求項18に記載の核酸分子を少なくとも一つ含むクローニングベクターまたは発現ベクター。

[請求項20] 請求項19に記載のベクターが導入された組換え体細胞。

[請求項21] 請求項1～17の何れか一項に記載の抗g p NMBヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体を製造するための方法であって、請求項20に記載の組換え体細胞を培養することを含む製造方法。

[請求項22] 請求項1～17の何れか一項に記載の抗g p NMBヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体を製造するための方法であって、配列番号209のアミノ酸配列を有するヒトg p NMBの、D287および／またはH301のアミノ酸残基を含む領域、R214および／またはR215のアミノ酸残基を含む領域、K257および／またはD258のアミノ酸残基を含む領域、H268および／またはD269のアミノ酸残基を含む領域、K282のアミノ酸残基を含む領域、K316のアミノ酸残基を含む領域、K186のアミノ酸残基を含む領域、並びにH216および／またはR218のアミノ酸残基を含む領域から選ばれる1又は2以上の領域と同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを動物に投与し、当該動物の体内で産生された抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体を採取することを含む製造方法。

[請求項23] 請求項1～17の何れか一項に記載の抗g p NMBヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体の産生を促す活性を有するワクチンであって、配列番号209のアミノ酸配列を有するヒトg p NMBのD287および／またはH301のアミノ酸残基を含む領域、および／または、R214および／またはR215のアミノ酸残基を含む領域と同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むワクチン。

- [請求項24] 請求項1～17の何れか一項に記載の抗g p NMBヒト化抗体もしくはその断片またはそれらの誘導体、請求項18に記載の核酸分子、請求項19に記載のベクター、および請求項20に記載の組換え体細胞からなる群より選択される1または2以上を有効成分として含む、医薬組成物。
- [請求項25] 対象の機能異常ミクログリア数の低減、
対象のアミロイド β オリゴマーの除去、
対象のシナプス数の増加、
対象のリン酸化タウの除去及び／又はタウの蓄積の抑制、
対象のシヌクレイン及び／又はシヌクレイン凝集体の除去、
対象の認知機能の低下の抑制又は回復、
対象の運動機能の低下の抑制又は回復、および
対象の神経変性疾患の治療又は予防
から選択される1又は2以上の用途のための、請求項24に記載の医薬組成物。
- [請求項26] 機能異常ミクログリアの数を減少させる活性を有する薬剤を有効成分として含む、
対象のアミロイド β オリゴマーの除去、
対象のシナプス数の増加、
対象のリン酸化タウの除去及び／又はタウの蓄積の抑制、
対象のシヌクレイン及び／又はシヌクレイン凝集体の除去、
対象の認知機能の低下の抑制又は回復、
対象の運動機能の低下の抑制又は回復、および
対象の神経変性疾患の治療又は予防
から選択される1又は2以上の用途のための医薬組成物。
- [請求項27] 対象の神経変性疾患を治療又は予防するための、請求項24に記載の医薬組成物。
- [請求項28] 神経変性疾患がアミロイド β 、タウ、シヌクレイン、ポリグルタミ

ン、RAN翻訳生成タンパク質、及びプリオンから選択される1又は2以上のタンパク質の蓄積による疾患である、請求項25～27のいずれかに記載の医薬組成物。

[請求項29] 神経変性疾患が、アルツハイマー病、前頭側頭葉変性症（FTLD-Tau）、前頭側頭型認知症（FTD）、原発性加齢関連タウオパチー（PART）、慢性外傷性脳症（CTE）、ピック病、大脳皮質基底核変性症（CBD又はCBS）、進行性核上性麻痺（PSP）、球状グリア性タウオパチー（GGT）、嗜銀顆粒性認知症（AGD）（嗜銀性顆粒病）、加齢性関連タウアストログリオタウオパチー（ARTAG）、家族性英国認知症（FBD）、家族性デンマーク認知症（FDD）、FTDP17、認知症を伴う多系統タウオパチー（MS-TD）、神経原線維変化型認知症、石灰沈着を伴うびまん性神経原線維変化病（DN-TC）、球状グリア封入体を伴う白質タウオパチー（WMT-GGI）、パーキンソン病、ハンチントン病、脊髄小脳変性症、遺伝性脊髄小脳失調症、球脊髄性筋萎縮症、レビー小体型認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病（Creutzfeldt-Jakob disease：CJD）、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、前頭側頭葉変性症（FTLD-TDP、FTLD-FUS）、及びリピート病から選択される1又は2以上の疾患である、請求項25～27のいずれかに記載の医薬組成物。

[請求項30] 神経変性疾患がアルツハイマー病である、請求項29に記載の医薬組成物。

[請求項31] 神経変性疾患がパーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症（MSA）、又は筋萎縮性側索硬化症（ALS）である、請求項29に記載の医薬組成物。

[請求項32] 第2の活性成分を更に含む、請求項30又は31に記載の医薬組成物。

[請求項33] 第2の活性成分が、抗Tau抗体、抗アミロイドβ抗体、抗CD3

3 抗体、抗セマフォリン 4 D 抗体、抗 T N F α 抗体、抗ソルチリン抗体、抗ガラクトース特異的レクチン（ガレクチン）3 抗体、抗 T R E M 2（Triggering receptor expressed on myeloid cells 2）抗体、抗 I L - 1 β 抗体、抗 C D 3 8 抗体、抗 M S 4 A 抗体、および抗シヌクレイン抗体から選択される 1 種または 2 種以上である、請求項 3 2 に記載の医薬組成物。

[請求項 34]

第 2 の活性成分が、T a u、アミロイド β 、C D 3 3、セマフォリン 4 D、T N F α 、ソルチリン、ガラクトース特異的レクチン（ガレクチン）3、および T R E M 2（Triggering receptor expressed on myeloid cells 2）から選択される 1 種または 2 種以上のタンパク質の全長もしくは部分長のポリペプチドまたはそれをコードする核酸を含むワクチンである、請求項 3 2 に記載の医薬組成物。