

(19)日本国特許庁(JP)

**(12)特許公報(B2)**

(11)特許番号  
**特許第7603205号**  
**(P7603205)**

(45)発行日 令和6年12月20日(2024.12.20)

(24)登録日 令和6年12月12日(2024.12.12)

(51)国際特許分類

C 0 7 K	16/28 (2006.01)	F I	C 0 7 K	16/28
C 0 7 K	16/46 (2006.01)		C 0 7 K	16/46
C 0 7 K	19/00 (2006.01)		C 0 7 K	19/00
C 1 2 N	15/13 (2006.01)		C 1 2 N	15/13
C 1 2 P	21/08 (2006.01)		C 1 2 P	21/08

Z N A

請求項の数 26 (全126頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-572642(P2020-572642)  
 (86)(22)出願日 令和1年7月12日(2019.7.12)  
 (65)公表番号 特表2021-524478(P2021-524478  
 A)  
 (43)公表日 令和3年9月13日(2021.9.13)  
 (86)国際出願番号 PCT/EP2019/068804  
 (87)国際公開番号 WO2020/011973  
 (87)国際公開日 令和2年1月16日(2020.1.16)  
 審査請求日 令和4年7月11日(2022.7.11)  
 (31)優先権主張番号 1811403.3  
 (32)優先日 平成30年7月12日(2018.7.12)  
 (33)優先権主張国・地域又は機関  
 英国(GB)

(73)特許権者 524347032  
 インボックス ファーマ リミテッド  
 イギリス国 ダブリュ12 7エフキュー  
 ロンドン ホワイト シティ ブレイス ウ  
 ッド レーン 195 ザ ウエストワーク  
 ス ファーストフロア スイート 2  
 (74)代理人 100079108  
 弁理士 稲葉 良幸  
 (74)代理人 100109346  
 弁理士 大貫 敏史  
 (74)代理人 100117189  
 弁理士 江口 昭彦  
 (74)代理人 100134120  
 弁理士 内藤 和彦  
 (72)発明者 ウォラートン, フランシスカ  
 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗体分子

**(57)【特許請求の範囲】****【請求項1】**

P D - L 1 に特異的に結合することができる抗体分子又はその抗原結合フラグメントであって、それぞれ配列番号 2 7 及び 2 8 の抗体G1AA/E12v2のV H ドメイン及びV L ドメインを含む抗原結合部位を含む、抗体分子又はその抗原結合フラグメント。

**【請求項2】**

それぞれ配列番号 4 7 及び 4 8 の抗体G1AA/E12v2の重鎖及び / 又は軽鎖を含む、請求項1に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント。

**【請求項3】**

前記抗体分子又はその抗原結合フラグメントの前記重鎖が、前記重鎖のC H 3 ドメイン配列のC末端に追加のリジン残基(K)を含む、請求項2に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント。

**【請求項4】**

( i ) 前記抗体分子又は抗原結合フラグメントが、少なくとも第2の抗原結合部位を含む、多重特異性の分子である、及び / 又は

( i i ) 前記抗体分子又はその抗原結合フラグメントが、前記抗体分子又は抗原結合フラグメントの定常ドメインに位置する第2の抗原結合部位を含む、

請求項1から3のいずれか1項に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント。

**【請求項5】**

前記少なくとも第2の抗原結合部位を含む多重特異性の分子が、二重特異性の分子であ

る、請求項 4 に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント。

**【請求項 6】**

請求項 4 の ( i i ) に記載の特徴を備える、抗体分子又はその抗原結合フラグメントであって、前記第 2 の抗原結合部位が、

( a ) 定常重鎖ドメインの A B 構造ループにおける第 1 の配列及び / 又は E F 構造ループにおける第 2 の配列；

( b ) 定常重鎖ドメインの A B 構造ループにおける第 1 の配列及び E F 構造ループにおける第 2 の配列；

( c ) 定常重鎖ドメインの A B 構造ループにおける第 1 の配列及び / 又は E F 構造ループにおける第 2 の配列及び / 又は C D 構造ループにおける第 3 の配列；又は

( d ) 定常重鎖ドメインの A B 構造ループにおける第 1 の配列、 E F 構造ループにおける第 2 の配列、及び C D 構造ループにおける第 3 の配列  
を含む、

請求項 4 又は 5 に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント。

**【請求項 7】**

前記抗体分子又はその抗原結合フラグメントが請求項 4 の ( i i ) に記載の特徴を備え、前記定常ドメインが C H 3 ドメインである、請求項 4 から 6 のいずれか 1 項に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント。

**【請求項 8】**

( i ) 前記抗体分子が、免疫グロブリン G ( I g G ) 、又はその抗原結合フラグメントであるか、

( i i ) 前記抗体分子が、 I g G 1 若しくはそのフラグメント、又は I g G 4 若しくはそのフラグメントであるか、又は

( i i i ) 前記抗体分子が、修飾 F c 領域を有する I g G 1 又はそのフラグメントである、

請求項 1 から 7 のいずれか 1 項に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント。

**【請求項 9】**

前記抗体分子又はその抗原結合フラグメントが、請求項 8 の ( i i i ) に記載の特徴を備え、

( i ) 前記抗体分子が、免疫エフェクター機能が低下した修飾 F c 領域を有する I g G 1 又はそのフラグメントである、

( i i ) 前記修飾 F c 領域が、 I g G 1 と比較して低下した A D C C 及び / 又は C D C を有する、及び / 又は

( i i i ) 前記修飾 F c 領域が、 L A L A 、 L A L A - P A 又は L A L A - P G 修飾を含む、

請求項 8 に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント。

**【請求項 10】**

前記抗体分子又はその抗原結合フラグメントが、請求項 8 の ( i i i ) に記載の特徴を備え、前記抗体分子が、前記 F c 領域に L A L A 修飾を含む I g G 1 又はその抗原結合フラグメントである、請求項 8 又は 9 に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント。

**【請求項 11】**

前記抗体分子又はその抗原結合フラグメントが、請求項 4 の ( i ) 若しくは ( i i ) 又は請求項 5 に記載の特徴を備え、

( i ) 前記第 2 の抗原結合部位が、阻害性チェックポイント分子、共刺激分子、又は腫瘍関連抗原に結合する、及び / 又は

( i i ) ( a ) 前記第 2 の抗原結合部位が、 O X 4 0 、誘導性 T 細胞共刺激因子 ( I C O S ) 又は C D 1 3 7 に結合しないか、

( b ) 前記第 2 の抗原結合部位が、 C D 2 7 又は糖質コルチコイド誘導性 T N F R 関連タンパク質 ( G I T R ) に結合しないか、又は

( c ) 前記第 2 の抗原結合部位が、リンパ球活性化遺伝子 3 ( L A G - 3 ) に結合し

ない、

請求項 4 から 1\_0 のいずれか 1 項に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント。

【請求項 1\_2】

請求項 1 から 1\_1 のいずれか 1 項に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント、及び免疫系モジュレーター（アゴニスト又はアンタゴニスト）、細胞傷害性分子、又は放射性同位体を含む、コンジュゲート又は融合物。

【請求項 1\_3】

請求項 1 から 1\_2 のいずれか 1 項に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、コンジュゲート又は融合物をコードする、核酸分子又は核酸分子のセット。

【請求項 1\_4】

抗体 G1AA/E12v2 の V H 及び V L、F a b、重鎖及び / 又は軽鎖の 1 つ以上をコードする c D N A 配列を含む、請求項 1\_3 に記載の核酸分子又は核酸分子のセット。

【請求項 1\_5】

第 1 の核酸配列及び第 2 の核酸配列を含み、

前記第 1 の核酸配列が、配列番号 2\_7 の抗体 G1AA/E12v2 の V H をコードする V H c D N A 配列を含み、前記第 2 の核酸配列が、配列番号 2\_8 の抗体 G1AA/E12v2 の V L をコードする V L c D N A 配列を含む、

請求項 1\_4 に記載の核酸分子又は核酸分子のセット。

【請求項 1\_6】

請求項 1\_3 から 1\_5 のいずれかの核酸分子又は核酸分子のセットを含む、ベクター又はベクターのセット。

【請求項 1\_7】

請求項 1\_3 から 1\_5 のいずれかの核酸分子若しくは核酸分子のセット、又は請求項 1\_6 のベクター若しくはベクターのセットを含む、組換え宿主細胞。

【請求項 1\_8】

請求項 1 から 1\_1 のいずれか 1 項に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント、又は請求項 1\_2 に記載のコンジュゲート又は融合物を產生する方法であって、前記抗体分子、抗原結合フラグメント、コンジュゲート又は融合物の產生に適した条件下で請求項 1\_7 の組換え宿主細胞を培養することを含む、方法。

【請求項 1\_9】

請求項 1\_8 に記載の方法であって、前記抗体分子、抗原結合フラグメント、コンジュゲート又は融合物を単離及び / 又は精製することをさらに含む、方法。

【請求項 2\_0】

請求項 1 から 1\_1 のいずれか 1 項に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント、又は請求項 1\_2 に記載のコンジュゲート又は融合物と、賦形剤とを含む、組成物。

【請求項 2\_1】

治療により個体の処置を行うための医薬組成物であって、請求項 1 から 1\_1 のいずれか 1 項に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント、請求項 1\_2 に記載のコンジュゲート又は融合物、又は請求項 2\_0 に記載の組成物を含む、医薬組成物。

【請求項 2\_2】

第 2 の治療と組み合わせて個体に投与するための請求項 2\_1 に記載の医薬組成物。

【請求項 2\_3】

前記第 2 の治療が、放射線療法である、請求項 2\_2 に記載の医薬組成物。

【請求項 2\_4】

前記放射線療法が、標的放射線療法である、請求項 2\_3 に記載の医薬組成物。

【請求項 2\_5】

個体の診断のため、又は個体からのインビトロサンプルの診断のための医薬組成物であって、請求項 1 から 1\_1 のいずれか 1 項に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント、請求項 1\_2 に記載のコンジュゲート又は融合物、又は請求項 2\_0 に記載の組成物を含む、医薬組成物。

10

20

30

40

50

**【請求項 2 6】**

診断薬であって、請求項 1 から 1\_1 のいずれか 1 項に記載の抗体分子又はその抗原結合フラグメント、請求項 1\_2 に記載のコンジュゲート又は融合物、又は請求項 2\_0 に記載の組成物を含む、診断薬。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0 0 0 1】****技術分野**

本発明は、プログラム死リガンド 1 ( P D - L 1 ) に結合する抗体及びその抗原結合フラグメントに関する。抗体又はその抗原結合フラグメントは、P D - L 1 の C D R ベースの抗原結合部位を含む。本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントは、例えば、癌治療における用途が見出され得る。

10

**【背景技術】****【0 0 0 2】****発明の背景**

プログラム細胞死 1 ( P D - 1 ) は、細胞表面受容体であり、そのリガンド P D - L 1 ( C D 2 7 4 、 B 7 - H 1 ) 及び P D - L 2 ( B 7 - D C ) は、T 細胞の活性化、耐性、及び免疫病理学のバランスを調節する阻害シグナルを伝達する。P D - L 1 は、全ての免疫細胞及び一部の腫瘍細胞で一過性に発現する。

**【0 0 0 3】**

20

P D - L 1 は、細胞外領域内の 2 つの I g 様ドメイン、膜貫通ドメイン及び短い細胞質ドメインを有する I 型膜貫通タンパク質である。完全ヒト P D - L 1 ( h P D - L 1 ) 配列は、GENBANK ( 登録商標 ) 受託番号 Q9NZQ7 下で見出すことができる。細胞質ドメインには既知のシグナル伝達モチーフがなく、リガンドとその受容体との相互作用に関し P D - L 1 によるシグナル伝達がないことを示唆している。P D - L 1 の分子量は 40 k D a ( 290 アミノ酸 ) で、ヒト 9 番染色体及びマウス 19 番染色体の C D 2 7 4 遺伝子によってコードされている。P D - L 1 は、B 7 タンパク質ファミリーのメンバーであり、B 7 . 1 及び B 7 . 2 とおよそ 20 % のアミノ酸配列同一性を共有している。ヒト P D - L 1 は、P D - L 1 のマウス及びカニクイザルのオルソログとそれぞれ 70 % 及び 93 % のアミノ酸同一性を共有している。

30

**【0 0 0 4】**

ヒト P D - L 1 は、その受容体 P D - 1 に 770 n M の親和性 ( K D ) で結合する。P D - 1 は、活性化 T 細胞、B 細胞、及び骨髄細胞に発現しており、細胞性免疫応答の活性化又は阻害を調節する。P D - L 1 が P D - 1 に結合すると、阻害性シグナルが伝達され、サイトカイン産生が減少し、T 細胞の増殖が抑制される。その結果、細胞による P D - L 1 発現は、細胞傷害性 T リンパ球 ( C T L ) の死滅に対する保護を媒介することができ、これは、ウイルス感染時の慢性免疫応答を弱める調節メカニズムである。癌は、慢性及び炎症誘発性疾患として、P D - L 1 発現のアップレギュレーションを通じてこの免疫保護経路を破壊し、宿主の免疫応答を回避する。能動免疫応答では、I F N は、P D - L 1 の発現もアップレギュレートする。P D - L 1 はまた、別のタンパク質である B 7 . 1 ( C D 8 0 としても知られる ) との相互作用を通じて免疫抑制を媒介し、C D 2 8 を通じて T 細胞の活性化の二次シグナルの 1 つを送達する能力を遮断する。腫瘍細胞での P D - L 1 発現とその B 7 . 1 との関与に関して、腫瘍免疫抵抗性におけるこの特定の相互作用の関連性はまだ不明である。

40

**【0 0 0 5】**

P D - L 1 の発現は、多種多様な固形腫瘍で示されている。ある研究で調べられた 65 4 のサンプルのうち、異なる部位からの 19 の腫瘍に及ぶ、89 ( 14 % ) が P D - L 1 陽性 ( 5 % 以上の頻度 ) であった。最も高い P D - L 1 陽性頻度は、頭頸部 ( 17 / 54 ; 31 % ) 、子宮頸部 ( 10 / 34 ; 29 % ) 、原発不明の癌 ( C U P ; 8 / 29 ; 28 % ) 、多形神経膠芽腫 ( G B M ; 5 / 20 ; 25 % ) 、膀胱 ( 8 / 37 ; 21 % ) 、食道

50

(16 / 80 ; 20 %)、トリプルネガティブ (TN) 乳房 (6 / 33 ; 18 %)、及び肝細胞癌 (6 / 41 ; 15 %) で見られた (Grosso et al., 2013)。PD-L1 の腫瘍関連発現は、免疫抵抗性を付与し、T 細胞媒介性アポトーシスから腫瘍細胞を保護する可能性があることが示されている。

#### 【0006】

PD-L1 を標的とする治療は、マウスのインビオ研究で優れた結果を示している。黒色腫のB16マウスマodelにおいて、GVAX又はFVAXいずれかのワクチン接種戦略と組み合わせた抗PD-L1治療による処置は、生存率（対照群で30日間対PD-L1処置群で52日間）及び研究終了時の腫瘍のない（5%）動物の割合の両方で有意な効果をもたらした (Curran et al., 2010)。抗PD-L1療法は、P815マウスマストーマ (mastoma) モデルにおける免疫抑制のメカニズムを研究するためにも使用されている。マウスに注入されたP815細胞は、通常、強い免疫応答を誘発し、その拒絶を引き起こす。PD-L1がP815細胞で発現すると、これらの細胞は免疫攻撃を免れ、抗PD-L1抗体の投与によって免疫攻撃を無効にすることができます (Iwai et al., 2002)。免疫原性ヒト癌においてPD-1 / PD-L1軸を標的とすること (Herbst et al., 2014) が、抗癌免疫応答の刺激を通じて生存率における利点をもたらすことは明らかである (Wolchok et al., 2013; Larkin et al., 2015)。

#### 【0007】

アテゾリズマブ (MPDL3280A、RG7466、TECENTRIQ (商標)) は、PD-L1に結合するヒト化 IgG1 抗体である。これは、単剤療法として、また結腸直腸癌、乳癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、及び腎細胞癌を含む固体癌の処置のための他の生物学的及び / 又は小分子療法と組み合わせて、臨床試験中である。アテゾリズマブによる処置は、NSCLC で 23 %、黒色腫で 36 %、膀胱で 33 %、RCC で 14 %、頭頸部癌で 13 % の客観的応答率 (ORR) をもたらした (Herbst et al., 2014; Powles et al., 2014)。

#### 【0008】

2016年5月、FDAは、シスプラチナベースの化学療法が失敗した後の局所進行性又は転移性尿路上皮癌処置に対するアテゾリズマブを迅速承認したが、検証的試験は、全生存期間の主要評価項目を達成できなかった。2016年10月、FDAは、プラチナ含有化学療法中又はその後に疾患が進行した転移性非小細胞肺癌 (NSCLC) を有する患者の処置に対するアテゾリズマブを承認した。EGFR 又は ALK ゲノム腫瘍異常のある患者は、アテゾリズマブ投与前のこれらの異常に対する FDA 承認の療法で、疾患が進行している必要がある。一部の肺癌患者に対するアバスチン及び標準化学療法と組み合わせたアテゾリズマブは、FDA の優先審査中であり、2018年9月5日までに決定が見込まれている。アテゾリズマブの臨床試験で報告された最も一般的な有害反応は、倦怠感、食欲不振、恶心、及び感染症であり、尿路感染症が最も一般的な重篤な有害反応であった。

#### 【0009】

アベルマブ (MSB0010718C、BAVENCIO (商標)) は、PD-L1 に結合する完全ヒト IgG1 抗体であり、膀胱癌、胃癌、頭頸部癌、中皮腫、非小細胞肺癌、卵巣癌、腎癌及びメルケル細胞癌を含む多くの癌で臨床試験が行われている。アベルマブは、2017年1月に、胃癌の処置につき欧州医薬品庁 (EMA) (European Medicines Agency) から希少疾病用医薬品の指定を受けた。2017年に、FDA 及び EMA は、成人及び 12 歳以上の小児患者のメルケル細胞癌 (侵襲性皮膚癌) について、アベルマブを承認した。承認は、非盲検、シングルアーム、多施設の臨床試験 (JAVELIN Merkle 200 試験) のデータに基づいている。全ての患者は、転移性疾患に対して投与された化学療法中又はその後に、疾患の進行を伴う組織学的に確認された転移性MCC を有していた。全体的な応答率 (ORR) は、固体腫瘍の応答評価基準 (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) (RECIST) 1.1 に従って、独立した審査委員会によって評価された。ORR は、11 % の完全応答率及び 22 % の部分応答率で 33 % であった (95 % 信頼区間 [CI] : 23.3, 43.8)。29人の応答患者の中で、応答期間は 2.8 から 23.3 ヶ月 + の範囲であり、応答の 86 % は 6 ヶ月以上持続した。PD-L1 腫瘍の

10

20

30

40

50

発現又はメルケル細胞ポリオーマウイルスの存在にかかわらず、患者における応答が観察された。安全性データは 1738 人の患者で評価された。アベルマブに対する最も一般的な重篤な有害反応は、免疫介在性有害反応（肺炎、肝炎、大腸炎、副腎不全、甲状腺機能低下及び甲状腺機能亢進、糖尿病、及び腎炎）及び生命にかかわる注入反応であった。JAVELIN Merkel 200 試験に登録された 88 人の患者の中で、最も一般的な有害反応は、倦怠感、筋骨格痛、下痢、恶心、注入関連反応、発疹、食欲減退、及び末梢性浮腫であった。試験で 1 人以上の患者に発生した重篤な有害反応は、急性腎障害、貧血、腹痛、腸閉塞、無力症、及び蜂巣炎であった。

#### 【 0010 】

デュルバルマブ (MEDI4736、IMFINZI (商標)) は、PD-L1 に結合するヒト IgG1 抗体であり、非小細胞肺癌、頭頸部扁平上皮細胞癌、膀胱癌、膵臓癌において、単剤又はトレメリムマブとの組み合わせで、臨床試験において試験され、胃癌、黒色腫、及び切除不能な肝細胞癌などの追加の固形癌の試験において、他の生物学的及び小分子とともに試験されている。10

#### 【 0011 】

デュルバルマブは、プラチナ含有化学療法中若しくはその後に疾患が進行したか、又はプラチナ含有化学療法によるネオアジュvant 若しくはアジュvant 処置から 12 ヶ月以内に疾患が進行した、局所進行性又は転移性尿路上皮癌を有する患者の処置につき、FDA に承認された。20

#### 【 0012 】

デュルバルマブ及びトレメリムマブの第 1B 相臨床試験では、非小細胞肺癌 (NSCLC) において、ある程度の活性が示された。しかし、2017 年 7 月、AstraZeneca は、非小細胞肺癌の第一選択処置としてのトレメリムマブを併用したデュルバルマブの第 I II 相試験が、無増悪生存期間の主要評価項目を満たすことができなかつと発表した。30

#### 【 0013 】

肺癌患者におけるデュルバルマブ及びゲフィチニブを組み合わせた第 I 相試験の初期の結果は、「有望である」と報告された。固形腫瘍に対してデュルバルマブ及び TLR7 / 8 アゴニスト (MEDI 9197) を使用した第 1 相臨床試験が進行中である。HPV 関連の再発性 / 転移性頭頸部癌を有する患者において、デュルバルマブを HPV DNA ワクチン (MEDI 0457) と組み合わせた第 1b / 2a 相試験が進行中である。30

#### 【 0014 】

2017 年 11 月、二重盲検第 3 相 AstraZeneca PACIFIC 臨床試験では、ステージ I II の非小細胞肺癌の処置におけるデュルバルマブの有効性が報告された。2 サイクル以上のプラチナベースの化学療法後に疾患が進行しなかつたステージ I II の NSCLC を有する 709 人の患者のコホートは、肺癌の地固め療法としてデュルバルマブ又はプラセボの投与を受けるように無作為に割り当てられた。デュルバルマブは、無増悪生存期間の中央値を 5.6 ヶ月 (プラセボ) から 16.8 ヶ月 (デュルバルマブ) に増加させた。12 ヶ月の無増悪生存率は 35.3% (プラセボ) から 55.9% (デュルバルマブ) に増加し、18 ヶ月の無増悪生存率は 27.0% (プラセボ) から 44.2% (デュルバルマブ) に増加した。死亡又は遠隔転移までの期間の中央値は、14.6 ヶ月 (プラセボ) から 23.2 ヶ月 (デュルバルマブ) に増加した。しかし、極端な副作用も患者の 26.1% (プラセボ) から患者の 29.9% (デュルバルマブ) に増加した。40

#### 【 0015 】

1 つの標準的なプラチナベースのレジメン中又はその後に疾患が進行した局所進行性又は転移性尿路上皮癌を有する 182 人の患者において、デュルバルマブへの曝露後に有害反応が報告された。患者は、2 週間ごとに静脈内注入により 10 mg / kg のデュルバルマブを投与された。曝露期間の中央値は 10.2 週間であった (範囲 : 0.14、52.4)。患者の 31% は、有害反応のために薬の遅延又は中断があった。最も一般的な有害反応 (> 2%) は、肝損傷 (4.9%)、尿路感染症 (3.3%)、急性腎障害損傷 (3.3%)、及び筋骨格痛 (2.7%) であった。最も一般的な有害反応 (15% 以上) は50

、倦怠感（39%）、筋骨格痛（24%）、便秘（21%）、食欲不振（19%）、恶心（16%）、末梢性浮腫（15%）及び尿路感染症（15%）であった。最も一般的なグレード3又は4の有害反応（3%以上）は、倦怠感、尿路感染症、筋骨格痛、腹痛、脱水症、及び一般的な身体的健康の悪化であった。デュルバルマブで処置された8人の患者（4.4%）は、心肺停止、全般的な身体的健康の悪化、敗血症、腸閉塞、肺炎、又は免疫介在性肝炎のグレード5の有害事象を経験した。さらなる3人の患者が死亡時に感染及び疾患の進行を経験していた。デュルバルマブは、3.3%の患者で有害反応のために中止された。重篤な有害反応は、患者の46%で発生した。最も頻度の高い重篤な有害反応（>2%）は、急性腎障害（4.9%）、尿路感染症（4.4%）、筋骨格痛（4.4%）、肝障害（3.3%）、全般的な健康状態の悪化（3.3%）、敗血症、腹痛、発熱／腫瘍関連発熱（各2.7%）であった。全身性コルチコステロイド又はホルモン補充療法を必要とする免疫介在性有害反応は、全身性コルチコステロイド療法を必要とする5.5%（10/182）の患者、及びホルモン補充療法のみを必要とする2.7%（5/182）の患者を含む、8.2%（15/182）の患者で発生した。7人の患者（3.8%）は、免疫介在性の有害反応のために、1日40mg超相当のプレドニゾンの経口投与を受けた。

#### 【0016】

BMS-936559を含むさらなる抗PD-L1抗体は臨床試験で試験されており、他の抗体は前臨床試験中である。

#### 【0017】

国際公開第2013/181634号（Sorrento Therapeutics）は、PD-L1抗体について説明している。開示された唯一の抗体、「SH1E2」（当該出願の配列番号147/148）は、当技術分野で開示されているPD-L1抗体10A5及びYW234.55S70と比較した場合、CD25陽性細胞のパーセンテージによって測定される、改善されたT細胞活性化を示すと言われている。

#### 【0018】

感染症は、腫瘍学と多くの類似点を示す。免疫調節におけるPD-L1の役割は、病原体に対する免疫応答を最大化するために利用され得ると考えられている。感染症における免疫調節は医学の新たな分野であり、初期のレビューでは、PD-L1遮断が、特にT細胞の枯渇への対抗を助けることにより、感染に対する生物学的反応を改善し、免疫介在性クリアランスを管理し、長期免疫を生成し得ることが示唆されている（Wykes and Lewin, 2017）。したがって、PD-L1を標的とすることができ、感染症の処置における用途が見出されるさらなる分子も当技術分野で依然として必要とされている。

#### 【0019】

PD-L1を標的とする抗体は、血管炎症及び脳卒中などの炎症に関連する状態の処置にも有用であり得る。

#### 【0020】

開発中の様々な抗PD-L1治療剤があるが、現在のデータは、既存の抗PD-L1単剤療法による全体的な処置が癌患者の50%未満で反応をもたらすことを示している。報告された有害反応の範囲及び重症度は、臨床試験における抗体間で異なる。客観的応答率（ORR）を高めるため、及び／又は有害効果を減らすために、抗PD-L1抗体は、他のチェックポイントレギュレーターに対する抗体などの他の生物学的製剤、並びに小分子療法、及び腫瘍ワクチンなどの他の免疫系活性化アプローチと組み合わせられ得る。

#### 【0021】

したがって、PD-L1を標的とすることができる、癌治療における用途が見出されるさらなる分子が当技術分野で依然として必要とされている。

#### 【発明の概要】

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0022】

発明の記載

10

20

30

40

50

本発明者らは、ファージライブリーリーのスクリーニング、続いて変異誘発、スクリーニング、選択、及び軽鎖シャッフルリングによって、抗 P D - L 1 抗体を調製して、P D - L 1 に対する親和性及びT細胞活性化アッセイにおける活性を有する抗 P D - L 1 抗体を単離した。

#### 【 0 0 2 3 】

翻訳後修飾の可能性のある部位を除去し、選択された抗体の生物物理学的特性を改善するために、変異誘発、スクリーニング及び選択のさらなるラウンドが実行された。

#### 【 0 0 2 4 】

上記のアプローチにより、P D - L 1 への優れた結合と T 細胞活性化アッセイにおける活性とを示す、抗 P D - L 1 抗体の同定が可能となった。これらの特徴に基づいて、本発明の抗体は、P D - L 1 の阻害を介して、ヒトの癌、並びに感染性及び炎症性疾患の処置における用途を見出すことが期待される。10

#### 【 0 0 2 5 】

本発明の抗体はまた、ヒト P D - L 1 に対するそれらの親和性と同等の、カニクイザル P D - L 1 に対する高い親和性を有することが示された。本発明の抗体はまた、マウス P D - L 1 に対して測定可能な親和性を示した。

#### 【 0 0 2 6 】

さらに、P D - L 1 に対する抗体は、比較的高い融解温度を有することが確認され、これは、抗体の製造及び保管に有益な、安定性の向上が期待できる。

#### 【 0 0 2 7 】

本発明は以下を提供する：

1 . H C D R 1 のアミノ酸配列（アミノ酸 3 1 から 3 5 ）が、S Y G I S （配列番号 1 ）であり；H C D R 2 のアミノ酸配列が、W I S A Y X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> X<sub>3</sub> X<sub>4</sub> N Y A Q K L Q G （配列番号 2 ）であり；H C D R 3 のアミノ酸配列が、D L F P T I F G V S Y Y Y Y （配列番号 3 ）であり；ここで、X<sub>1</sub>は、S 又は N 又は G であり；X<sub>2</sub>は、G 又は S であり；X<sub>3</sub>は、又は G、N 又は S であり；X<sub>4</sub>は、T 又は A であり、配列は、Kabat の命名法によって定義されることを特徴とする、重鎖相補性決定領域（C D R）：H C D R 1 、H C R D 2 及び H C D R 3 を含む可変重鎖（V H ）ドメインを含む、P D - L 1 に特異的に結合することができる抗体又はその抗原結合フラグメント。20

#### 【 0 0 2 8 】

2 . H C D R 1 のアミノ酸配列（アミノ酸 3 1 から 3 5 ）が、S Y G I S （配列番号 1 ）であり；H C D R 2 のアミノ酸配列が、W I S A Y X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> X<sub>3</sub> X<sub>4</sub> N Y A Q K L Q G （配列番号 2 ）であり；H C D R 3 のアミノ酸配列が、D L F P T I F G V S Y Y Y Y （配列番号 3 ）であり；ここで、X<sub>1</sub>は、S 又は N であり；X<sub>2</sub>は、G 又は S であり；X<sub>3</sub>は、G 又は N であり；X<sub>4</sub>は、T であり、配列は、Kabat の命名法によって定義されることを特徴とする、項 1 に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。30

#### 【 0 0 2 9 】

3 . H C D R 1 に先行する 2 8 位のアミノ酸が P 又は T である、項 1 又は項 2 に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

#### 【 0 0 3 0 】

4 . H C D R 2 の配列 X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> X<sub>3</sub> X<sub>4</sub> （配列番号 4 ）（残基 5 4 ~ 5 7 ）が、S G G T （配列番号 5 ）、N S N T （配列番号 6 ）、G G S T （配列番号 7 ）及び S G N A （配列番号 8 ）から選択される、項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。40

#### 【 0 0 3 1 】

5 . H C D R 1 の 2 8 位（Kabat の命名法）の残基が P であり、H C D R 2 の配列 X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> X<sub>3</sub> X<sub>4</sub> （配列番号 4 ）（残基 5 4 ~ 5 7 ）が S G G T （配列番号 5 ）である、項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

#### 【 0 0 3 2 】

(a) 可変軽鎖 (VL) がカッパVLであり、LCDR1のアミノ酸配列が、R A S Q S I X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>R L A (配列番号9) であり；LCDR2のアミノ酸配列が、E A S X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>E X<sub>9</sub> (配列番号10) であり；LCDR3のアミノ酸配列が、Q Q X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>P X<sub>14</sub> X<sub>15</sub>X<sub>16</sub> (配列番号11) であり；ここで、X<sub>5</sub>は、G又はSであり；X<sub>6</sub>は、N又はGであり；X<sub>7</sub>は、T又はNであり；X<sub>8</sub>は、S又はLであり；X<sub>9</sub>は、T又はSであり；X<sub>10</sub>は、S又はAであり；X<sub>11</sub>は、Y又はNであり；X<sub>12</sub>は、S又はTであり；X<sub>13</sub>は、T、W又はFであり；X<sub>14</sub>は、不在又はRであり；X<sub>15</sub>は、Y、R又はVであり；X<sub>16</sub>は、T又はSであること、又は

(b) VLがラムダVLであり、LCDR1のアミノ酸配列が、T G T S S D V G G Y N X<sub>17</sub>V S (配列番号12) であり；LCDR2のアミノ酸配列が、E V T N R P S (配列番号13) であり；LCDR3のアミノ酸配列が、S S F K R G S T L V V (配列番号14) であり；ここで、X<sub>17</sub>は、Y又はSであり；配列は、Kabatの命名法によって定義されること

を特徴とする、軽鎖相補性決定領域：LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含む、項1から5のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

#### 【0033】

7. VLドメインがカッパVLであり、LCDR1のアミノ酸配列が、R A S Q S I G N R L A (配列番号15) であり；LCDR2のアミノ酸配列が、E A S T S E T (配列番号16) であり；LCDR3のアミノ酸配列が、Q Q S Y S T P Y T (配列番号17) である、項6に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

#### 【0034】

##### 8. 抗体：

- (a) 配列番号1、18、3、15、16及び17のG1AA/E12v2；
- (b) 配列番号1、18、3、19、20及び21のG1AA/G12v2；
- (c) 配列番号1、18、3、19、20及び22のG1AA/E05v2；
- (d) 配列番号1、23、3、15、16及び17のG1/887\_04\_E12；
- (e) 配列番号1、23、3、19、20及び21のG1/887\_04\_G12；
- (f) 配列番号1、23、3、19、20及び22のG1/894\_08\_E05；
- (g) 配列番号1、23、3、19、20及び24のG1/894\_08\_A05；
- (h) 配列番号1、18、3、25、13及び14のG1AA/lambdav3；
- (i) 配列番号1、23、3、26、13及び14のG1/280\_02\_G02\_NS又は
- (j) 配列番号1、78、3、26、13及び14のG1/280\_02\_G02；

のCDR (それぞれHCDR1、HC RD2、HCDR3、LCDR1、LCDR2及びLCDR3) を含む抗原結合部位を含み、ここで配列はKabatの命名法に従って定義される、項1から7のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

#### 【0035】

##### 9. 抗原結合部位が、抗体：

- (a) 配列番号27及び28それぞれのG1AA/E12v2；
- (b) 配列番号29及び30それぞれのG1AA/G12v2；
- (c) 配列番号31及び32それぞれのG1AA/E05v2；
- (d) 配列番号33及び34それぞれのG1/887\_04\_E12；
- (e) 配列番号35及び36それぞれのG1/887\_04\_G12；
- (f) 配列番号37及び38それぞれのG1/894\_08\_E05；
- (g) 配列番号39及び40それぞれのG1/894\_08\_A05；
- (h) 配列番号41及び42それぞれのG1AA/lambdav3；
- (i) 配列番号43及び44それぞれのG1/280\_02\_G02\_NS；又は
- (j) 配列番号45及び46それぞれのG1/280\_02\_G02；

のVH及び/又はVLドメインを含み、ここで配列はKabatの命名法に従って定義される、項1から8のいずれか1項に記載の抗体又は抗原結合フラグメント。

#### 【0036】

10 . 抗体分子が、抗体：

- ( a ) 配列番号 4 7 及び 4 8 それぞれの G1AA/E12v2 ;
- ( b ) 配列番号 4 9 及び 5 0 それぞれの G1AA/G12v2 ;
- ( c ) 配列番号 5 1 及び 5 2 それぞれの G1AA/E05v2 ;
- ( d ) 配列番号 5 3 及び 5 4 それぞれの G1/887\_04\_E12 ;
- ( e ) 配列番号 5 5 及び 5 6 それぞれの G1/887\_04\_G12 ;
- ( f ) 配列番号 5 7 及び 5 8 それぞれの G1/894\_08\_E05 ;
- ( g ) 配列番号 5 9 及び 6 0 それぞれの G1/894\_08\_A05 ;
- ( h ) 配列番号 6 1 及び 6 2 それぞれの G1AA/lambdav3 ;
- ( i ) 配列番号 6 3 及び 6 4 それぞれの G1/280\_02\_G02\_NS ; 又は
- ( j ) 配列番号 6 5 及び 6 6 それぞれの G1/280\_02\_G02 ;

の重鎖及び / 又は軽鎖を含み、ここで配列は Kabat の命名法に従って定義される、項 1 から 9 のいずれか 1 項に記載の抗体分子。

【 0 0 3 7 】

11 . H C D R ( H C D R 1 、 H C D R 2 及び H C D R 3 ) 及び / 又は L C D R ( L C D R 1 、 L C D R 2 及び L C D R 3 ) ; V H 及び / 又は V L ; F a b ; 抗体 G1AA/E12v2 、 G1AA/G12v2 又は G1AA/E05v2 の軽鎖及び / 又は重鎖を含む、項 1 から 1 0 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

【 0 0 3 8 】

12 . H C D R ( H C D R 1 、 H C D R 2 及び H C D R 3 ) 及び / 又は L C D R ( L C D R 1 、 L C D R 2 及び L C D R 3 ) ; V H 及び / 又は V L ; F a b ; 抗体 G1AA/E12v2 又は G1/E12v2 の軽鎖及び / 又は重鎖を含む、項 1 から 1 1 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

【 0 0 3 9 】

13 . V H が、配列番号 2 7 の G1AA/E12v2 、配列番号 2 9 の G1AA/G12v2 、配列番号 3 1 の G1AA/E05v2 、配列番号 3 3 の G1/887\_04\_E12 、配列番号 3 5 の G1/887\_04\_G12 、配列番号 3 7 の G1/894\_08\_E05 、配列番号 3 9 の G1/894\_08\_A05 、配列番号 4 1 の G1AA/lambdav3 、配列番号 4 3 の G1/280\_02\_G02\_NS 及び配列番号 4 5 の G1/280\_02\_G02 から選択される抗体の V H に対して少なくとも 9 5 、 9 6 、 9 7 、 9 8 又は 9 9 % の同一性を有する、項 1 から 1 2 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

【 0 0 4 0 】

14 . 抗体分子又は抗原結合フラグメントがヒト P D - L 1 に結合する、項 1 から 1 3 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

【 0 0 4 1 】

15 . 抗体分子又は抗原結合フラグメントがカニクイザル P D - L 1 に結合する、項 1 から 1 4 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

【 0 0 4 2 】

16 . 抗体又は抗原結合フラグメントがマウス P D - L 1 に結合する、項 1 から 1 5 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

【 0 0 4 3 】

17 . 抗体又は抗原結合フラグメントが、組換えヒト P D - L 1 及び組換えカニクイザル P D - L 1 に対して、 S P R ( 例えれば、 Biacore ) によって測定した場合、 2 n M 未満 、好ましくは 1 n M 未満 、より好ましくは 0 . 7 5 n M 未満 、さらにより好ましくは 0 . 5 n M 未満 の親和性 ( K D ) を有する、項 1 から 1 6 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

【 0 0 4 4 】

18 . 抗体又はその抗原結合フラグメントが、混合リンパ球反応 ( M L R ) アッセイで評価した場合、 T 細胞活性化を増強する、項 1 から 1 7 のいずれか 1 項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

10

20

30

40

50

**【 0 0 4 5 】**

19. 抗体又は抗原結合フラグメントが、少なくとも第2の抗原結合部位を含む、多重特異性、好ましくは二重特異性の分子である、項1から18のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

**【 0 0 4 6 】**

20. 抗体又はその抗原結合フラグメントが、抗体又は抗原結合フラグメントの定常ドメインに位置する第2の抗原結合部位を含む、項1から19のいずれか1項に記載の抗体又は抗原結合フラグメント。

**【 0 0 4 7 】**

21. 第2の抗原結合部位が、

10

(a) 定常重鎖ドメインのA B構造ループにおける第1の配列及び/又はE F構造ループにおける第2の配列、

(b) 定常重鎖ドメインのA B構造ループにおける第1の配列及びE F構造ループにおける第2の配列、

(c) 定常重鎖ドメインのA B構造ループにおける第1の配列及び/又はE F構造ループにおける第2の配列及び/又はC D構造ループにおける第3の配列

(d) 定常重鎖ドメインのA B構造ループにおける第1の配列、E F構造ループにおける第2の配列、及びC D構造ループにおける第3の配列

を含む、項20に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

**【 0 0 4 8 】**

20

22. 定常重鎖ドメインがC H 3ドメインである、項20又は21に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

**【 0 0 4 9 】**

23. 抗体が免疫グロブリンG(IgG)、又はその抗原結合フラグメントである、項1から22のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

**【 0 0 5 0 】**

24. 抗体が、IgG1若しくはそのフラグメント、又はIgG4若しくはそのフラグメントである、項23に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

**【 0 0 5 1 】**

25. 抗体が、修飾F c領域を有するIgG1又はそのフラグメントである、項23又は項24に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

30

**【 0 0 5 2 】**

26. 抗体が、免疫エフェクター機能が低下した修飾F c領域を有するIgG1又はそのフラグメントである、項24又は項25に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

**【 0 0 5 3 】**

27. 修飾F cが、IgG1と比較して低下したA D C C及び/又はC D Cを有する、項25又は26に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

**【 0 0 5 4 】**

28. 修飾F c領域が、L A L A、L A L A - P A又はL A L A - P G修飾を含む、項25から27のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

40

**【 0 0 5 5 】**

29. 抗体が、F c領域にL A L A修飾を含むIgG1又はその抗原結合フラグメントである、項25から28のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

**【 0 0 5 6 】**

30. 第2の抗原結合部位が、阻害性チェックポイント分子、共刺激分子、又は腫瘍関連抗原に結合する、項19から29のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

**【 0 0 5 7 】**

本発明によると、抗体又はその抗原結合フラグメントにおいて、第2の抗原結合部位は、C T L A - 4、L A G - 3、T I G I T、T I M - 3、V I S T A、C D 7 3、C S F

50

- 1 R、K I R . B 7 - H 3、B 7 - H 4、2 B 4、N K G 2 A、C D 4 7、S I R P a、B T L A、C C R 4、C D 2 0 0 R、又はT G F ベータなどの阻害性チェックポイント分子に結合し得る。

#### 【 0 0 5 8 】

本発明によると、抗体又はその抗原結合フラグメントにおいて、第2の抗原結合部位は、O X 4 0、I C O S、C D 4 0、H V E M、N K G 2 D、又はT N F R 2などのT細胞によって発現される共刺激分子に結合し、その共刺激分子のアゴニストであり得る。

#### 【 0 0 5 9 】

本発明によると、抗体又はその抗原結合フラグメントにおいて、第2の抗原結合部位は、c - M e t、B 7 - H 3、B 7 - H 4、E G F R、H E R - 2、E P C A M、C E A C A M、F A P、V E G F、M S L N、G P C 3、C D 3 8、C D 1 9、又はC D 2 0などの腫瘍関連抗原(T A A)に結合し得る。

#### 【 0 0 6 0 】

3 1 . 第2の抗原結合部位が、O X 4 0、誘導性T細胞共刺激因子(I C O S)又はC D 1 3 7に結合しない、項1 9から3 0のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

#### 【 0 0 6 1 】

3 2 . 第2の抗原結合部位が、C D 2 7又は糖質コルチコイド誘導性T N F R 関連タンパク質(G I T R)に結合しない、項1 9から3 0のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

#### 【 0 0 6 2 】

3 3 . 第2の抗原結合部位が、リンパ球活性化遺伝子3(L A G - 3)に結合しない、項1 9から3 0のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

#### 【 0 0 6 3 】

3 4 . 項1から3 3のいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント、及び免疫系モジュレーター(アゴニスト又はアンタゴニスト)、細胞傷害性分子、又は放射性同位体を含む、コンジュゲート又は融合物。

#### 【 0 0 6 4 】

3 5 . 検出可能な標識を有する、項1から3 4のいずれか1項に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、コンジュゲート又は融合物。

#### 【 0 0 6 5 】

3 6 . 項1から3 5のいずれか1項に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、コンジュゲート又は融合物をコードする、核酸分子又は核酸分子のセット。

#### 【 0 0 6 6 】

- 3 7 . 核酸分子又は核酸分子のセットが、  
 ( a ) G1AA/E12v2又はG1/E12v2 ;  
 ( b ) G1AA/E05v2又はG1/E05v2 ;  
 ( c ) G1AA/G12v2又はG1/G12v2 ;  
 ( d ) G1/887\_04\_E12 ;  
 ( e ) G1/894\_08\_E05 ;  
 ( f ) G1/887\_04\_G12 ;  
 ( g ) G1/894\_08\_A05 ;  
 ( h ) G1AA/lambdav3 ;  
 ( i ) G1/280\_02\_G02\_NS ; 又は  
 ( j ) G1/280\_02\_G02 。

のV H及び/又はV L、F a b、重鎖及び/又は軽鎖の1つ以上をコードするc D N A配列を含む、項3 6に記載の核酸分子又は核酸分子のセット。

#### 【 0 0 6 7 】

3 8 . 第1の核酸配列及び第2の核酸配列を含み、

- ( a ) 第1の核酸配列が、配列番号2 7の抗体G1AA/E12v2のV HをコードするV H c

10

20

30

40

50

D N A 配列を含み、第 2 の核酸配列が、配列番号 2 8 の抗体G1AA/E12v2のV L をコードするV L c D N A 配列を含むか、

( b ) 第 1 の核酸配列が、配列番号 2 9 の抗体G1AA/G12v2のV H をコードするV H c D N A 配列を含み、第 2 の核酸配列が、配列番号 3 0 の抗体G1AA/G12v2のV L をコードするV L c D N A 配列を含むか、

( c ) 第 1 の核酸配列が、配列番号 3 1 の抗体G1AA/E05v2のV H をコードするV H c D N A 配列を含み、第 2 の核酸配列が、配列番号 3 2 の抗体G1AA/E05v2のV L をコードするV L c D N A 配列を含むか、

( d ) 第 1 の核酸配列が、配列番号 3 3 の抗体G1/887\_04\_E12のV H をコードするV H c D N A 配列を含み、第 2 の核酸配列が、配列番号 3 4 の抗体G1/887\_04\_E12のV L c D N A 配列を含むか、10

( e ) 第 1 の核酸配列が、配列番号 3 5 の抗体G1/887\_04\_G12のV H をコードするV H c D N A 配列を含み、第 2 の核酸配列が、配列番号 3 6 の抗体G1/887\_04\_G12のV L をコードするV L c D N A 配列を含むか、

( f ) 第 1 の核酸配列が、配列番号 3 7 の抗体G1/894\_08\_E05のV H をコードするV H c D N A 配列を含み、第 2 の核酸配列が、配列番号 3 8 の抗体G1/894\_08\_E05のV L をコードするV L c D N A 配列を含むか、20

( g ) 第 1 の核酸配列が、配列番号 3 9 の抗体G1/894\_08\_A05のV H をコードするV H c D N A 配列を含み、第 2 の核酸配列が、配列番号 4 0 の抗体G1/894\_08\_A05のV L をコードするV L c D N A 配列を含むか、

( h ) 第 1 の核酸配列が、配列番号 4 1 の抗体G1AA/lambdav3のV H をコードするV H c D N A 配列を含み、第 2 の核酸配列が、配列番号 4 2 の抗体G1AA/lambdav3のV L をコードするV L c D N A 配列を含むか、20

( i ) 第 1 の核酸配列が、配列番号 4 3 の抗体G1/280\_02\_G02\_NSのV H をコードするV H c D N A 配列を含み、第 2 の核酸配列が、配列番号 4 4 の抗体G1/280\_02\_G02\_N SのV L をコードするV L c D N A 配列を含むか、又は

( i ) 第 1 の核酸配列が、配列番号 4 5 の抗体G1/280\_02\_G02のV H をコードするV H c D N A 配列を含み、第 2 の核酸配列が、配列番号 4 6 の抗体G1/280\_02\_G02のV L をコードするV L c D N A 配列を含む、30

項 3 7 に記載の核酸分子又は核酸分子のセット。

#### 【 0 0 6 8 】

39 . 項 3 6 から項 3 8 のいずれかの核酸分子又は核酸分子のセットを含む、ベクター又はベクターのセット。

#### 【 0 0 6 9 】

40 . 項 3 6 から項 3 8 のいずれかの核酸分子若しくは核酸分子のセット、又は項 3 9 のベクター若しくはベクターのセットを含む、組換え宿主細胞。

#### 【 0 0 7 0 】

41 . 抗体、抗原結合フラグメント、コンジュゲート又は融合物の產生に適した条件下で項 4 0 の組換え宿主細胞を培養することを含む、項 1 から 3 5 のいずれか 1 項に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、コンジュゲート又は融合物を產生する方法。40

#### 【 0 0 7 1 】

42 . 抗体、抗原結合フラグメント、コンジュゲート又は融合物を単離及び / 又は精製することをさらに含む、項 4 1 に記載の方法。

#### 【 0 0 7 2 】

43 . 項 1 から 4 2 のいずれか 1 項に記載の抗体、抗原結合フラグメント、コンジュゲート又は融合物と、賦形剤（例えば、薬学的に許容される賦形剤）とを含む、組成物（例えば、医薬組成物）。

#### 【 0 0 7 3 】

44 . 治療によるヒト又は動物の体の処置方法における使用のための、項 1 から 3 5 のいずれか 1 項に記載の抗体、抗原結合フラグメント、コンジュゲート若しくは融合物、又

10

20

30

40

50

は項 4 3 に記載の組成物。

【 0 0 7 4 】

4 5 . 項 1 から 3 5 のいずれか 1 項に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、コンジュゲート若しくは融合物、又は項 4 3 に記載の組成物の治療有効量を患者に投与することを含む、患者の疾患又は障害を処置する方法。

【 0 0 7 5 】

4 6 . ヒト又は動物の体の処置のための医薬の製造における、項 1 から 3 5 のいずれか 1 項に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、コンジュゲート若しくは融合物、又は項 4 3 に記載の組成物の使用。

【 0 0 7 6 】

4 7 . 抗体、その抗原結合フラグメント、コンジュゲート、融合物又は組成物を、第 2 の治療と組み合わせてヒト又は動物の体に投与することを含む処置方法における項 4 4 に記載の使用のための、項 1 から 3 5 のいずれか 1 項に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、コンジュゲート若しくは融合物、又は項 4 3 に記載の組成物。

10

【 0 0 7 7 】

4 8 . 方法が、治療有効量の第 2 の治療を患者に投与することをさらに含む、項 4 5 の方法、又は項 4 6 の使用。

【 0 0 7 8 】

4 9 . 第 2 の治療が、放射線療法、好ましくは標的放射線療法である、項 4 7 に記載の使用のための、又は項 4 8 に記載の方法における、抗体、その抗原結合フラグメント、コンジュゲート、融合物又は組成物。

20

【 0 0 7 9 】

5 0 . ヒト若しくは動物の体で実施される、又はヒト若しくは動物の体からのサンプルでインビトロで実施される診断方法における使用のための、項 1 から 3 5 のいずれか 1 項に記載の抗体、抗原結合フラグメント、コンジュゲート若しくは融合物、又は項 4 3 に記載の組成物。

【 0 0 8 0 】

5 1 . 項 1 から 3 5 のいずれか 1 項に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、コンジュゲート若しくは融合物の、又は項 4 3 に記載の組成物の使用を含む、患者の疾患又は障害を検出する方法。

30

【 0 0 8 1 】

5 2 . 診断薬の製造における、項 1 から 3 5 のいずれか 1 項に記載の抗体、その抗原結合フラグメント、コンジュゲート若しくは融合物の使用、又は項 4 3 に記載の組成物の使用。

【 0 0 8 2 】

抗 P D - L 1 又は抗 P D - 1 抗体を用いた様々な種類の癌の処置が臨床試験で調査され、有望な結果が示されている。これらには、卵巣癌、前立腺癌、結腸直腸癌、線維肉腫、腎細胞癌、黒色腫（進行性及び転移性黒色腫）、脾臓癌、乳癌、多形神経膠芽腫、肺癌（非小細胞肺癌及び小細胞肺癌など）、頭頸部癌（頭頸部扁平上皮細胞癌など）、胃癌（stomach cancer）（胃癌（gastric cancer））、膀胱癌、頸癌、子宮癌（子宮内膜癌、子宮頸癌）、外陰癌、精巣癌、陰茎癌、食道癌、肝細胞癌、上咽頭癌、メルケル細胞癌、中皮腫、D N A ミスマッチ修復欠損結腸直腸癌、D N A ミスマッチ修復欠損子宮内膜癌、甲状腺癌、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫（びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、無痛性非ホジキンリンパ腫、マントル細胞リンパ腫など）、白血病（慢性リンパ性白血病、骨髓性白血病、急性リンパ球性白血病、慢性リンパ球性白血病など）、多発性骨髄腫、及び末梢 T 細胞リンパ腫などの固形腫瘍が含まれる。したがって、本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントは、これらの癌の処置における用途が見出され得る。これらの癌の腫瘍は、P D - L 1 を発現する T I L などの免疫細胞を含有することが知られているか、又はそれが期待される。

40

【 0 0 8 3 】

50

特に、P D - L 1 抗体を使用した、黒色腫、結腸直腸癌、乳癌、膀胱癌、腎細胞癌、胃癌、頭頸部癌（頭頸部の扁平上皮細胞癌など）、中皮腫、肺癌（非小細胞肺癌など）、卵巣癌、メルケル細胞癌、膵臓癌、黒色腫及び肝細胞癌の処置が臨床試験で調査され、有望な結果が示されている。したがって、本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントを使用して処置される癌は、黒色腫、結腸直腸癌、乳癌、膀胱癌、腎細胞癌、膀胱癌、胃癌、頭頸部癌（頭頸部の扁平上皮細胞癌など）、中皮腫、肺癌（非小細胞肺癌など）、卵巣癌、メルケル細胞癌、膵臓癌、黒色腫、又は肝細胞癌であり得る。

#### 【 0 0 8 4 】

癌は、悪性癌細胞の異常な増殖を特徴とし得る。用途が乳癌などの特定の種類の癌に言及している場合、これは、関連する組織、この場合は乳房組織の悪性形質転換を指す。異なる組織、例えば、卵巣組織の悪性形質転換に起因する癌は、乳房などの身体の別の位置に転移性病変をもたらし得るが、これは、本明細書で言及される乳癌ではなく、卵巣癌である。

10

#### 【 0 0 8 5 】

癌は、原発癌又は二次癌であり得る。したがって、本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントは、癌が原発性腫瘍及び／又は腫瘍転移である、患者の癌を処置する方法における使用のためのものであり得る。

#### 【 0 0 8 6 】

本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントはまた、ウイルス、細菌、真菌及び／又は寄生虫感染症などの感染症の処置における用途を見出すことが期待され得る。好ましくは、感染症は、ウイルス性、細菌性又は真菌性疾患、より好ましくはウイルス性又は細菌性疾患、最も好ましくはウイルス性疾患である。感染症は、慢性又は急性であり得るが、好ましくは慢性である。

20

#### 【 0 0 8 7 】

本発明による抗体又はその抗原結合フラグメントで処置され得るウイルス性疾患の例には、ヒト免疫不全ウイルス（H I V）、インフルエンザウイルス、エンテロウイルス、B型肝炎ウイルス（H B V）、C型肝炎ウイルス（H C V）、A型肝炎ウイルス（H A V）、D型肝炎ウイルス（H D V）、E型肝炎ウイルス（H E V）、呼吸器合胞体ウイルス（R S V）、ヘルペスウイルス（エプスタイン・バーウイルス、単純ヘルペスウイルス1（H S V - 1）、単純ヘルペスウイルス2（H S V - 2）、サイトメガロウイルス（C M V）など）、及びパピローマウイルス感染症が含まれる。

30

#### 【 0 0 8 8 】

本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントで処置され得る細菌性疾患の例には、結核菌（Mycobacterium tuberculosis）、グラム陰性菌（アシネットバクター（Acinetobacter）、クレビセラ（Klebsiella）、エンテロバクター（Enterobacter）など）、グラム陽性菌（クロストリジウム・ディフィシル（Clostridium difficile）、黄色ブドウ球菌（Staphylococcus aureus）など）、及びリステリア（Listeria）（リステリア・モノサイトゲネス（Listeria monocytogenes）など）感染症が含まれる。

30

#### 【 0 0 8 9 】

本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントで処置され得る真菌性疾患の例には、アスペルギルス（Aspergillus）及びカンジダ（Candida）感染症が含まれる。

40

#### 【 0 0 9 0 】

本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントで処置され得る寄生虫性疾患の例には、マラリア、トキソプラズマ、及びリーシュマニア感染症が含まれる。

#### 【 0 0 9 1 】

本発明による抗体又はその抗原結合フラグメントは、患者、好ましくはヒト患者の処置方法において使用されるように設計される。本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントは、通常、医薬組成物の形態で投与され、これは、薬学的に許容される賦形剤などの少なくとも1つの追加の成分を含み得る。例えば、本発明の医薬組成物は、抗体又はその抗原結合フラグメントに加えて、薬学的に許容される賦形剤、担体、緩衝剤、安定剤又は当業

50

者に周知の他の材料を含み得る。このような材料は非毒性でなければならず、抗体又はその抗原結合フラグメントの有効性に干渉してはならない。担体又は他の材料の正確な性質は、投与経路に依存し、これは、注射（例えば、静脈内又は皮下）によるものであり得る。抗体又はその抗原結合フラグメントは、静脈内又は皮下で投与され得る。

#### 【 0 0 9 2 】

液体医薬組成物は、一般的に、水又は生理食塩水などの液体担体を含む。皮下若しくは静脈内注射、又は罹患部位での注射の場合、抗体若しくはその抗原結合フラグメント、又は抗体若しくはその抗原結合フラグメントを含む医薬組成物は、好ましくは、発熱物質を含まず、適切な pH、等張性及び安定性を備えた、非経口的に許容される水溶液の形態である。

10

#### 【 0 0 9 3 】

本発明による抗体又はその抗原結合フラグメントを含む組成物は、単独で若しくは他の処置と組み合わせて、同時に若しくは連続して、又は処置される状態に応じて別の治療剤との組み合わせ製剤として、投与され得る。例えば、本発明の抗体又はそのフラグメントは、処置される疾患、例えば、上記のような癌のための既存の治療剤と組み合わせて投与され得る。例えば、本発明の抗体又はそのフラグメントは、化学療法、抗腫瘍ワクチン接種（癌ワクチン接種とも呼ばれる）、放射線療法、免疫療法、腫瘍溶解性ウイルス、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞療法、又はホルモン療法などの第2の抗癌療法と組み合わせて患者に投与され得る。

#### 【 0 0 9 4 】

本発明の抗体又はそのフラグメントは、化学療法、抗腫瘍ワクチン接種、又は放射線療法などの抗癌療法においてアジュバントとして作用し得ることが期待される。理論に拘束されることを望むものではないが、化学療法、抗腫瘍ワクチン接種、又は放射線療法の一部としての患者への抗体又はそのフラグメントの投与は、癌関連抗原PD-L1に対して、化学療法、抗腫瘍ワクチン接種、又は放射線療法のみで達成されるよりも大きな免疫応答を誘発すると考えられている。

20

#### 【 0 0 9 5 】

したがって、患者の癌を処置する方法は、本発明による治療有効量の抗体又はそのフラグメントを、化学療法剤、抗腫瘍ワクチン、放射性核種、免疫療法剤、腫瘍溶解性ウイルス、CAR-T細胞、又はホルモン療法剤と組み合わせて、患者に投与することを含み得る。化学療法剤、抗腫瘍ワクチン、放射性核種、免疫療法剤、腫瘍溶解性ウイルス、CAR-T細胞、又はホルモン療法剤は、好ましくは、問題の癌のための化学療法剤、抗腫瘍ワクチン、放射性核種、免疫療法剤、腫瘍溶解性ウイルス、CAR-T細胞、又はホルモン療法剤、すなわち、問題の癌の処置に効果的であることが示されている、化学療法剤、抗腫瘍ワクチン、放射性核種、免疫療法剤、腫瘍溶解性ウイルス、CAR-T細胞、又はホルモン療法剤である。適切な、問題の癌に対して効果的であることが示されている、化学療法剤、抗腫瘍ワクチン、放射性核種、免疫療法剤、腫瘍溶解性ウイルス、CAR-T細胞、又はホルモン療法剤の選択は、十分に当業者の能力の範囲内である。

30

#### 【 0 0 9 6 】

例えば、方法が本発明による治療有効量の抗体又はそのフラグメントを、化学療法剤と組み合わせて患者に投与することを含む場合、化学療法剤は、タキサン、細胞傷害性抗生物質、チロシンキナーゼ阻害剤、PARP阻害剤、B-Raf酵素阻害剤、アルキル化剤、プラチナ類似体、ヌクレオシド類似体、サリドマイド誘導体、抗悪性腫瘍化学療法剤などからなる群から選択され得る。タキサンは、ドセタキセル、パクリタキセル及びnab-paクリタキセルを含み；細胞傷害性抗生物質は、アクチノマイシン、ブレオマイシン、アントラサイクリン、ドキソルビシン及びバルルビシンを含み；チロシンキナーゼ阻害剤は、スニチニブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、アキシチニブ、PLX3397、イマチニブ、コベミチニブ及びトラメチニブを含み；PARP阻害剤は、ピラパリブを含み；B-Raf酵素阻害剤は、ベムラフェニブ及びダラフェニブを含み；アルキル化剤は、ダカルバジン、シクロホスファミド、テモゾロミドを含み；プラチナ類似体は、カルボプラ

40

50

チン、シスプラチン及びオキサリプラチンを含み；又クレオシド類似体は、ゲムシタピン及びアザシチジンを含み；抗悪性腫瘍剤は、フルダラビンを含む。本発明における使用に適した他の化学療法剤には、メトレキサート、デファクチニブ、エンチノstatt、ペメトレキセド、カベシタピン、エリブリン、イリノテカン、フルオロウラシル、及びビンプラスチンが含まれる。

#### 【 0 0 9 7 】

癌の処置のためのワクチン接種戦略は、クリニックで実施され、科学文献で詳細に議論されている ( Rosenberg S. Development of Cancer Vaccines. ASCO Educational Book Spring:60-62(2000)など)。これは主に、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) を伴う場合と伴わない場合の両方で、ワクチン接種方法としてこれらの細胞を使用することにより、自己又は同種異系の癌細胞によって発現される様々な細胞マーカーに応答するように免疫系を刺激する戦略を含む。GM-CSFは、抗原提示において強い反応を引き起こし、前記戦略で使用される場合、特によく機能する。

10

#### 【 0 0 9 8 】

本発明の方法が本発明による治療有効量の抗体又はそのフラグメントを、免疫療法剤と組み合わせて患者に投与することを含む場合、免疫療法剤は、チェックポイント阻害剤、共刺激分子、又は可溶性因子に結合する抗体 (CTLA-4、LAG-3、TIGIT、TIM-3、VISTA、CD73、CSF-1R、KIR、OX40、CD40、HEV M、TGF-B、IL-10、CSF-1に結合する抗体など) からなる群から選択され得る。或いは、免疫療法剤は、1つ以上のIL-2、コンジュゲートIL-2のプロドラッグ、GM-CSF、IL-7、IL-12、IL-9、IL-15、IL-18、IL-21、及びI型インターフェロンからなる群から選択される、サイトカイン又はサイトカインベースの治療であり得る。

20

#### 【 0 0 9 9 】

投与は「治療有効量」であり得、これは患者への利点を示すのに十分な量である。そのような利益は、少なくとも1つの症状の、少なくとも改善であり得る。したがって、特定の疾患の「処置」とは、少なくとも1つの症状の改善を指す。実際に投与される量、並びに投与の速度及び時間経過は、処置される対象の性質及び重症度、処置される特定の患者、個々の患者の臨床状態、障害の原因、組成物の送達部位、抗体又はそのフラグメントのタイプ、投与方法、投与のスケジュール、並びに医師に知られている他の要因に依存する。処置の処方、例えば、投与量の決定などは、一般医及び他の医師の責任の範囲内であり、症状の重症度及び/又は処置されている疾患の進行に依存し得る。抗体又はそのフラグメントの適切な用量は、当技術分野で周知である ( Ledermann et al.(1991) Int.J. Cancer 47:659-664 ; 及び Bagshawe et al.(1991) Antibody, Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals 4:915-922 )。投与される抗体又はそのフラグメントに対して適切な、本明細書又はPhysician's Desk Reference(2003)に示されている特定の投与量が使用され得る。抗体又はそのフラグメントの治療有効量又は適切な用量は、動物モデルにおけるそのインピトロ活性及びインピボ活性を比較することによって決定することができる。マウス及び他の試験動物における有効投与量をヒトに外挿するための方法は公知である。正確な用量は、処置される領域のサイズ及び位置、並びに特定の結合メンバーの正確な性質を含む、多数の要因に依存する。処置は、医師の裁量により、毎日、週に2回、週に1回、又は月に1回繰り返され得る。処置は、手術の前及び/又は後に行われ得、外科的処置の解剖学的部位に直接投与又は適用され得る。

30

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【 0 1 0 0 】

##### 詳細な説明

本発明は、PD-L1のCDRベースの抗原結合部位を含む抗体及びその抗原結合フラグメントに関する。本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントは、組換え手段によって产生され得る。「組換え抗体」は、組換え操作された宿主細胞によって產生された抗体である。本発明による抗体又はその抗原結合フラグメントは、任意選択により単離又は精製

40

50

される。

【0101】

「P D - L 1」という用語は、文脈上別段の必要がない限り、ヒト P D - L 1、マウス (murine)、特にマウス (mouse) P D - L 1、及び / 又はカニクイザル P D - L 1 を指し得る。好ましくは、「P D - L 1」という用語は、文脈上別段の必要がない限り、ヒト P D - L 1 を指す。

【0102】

「抗体分子」という用語は、天然であるか、又は部分的若しくは全体的に合成的に產生されるかを問わず、免疫グロブリンを説明する。抗体分子は、ヒト又はヒト化され得る。抗体分子は、好ましくはモノクローナル抗体分子である。抗体の例は、免疫グロブリン G などの免疫グロブリンアイソタイプ、及び I g G 1、I g G 2、I g G 3 及び I g G 4 などのそれらのアイソタイプサブクラス、並びにそれらのフラグメントである。4つのヒトサブクラス (I g G 1、I g G 2、I g G 3 及び I g G 4) には、それぞれ異なる重鎖が含有されるが、それらは相同性が高く、主にヒンジ領域及びそれらが宿主の免疫系を活性化する程度が異なる。I g G 1 及び I g G 4 は、ヒンジ領域に 2 つの鎖間ジスルフィド結合を含有し、I g G 2 は 4 つ、I g G 3 は 11 個の鎖間ジスルフィド結合を有する。

10

【0103】

本明細書で使用される「抗体」及び「抗体分子」という用語は、F a b 及び s c F v フラグメントなどの抗体フラグメントを含み、ただし、前記フラグメントは、P D - L 1 の C D R ベースの抗原結合部位を含む。したがって、文脈上別段の必要がない限り、本明細書で使用される「抗体」又は「抗体分子」という用語は、「抗体又はその抗原結合フラグメント」と同等である。

20

【0104】

抗体は免疫グロブリンであり、これは、2つの重鎖及び2つの軽鎖からなる同じ基本構造を有し、2つのF a b アームを形成する。このアームは、柔軟なヒンジ領域によって抗体のシステムであるF c ドメインに接続され、古典的な「Y」形状を与える、同一のドメインを含有する。F a b ドメインは、2つの可変ドメイン及び2つの定常ドメインからなり、重鎖には可変重鎖 (V H) 及び定常重鎖 1 (C H 1) ドメインがあり、軽鎖には可変軽鎖 (V L) 及び定常軽鎖 (C L) ドメインがある。2つの可変ドメイン (V H 及び V L) は、可変フラグメント (F v) を形成する。これは、抗体の C D R ベースの抗原特異性を提供し、定常ドメイン (C H 1 及び V L) は、構造フレームワークとして機能する。各可変ドメインは、相補性決定領域 (C D R) として知られる 3 つの超可変ループを含有する。V H 及び V L のそれぞれで、3 つの C D R (C D R 1、C D R 2、及び C D R 3) に 4 つの可変性の低いフレームワーク (F R) 領域 (F R 1、F W 2、F W 3、及び F W 4) が隣接し、構造 F W 1 - C D R 1 - F W 2 - C D R 2 - F W 3 - C D R 3 - F W 4 が得られる。C D R は、抗体の表面に特定の抗原認識部位を提供する。

30

【0105】

本明細書において、Kabat 及び ImMunoGeneTics (IMGT) の両方の番号付け命名法が使用される。一般的に、特に示されない限り (明示的に、又は文脈によって)、アミノ酸残基は、本明細書において、Kabat 番号付けスキーム (Kabat et al., 1991) に従って番号付けされる。IMGT 番号付けが使用される場合の例において、アミノ酸残基は、ImMunoGeneTics (IMGT) 番号付けスキームに従って本明細書において番号付けされる。IMGT 番号付けスキームは、Lefranc et al., 2005 に記載されている。

40

【0106】

配列が IMGT 命名法によって定義される場合、本発明は以下を提供する：

1 A . H C D R 1 のアミノ酸配列が、G Y X<sub>1</sub> F T S Y G (配列番号 67) であり；H C D R 2 のアミノ酸配列が、I S A Y X<sub>2</sub> X<sub>3</sub> X<sub>4</sub> X<sub>5</sub> (配列番号 68) であり；H C D R 3 のアミノ酸配列が、A R D L F P T I F G V S Y Y Y Y (配列番号 69) であり；ここで、X<sub>1</sub>は、P 又は T であり；X<sub>2</sub>は、S、N 又は G、好ましくは、S 又は N であり；X<sub>3</sub>は、G 又は S であり；X<sub>4</sub>は、G、N 又は S、好ましくは、G 又は N であり；X<sub>5</sub>は、T 又は A

50

、好ましくは、Tであり、配列は、ImMunoGeneTics（IMGT）の命名法によって定義されることを特徴とする、それぞれがフレームワーク（FW）領域に隣接する、CDR：HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む可変重鎖（VH）ドメインを含む、PD-L1に特異的に結合することができる抗体又はその抗原結合フラグメント。

#### 【0107】

2A. HCDR2の配列X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>（配列番号4）（残基62～65）が、SGGT（配列番号5）、NSNT（配列番号6）、GGST（配列番号7）及びSGNA（配列番号8）（IMGT命名法）から選択される、項1Aに記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

#### 【0108】

3A. HCDR2のX<sub>1</sub>がPであり、X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>がSGGT（配列番号5）（IMGT命名法）である、項1A又は2Aに記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

#### 【0109】

4A.

(a) 可変軽鎖（VL）がカッパVLであり、LCDR1のアミノ酸配列が、QSIX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>R（配列番号70）であり；LCDR2のアミノ酸配列が、EAS（配列番号71）であり；LCDR3のアミノ酸配列が、QQX<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>TPY<sub>T</sub>（配列番号72）、QQX<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>TPRV<sub>T</sub>（配列番号73）、QQX<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>FPRVS（配列番号74）、又はQQX<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>WPR<sub>T</sub>（配列番号75）であり；ここで、X<sub>6</sub>は、G又はSであり；X<sub>7</sub>は、N又はGであり；X<sub>8</sub>は、S又はAであり；X<sub>9</sub>は、Y又はNであり；X<sub>10</sub>は、S又はTであること；又は

(b) VLがラムダVLであり、LCDR1のアミノ酸配列が、SSDVGGYNX<sub>11</sub>（配列番号76）であり；LCDR2のアミノ酸配列が、EV<sub>T</sub>（配列番号77）であり；LCDR3のアミノ酸配列が、SSFKRGSTLVV（配列番号14）であり；ここで、X<sub>11</sub>は、Y又はSであり；配列は、IMGTの命名法によって定義されることを特徴とする、LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含むVLドメインを含む、項1Aから3Aのいずれか1項に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント。

#### 【0110】

5A.

(a) 抗体G1AA/E12v2のCDR；

(b) 抗体G1AA/G12v2のCDR；

(c) 抗体G1AA/E05v2のCDR；

(d) 抗体G1/887\_04\_E12のCDR；

(e) 抗体G1/887\_04\_G12のCDR；

(f) 抗体G1/894\_08\_E05のCDR；

(g) 抗体G1/894\_08\_A05のCDR；

(h) 抗体G1AA/lambdav3のCDR；又は

(i) 抗体G1/280\_02\_G02\_NSのCDR；

(j) 抗体G1/280\_02\_G02のCDR；

を含む抗原結合部位を含み、ここで配列は、ImMunoGeneTics（IMGT）の番号付けスキームに従って定義される、項1Aから4Aのいずれか1項に記載の抗体、その抗原結合フラグメント。

#### 【0111】

モノクローナル抗体及び他の抗体で、組換えDNA技術の技法を使用して、元の抗体の特異性を一般的に保持する他の抗体又はキメラ分子を产生することができる。そのような技術は、CDRを異なる免疫グロブリンフレームワークに導入すること、又は可変領域を異なる免疫グロブリン定常領域に移植することを含み得る。ある免疫グロブリンのCDRの別の免疫グロブリンへの導入は、例えば、欧州特許出願公開第A-184187号、英国特許出願公開第2188638A号、又は欧州特許出願公開第A-239400号に記載されている。或いは、抗体分子を产生するハイブリドーマ又は他の細胞は、遺伝子変異

10

20

30

40

50

又は他の変化を受け得、これは、產生される抗体の結合特異性を変化させる場合も、変化させない場合もある。

【 0 1 1 2 】

抗体は多くの方法で修飾できるため、「抗体」という用語は、抗体フラグメント、誘導体、機能的同等物、及び抗体の相同体をカバーすると解釈されるべきであり、これは、天然であるか、又は全体的若しくは部分的に合成であるかにかかわらず、免疫グロブリン結合ドメインを含む任意のポリペプチドを含む。したがって、別のポリペプチドに融合された免疫グロブリン結合ドメイン又は同等物を含むキメラ分子が含まれる。キメラ抗体のクローニング及び発現は、欧洲特許出願公開第 A - 0 1 2 0 6 9 4 号及び欧洲特許出願公開第 A - 0 1 2 5 0 2 3 号に記載されている。

10

【 0 1 1 3 】

C D R 配列及びC H 3 ドメインの両方を含む抗体フラグメントの例は、C H 3 ドメインに連結された s c F v を含むミニボディである (Hu et al., 1996)。

【 0 1 1 4 】

本発明の抗体又は抗原結合フラグメントは、P D - L 1 、特にヒト P D - L 1 に結合する。この文脈での結合は、特定の結合を指し得る。「特異的」という用語は、抗体分子がその特異的結合パートナー（ここでは P D - L 1 ）以外の分子への有意な結合を示さない状況を指し得る。「特異的」という用語は、抗体分子が、P D - L 1 上のエピトープなどの、いくつかの抗原によって運ばれる特定のエピトープに特異的である場合にも適用でき、この場合、抗体分子は、エピトープを運ぶ様々な抗原に結合できる。

20

【 0 1 1 5 】

アミノ酸は、1文字若しくは3文字のコード、又はフルネームで呼ばれ得る。20個の標準アミノ酸のそれぞれの1文字と3文字のコード、及びフルネームを以下に示す。

【 0 1 1 6 】

30

40

50

【表 1 - 1】

アミノ酸	1 文字のコード	3 文字のコード	
アラニン	A	Ala	
アルギニン	R	Arg	
アスパラギン	N	Asn	
アスパラギン酸	D	Asp	10
システイン	C	Cys	
グルタミン酸	E	Glu	
グルタミン	Q	Gln	
グリシン	G	Gly	
ヒスチジン	H	His	
イソロイシン	I	Ile	20
ロイシン	L	Leu	
リジン	K	Lys	
メチオニン	M	Met	
フェニルアラニン	F	Phe	
プロリン	P	Pro	
セリン	S	Ser	30
スレオニン	T	Thr	
トリプトファン	W	Trp	
チロシン	Y	Tyr	
バリン	V	Val	
アミノ酸、1 文字及び 3 文字のコード			40

【0117】

好ましい実施形態において、本発明の P D - L 1 抗体は、E 1 2 v 2 の H C D R 3 配列（配列番号 3）を含み；抗体が E 1 2 v 2 の H C D R 2 配列（配列番号 18）をさらに含むことが好ましく；本発明の P D - L 1 抗体が E 1 2 v 2 の H C D R 1 配列（配列番号 1）をさらに含むことが好ましい。好ましい実施形態において、H C D R 2 配列は、E 1 2 v 2 の H C D R 2 配列（配列番号 18）であり、V H (Kabat) における 28 位のアミノ酸は、プロリンである。特に好ましい実施形態において、本発明の P D - L 1 抗体は、配列番号 3 の H C D R 3 配列、配列番号 18 の H C D R 2 配列を含み、V H (Kabat) における 28 位のアミノ酸は、プロリンである。より特に好ましい実施形態において、本発明

の P D - L 1 抗体は、配列番号 3 の H C D R 3 配列、配列番号 1 8 の H C D R 2 配列、及び配列番号 1 の H C D R 1 配列を含み、V H (Kabat) における 2 8 位のアミノ酸は、プロリンである。

**【 0 1 1 8 】**

本発明の抗体は、抗体の機能的特性が保持されるという条件で、V H 及び / 又は V L 配列における 1 つ以上、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9 又は 10 個のさらなるアミノ酸修飾を含み得る。

**【 0 1 1 9 】**

修飾は、アミノ酸の置換、欠失又は挿入であり得る。好ましくは、修飾は置換である。

**【 0 1 2 0 】**

1 つ以上のアミノ酸が別のアミノ酸で置換されている好ましい実施形態において、置換は、例えば以下のチャートに従う、保存的置換であり得る。いくつかの実施形態において、中央の列の同じカテゴリーのアミノ酸は、互いに置換されており、すなわち、非極性アミノ酸は、例えば、別の非極性アミノ酸で置換されている。いくつかの実施形態において、右端の列の同じ行のアミノ酸が互いに置換されている。

**【 0 1 2 1 】**

**【表 1 - 2】**

脂肪族	無極性	G A P
		I L V
	極性-無電荷	C S T M
		N Q
	極性-荷電	D E
		K R
芳香族		H F W Y

**【 0 1 2 2 】**

いくつかの実施形態において、置換は、機能的に保存的であり得る。すなわち、いくつかの実施形態において、置換は、同等の非置換抗体分子と比較して、置換を含む抗体分子の 1 つ以上の機能的特性（例えば、結合親和性）に影響を与えない（又は実質的に影響を与えない）可能性がある。

**【 0 1 2 3 】**

好ましい実施形態において、本発明の P D - L 1 抗体は、本明細書に記載の本発明の V H 及び / 又は V L 配列と比較して、1 つ以上のアミノ酸配列変更（アミノ酸残基の付加、欠失、置換及び / 又は挿入）、好ましくは、2 0 個以下の変更、1 5 個以下の変更、1 0 個以下の変更、5 個以下の変更、4 個以下の変更、3 個以下の変更、2 個以下の変更、又は 1 つの変更を伴う、V H 及び / 又は V L ドメイン配列を含み得る。

**【 0 1 2 4 】**

好ましい実施形態において、本発明の抗体は、配列番号 3 に記載の E 1 2 v 2 の H C D R 3 ドメインを含む。

**【 0 1 2 5 】**

別の好ましい実施形態において、本発明の抗体は、配列番号 2 7 に記載の E 1 2 v 2 の V H ドメイン、又は配列番号 2 7 に記載の配列に対して少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、又は少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する V H ドメインを含む。

**【 0 1 2 6 】**

好ましい実施形態において、本発明の抗体は、配列番号 3 に記載の H C D R 3 を含む V H ドメインを含み、V H ドメインは、配列番号 2 7 に記載の配列に対して少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少な

10

20

30

40

50

くとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、又は少なくとも 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する。

#### 【0127】

好ましい実施形態において、本発明の抗体は、配列番号 3 に記載の E 1 2 v 2 の H C D R 3、及び配列番号 1 8、2 3 又は 2 4 に記載のものから選択される H C D R 2 を含む V H ドメインを含み、V H ドメインは、配列番号 2 7 に記載の配列に対して少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、又は少なくとも 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する。

#### 【0128】

好ましい実施形態において、本発明の抗体は、配列番号 3 に記載の E 1 2 v 2 の H C D R 3、配列番号 1 8、2 3 又は 2 4 に記載のものから選択される H C D R 2 ドメイン、2 8 位のプロリン、を含む V H ドメインを含み、V H ドメインは、配列番号 2 7 に記載の配列に対して少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、又は少なくとも 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する。

10

#### 【0129】

好ましい実施形態において、本発明の抗体は、配列番号 2 8 に記載の E 1 2 v 2 の V L ドメイン、又は配列番号 2 8 に記載の配列に対して少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、又は少なくとも 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L ドメインを含む。

20

#### 【0130】

配列同一性は、一般的に、アルゴリズム G A P (Wisconsin GCG パッケージ、Accelerys Inc、米国サンディエゴ (San Diego USA) ) を参照して定義される。G A P は、NeedlemanとWunschのアルゴリズムを使用して、2つの完全配列を整列させ、一致の数を最大化し、ギャップの数を最小化する。一般的に、ギャップ生成ペナルティが 1 2 に等しく、ギャップ拡張ペナルティが 4 に等しいデフォルトのパラメーターが使用される。G A P の使用が好ましい場合もあるが、他のアルゴリズム、例えば、B L A S T (Altschul et al.(1990) J. Mol.Biol.215:405-410 の方法を使用)、F A S T A (Pearson and Lipman (1988) PNAS USA 85:2444-2448 の方法を使用)、又は Smith-Waterman アルゴリズム (Smith and Waterman(1981) J. Mol Biol.147:195-197)、又は上掲 Altschul et al.(1990) の T B L A S T N プログラムも、一般的にデフォルトパラメーターを使用して用いられ得る。特に、psi-Blast アルゴリズム (Nucl.Acids Res.(1997) 25 33 89-3402) が使用され得る。配列同一性は、Bioedit、ClustalW アルゴリズムを使用して定義され得る。

30

#### 【0131】

抗体は C H 2 ドメインを含み得る。C H 2 ドメインは、ヒト I g G 分子の場合のように、好ましくは C H 3 ドメインの N 末端に位置する。抗体の C H 2 ドメインは、好ましくは、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、又は I g G 4 の C H 2 ドメイン、より好ましくは、ヒト I g G 1 の C H 2 ドメインである。ヒト I g G ドメインの配列は当技術分野で公知である。

40

#### 【0132】

抗体は、C H 2 ドメインの N 末端に免疫グロブリンヒンジ領域又はその一部を含み得る。免疫グロブリンヒンジ領域は、2つの C H 2 - C H 3 ドメイン配列が会合して二量体を形成することを可能にする。好ましくは、ヒンジ領域又はその一部は、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3 若しくは I g G 4 ヒンジ領域、又はその一部である。より好ましくは、ヒンジ領域又はその一部は、I g G 1 ヒンジ領域又はその一部である。

#### 【0133】

C H 3 ドメインの配列は特に限定されない。好ましくは、C H 3 ドメインは、ヒト I g

50

G 1、IgG 2、IgG 3、又は IgG 4 CH 3 ドメインなどのヒト免疫グロブリン G ドメイン、最も好ましくは、ヒト IgG 1 CH 3 ドメインである。

【0134】

本発明の抗体は、ヒト IgG 1、IgG 2、IgG 3、又は IgG 4 定常領域を含み得る。ヒト IgG 1、IgG 2、IgG 3、又は IgG 4 CH 3 ドメインの配列は、当技術分野で公知である。

【0135】

抗体分子の重鎖は、任意選択により、重鎖 CH 3 ドメイン配列の C 末端に追加のリジン残基 (K) を含み得る。

【0136】

免疫グロブリンは、個別のドメインを含むモジュラーアーキテクチャを有することが知られており、これを多数の異なる方法で組み合わせて、多重特異性、例えば、二重特異性、三重特異性、又は四重特異性抗体形式を作製することができる。例示的な多重特異性抗体形式は、例えば、Spiess et al., 2015 及び Kontermann, 2012 に記載されている。本発明の抗体は、そのような多重特異性形式で使用され得る。

10

【0137】

例えば、本発明の抗体は、ヘテロ二量体完全免疫グロブリン分子などのヘテロ二量体抗体分子、又はそのフラグメントであり得る。この場合、抗体の一部は、本明細書に記載されるような配列を有するであろう。例えば、本発明の抗体が二重特異性ヘテロ二量体抗体分子である場合、抗体は、PD-L1 以外の抗原を結合する VH ドメイン及び VL ドメインをそれぞれ含む重鎖及び軽鎖と対になっている、本明細書に記載の重鎖及び軽鎖を含み得る。ヘテロ二量体抗体を調製するための技術は、当技術分野で知られており、抗体分子の CH 3 ドメインを操作して「ノブ」又は「ホール」のいずれかを作製して鎖ヘテロ二量体化を促進することを含むノブ・イントゥ・ホール (KIH) 技術を含む。或いは、静電反発力による CH 3 ドメインのホモ二量体化を回避し、静電引力によるヘテロ二量体化に向けるために、抗体分子に電荷対を導入することによってヘテロ二量体抗体を調製することができる。ヘテロ二量体抗体形式の例には、CrossMab、mAb-Fv、SEED-body、及び KIH IgG が含まれる。

20

【0138】

或いは、多重特異性抗体分子は、完全免疫グロブリン分子又はそのフラグメント、及び 1 つ又は複数の追加の抗原結合部位を含み得る。抗原結合部位は、例えば、Fv、scFv 又は単一ドメイン抗体であり得、完全免疫グロブリン分子又はそのフラグメントに融合され得る。完全免疫グロブリン分子に融合した追加の抗原結合部位を含む多重特異性抗体分子の例には、DVD-IgG、DVI-IgG、scFv4-IgG、IgG-scFv、及び scFv-IgG 分子が含まれる (Spiess et al., 2015; 図 1)。免疫グロブリンフラグメントに融合した追加の抗原結合部位を含む多重特異性抗体分子の例には、例えば、BiTE 分子、ダイアボディ、及び DART 分子が含まれる (Spiess et al., 2015; 図 1)。他の適切な形式は、当業者には容易に明らかであろう。

30

【0139】

CDR ベースの PD-L1 結合部位に加えて、例えば、抗体の VH において、抗体は、二重又は多重特異性分子を作製するために、1 つ以上の追加の抗原結合部位をさらに含み得る。抗体は、CH 3 ベース又は CH 2 ベースの抗原結合部位を含み得る。CDR ベースの抗原結合部位は、天然に存在する免疫グロブリン分子に見出され、それらの構造は当技術分野で周知である。抗体又はその抗原結合フラグメントが CDR ベースの抗原結合部位を含む場合、抗体又はその抗原結合フラグメントは、好ましくは抗体分子である。二重特異性又は多重特異性抗体分子は、PD-L1 の CDR ベースの抗原結合部位、及び第 2 の標的の CH 3 ベース又は CH 2 ベースの結合部位を含み得る。好ましい実施形態において、抗体分子は、ヒト IgG 1、IgG 2、IgG 3 又は IgG 4 分子などのヒト免疫グロブリン G 分子、より好ましくはヒト IgG 1 分子である。

40

【0140】

50

任意選択により、本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントは、抗体の定常ドメイン、好ましくはCH3又はCH2に位置する、第2の抗原結合部位を有し得る。

#### 【0141】

或いは、又はさらに、本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントは、第2又は第3の標的抗原のためのさらなるCDRベースの抗原結合部位（例えば、VH及びVLによって形成される）を含み得る。したがって、本発明による抗体分子又はその抗原結合フラグメントは、第2の抗原結合部位を含む多重特異性、好ましくは二重特異性の分子であり得る。

#### 【0142】

第2の抗原結合部位は、存在する場合、CH3ベース若しくはCH2ベースの抗原結合部位又はCDRベースの抗原結合部位であり得、前記抗原の結合が癌の処置において有益であると予想されるように抗原に結合し得る。

10

#### 【0143】

抗体分子は、mAb<sup>2</sup>(TM)二重特異性抗体であり得る。本明細書で言及されるmAb<sup>2</sup>二重特異性抗体は、その可変領域のそれぞれにCDRベースの抗原結合部位、及び抗体分子の定常ドメインに少なくとも1つの抗原結合部位を含む、IgG免疫グロブリンである。

#### 【0144】

一実施形態において、抗体又はその抗原結合フラグメントが第2の抗原結合部位、例えば、CH3ベース、CH2ベース、又はCDRベースの抗原結合部位を含む場合、第2の抗原結合部位は、CTLA-4、LAG-3、TIGIT、TIM-3、VISTA、CD73、CSF-1R、KIR、B7-H3、B7-H4、2B4、NKG2A、CD47、SIRPa、BTLA、CCR4、CD200R、又はTGFベータなどの、非冗長且つ相補的な阻害チェックポイント分子に結合し得る。

20

#### 【0145】

PD-1/PD-L1軸の阻害及び共刺激分子の刺激は、ヒト患者の免疫応答を増強するための補完的な戦略を表す。チェックポイント遮断を通じたT細胞枯渇の逆転により、これらの細胞がより強力に活性化され、完全な抗腫瘍活性を発現し得る。したがって、別の実施形態において、本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントは、第2の抗原結合部位、例えば、CH3ベース、CH2ベース、又はCDRベースの抗原結合部位を含み得、第2の抗原結合部位は、OX40、ICOS、CD40、HVEM、NKG2D、又はTNFR2などのT細胞によって発現される共刺激分子に結合し、その共刺激分子のアゴニストであり得る。

30

#### 【0146】

さらなる実施形態において、本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントは、第2の抗原結合部位、例えば、CH3ベース、CH2ベース、又はCDRベースの抗原結合部位を含み得、第2の抗原結合部位は、腫瘍関連抗原(TAA)に結合し得る。このような抗体又はその抗原結合フラグメントは、局所的な免疫活性化を通じて腫瘍特異的T細胞応答をもたらすと期待される。TAAの例は、c-Met、B7-H3、B7-H4、EGFR、HER-2、EPCAM、CEACAM、FAP、VEGF、MSLN、GPC3、CD38、CD19、及びCD20である。

30

#### 【0147】

上で詳述したように、感染症は、腫瘍学と多くの類似点を示す。免疫調節におけるPD-L1の役割は、病原体に対する免疫応答を最大化するために利用され得る。感染症の処置における免疫調節は医学の新たな分野であり、初期のレビューでは、PD-L1遮断が、感染に対する生物学的反応を改善し、特に、T細胞の枯渇への対抗を助け、免疫介在性クリアランスを管理し、長期免疫を生成し得ることが示唆されている(Wykes and Lewin, 2017)。

40

#### 【0148】

いくつかの感染症において、過剰な炎症誘発性反応及び最適以下の抗原特異的T細胞活性が、重度の組織損傷の原因である(Rao et al., 2017)。理論に拘束されることを望むものではないが、第2の抗原結合部位を含む本発明の抗体又はその抗原結合フラグメント

50

の使用は、病原体環境に有益な免疫調節活性を局在化することによってこれらの疾患の処置における用途が見出され得ると考えられる。

**【 0 1 4 9 】**

或いは、アゴニスト作用又はアンタゴニスト作用のいずれかのために免疫細胞標的に結合する第2の抗原結合部位を含む本発明の抗体又はその抗原結合フラグメントの使用は、T細胞特異性及び活性の増加をもたらし得る。

**【 0 1 5 0 】**

したがって、一実施形態において、抗体又はその抗原結合フラグメントが第2の抗原結合部位を含む場合、第2の抗原結合部位は、PD-1、PD-L2、CTLA-4、LAG-3、TIM3、OX40、CD40、ICOS、CD28、又はCD80などの免疫細胞標的に結合し得る。 10

**【 0 1 5 1 】**

或いは、抗体又はその抗原結合フラグメントが第2の抗原結合部位を含む場合、第2の抗原結合部位は、病原性標的、すなわち、ヒト病原体によって発現される抗原に結合し得る。病原体は、ウイルス、細菌、真菌、又は寄生虫であり得る。好ましくは、病原体は、ウイルス、細菌又は真菌である。より好ましくは、病原体はウイルス又は細菌である。最も好ましくは、病原体はウイルスである。ウイルス抗原の例には、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)によって発現されるタンパク質p24、gp120、及びgp41、B型肝炎ウイルス(HBV)によって発現されるB型肝炎表面抗原(HBsAg)、並びにインフルエンザウイルスによって発現される血球凝集素及びノイラミニダーゼが含まれる。細菌性抗原の例には、結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*)によって発現されるRv1733、Rv2389及びRv2435nが含まれる。 20

**【 0 1 5 2 】**

いくつかの実施形態において、本発明の抗体の第2の抗原結合部位は、OX40に結合しない可能性がある。さらに、又は或いは、本発明の抗体の第2の抗原結合部位は、CD137に結合しない可能性がある。さらに、又は或いは、本発明の抗体の第2の抗原結合部位は、CD27に結合しない可能性がある。さらに、又は或いは、本発明の抗体の第2の抗原結合部位は、糖質コルチコイド誘導性TNFR関連タンパク質(GITR)に結合しない可能性がある。さらに、又は或いは、本発明の抗体の第2の抗原結合部位は、リンパ球活性化遺伝子3(LAG-3)に結合しない可能性がある。さらに、又は或いは、本発明の抗体の第2の抗原結合部位は、誘導性T細胞共刺激因子(ICOS)に結合しない可能性がある。 30

**【 0 1 5 3 】**

本発明の抗体は、免疫系モジュレーター、細胞傷害性分子、放射性同位体又は検出可能な標識にコンジュゲートされ得る。免疫系モジュレーターは、サイトカインなどの細胞傷害性分子であり得る。

**【 0 1 5 4 】**

抗体分子は、生物活性分子又は検出可能な標識にコンジュゲートされ得る。この場合、抗体分子はコンジュゲートと呼ばれ得る。そのようなコンジュゲートにより、本明細書に記載されるような疾患の処置及び/又は診断における用途が見出される。 40

**【 0 1 5 5 】**

例えば、生物活性分子は、サイトカイン、好ましくはヒトサイトカインなどの免疫系モジュレーターであり得る。例えば、サイトカインは、T細胞の活性化及び/又は増殖を刺激するサイトカインであり得る。抗体分子にコンジュゲートするためのサイトカインの例には、IL-2、IL-10、IL-12、IL-15、IL-21、GM-CSF及びIFN-ガンマが含まれる。

**【 0 1 5 6 】**

或いは、生物活性分子は、サイトカイン、例えば、TGF-ベータ又はIL-6のリガンドトラップなどの、リガンドトラップであり得る。

**【 0 1 5 7 】**

10

20

30

40

50

抗体分子にコンジュゲートされ得る適切な検出可能な標識は当技術分野で公知であり、ヨウ素125、ヨウ素131、イットリウム90、インジウム111、テクネチウム99などの放射性同位体；フルオレセイン、ローダミン、フィコエリトリン、テキサスレッド(Texas Red)並びにシアニン色素誘導体(例えば、Cy7及びAlexa750)などの、蛍光色素；ジアミノベンジンなどの発色色素；ラテックスビーズ；西洋ワサビペルオキシダーゼなどの酵素標識；スペクトル的に分離された吸収又は発光特性を備えた蛍光体又はレーザー色素；並びに特定の同族の検出可能部分(例えば、標識されたアビシン)への結合を介して検出され得る、ビオチンなどの化学部分を含む。

#### 【0158】

本発明の抗体は、ジスルフィド又はペプチド結合などの任意の適切な共有結合又は非共有結合によって、生物活性分子又は検出可能な標識にコンジュゲートされ得る。生物活性分子がサイトカインである場合、サイトカインは、ペプチドリンカーによって抗体分子に結合され得る。適切なペプチドリンカーは当技術分野で公知であり、長さは5から25アミノ酸、5から20アミノ酸、5から15アミノ酸、10から25アミノ酸、10から20アミノ酸、又は10から15アミノ酸であり得る。

10

#### 【0159】

いくつかの実施形態において、生物活性分子は、切断可能なリンカーによって抗体にコンジュゲートされ得る。リンカーは、治療部位での抗体からの生物活性分子の放出を可能にし得る。リンカーには、アミド結合(例えば、ペプチドリンカー)、ジスルフィド結合、又はヒドラゾンが含まれ得る。例えば、ペプチドリンカーは部位特異的プロテアーゼによって切断され得、ジスルフィド結合は細胞質ゾルの還元環境によって切断され得、ヒドラゾンは酸媒介性加水分解によって切断され得る。

20

#### 【0160】

コンジュゲートは、本発明の抗体と、生物活性分子とを含む融合タンパク質であり得る。この場合、生物活性分子は、ペプチドリンカー又はペプチド結合によって抗体にコンジュゲートされ得る。抗体が多鎖分子である場合、例えば、抗体分子がFcabであるか、若しくはFcabを含む場合、又はmAb<sup>2</sup>である場合、生物活性分子は、抗体分子の1つ以上の鎖にコンジュゲートされ得る。例えば、生物活性分子は、mAb<sup>2</sup>分子の重鎖の一方又は両方にコンジュゲートされ得る。融合タンパク質には、產生及び精製が容易であるという利点があり、臨床グレードの材料の產生が容易になる。

30

#### 【0161】

本発明はまた、本発明の抗体又は抗原結合フラグメントをコードする核酸又は核酸のセット、及びそのような核酸又は核酸のセットを含むベクターを提供する。

#### 【0162】

核酸が本発明の抗体分子のVH及びVLドメイン、又は重鎖及び軽鎖をコードする場合、2つのドメイン又は鎖は、2つの別個の核酸分子上にコードされ得る。

#### 【0163】

単離された核酸分子を使用して、本発明の抗体分子を発現させ得る。核酸は、一般的に、発現のための組換えベクターの形態で提供される。したがって、本発明の別の態様は、上記のような核酸を含むベクターを提供する。プロモーター配列、転写終結フラグメント、ポリアデニル化配列、エンハンサー配列、マーカー遺伝子及び必要に応じて他の配列を含む、適切な調節配列を含有する適切なベクターを選択又は構築することができる。好ましくは、ベクターは、宿主細胞における核酸の発現を駆動するための適切な調節配列を含む。ベクターは、必要に応じて、プラスミド、ウイルス性、例えば、ファージ、又はファージミドであり得る。

40

#### 【0164】

本明細書に記載の核酸分子又はベクターは、宿主細胞に導入され得る。核酸又はベクターを宿主細胞に導入するための技術は、当技術分野で十分に確立されており、任意の適切な技術が使用され得る。組換え抗体分子の產生に適した様々な宿主細胞が当技術分野で公知であり、細菌、酵母、昆虫又は哺乳動物の宿主細胞が含まれる。好ましい宿主細胞は、

50

C H O 、 N S 0 、又は H E K 細胞などの哺乳動物細胞、例えば、 H E K 2 9 3 細胞である。

【 0 1 6 5 】

本発明の核酸又はベクターを含む組換え宿主細胞も提供される。本発明の抗体を產生するためには、そのような組換え宿主細胞が使用され得る。したがって、本発明の抗体を產生する方法も提供され、この方法は、抗体の產生に適した条件下で組換え宿主細胞を培養することを含む。この方法は、抗体分子を単離及び／又は精製するステップをさらに含み得る。

【 0 1 6 6 】

したがって、本発明は、宿主細胞において抗体分子をコードする核酸を発現すること、及び任意選択により、そのように產生された抗体分子を単離及び／又は精製することを含む、本発明の抗体分子を產生する方法を提供する。宿主細胞を培養するための方法は、当技術分野で周知である。組換え抗体分子を精製するための技術は当技術分野で周知であり、例えば、H P L C 、 F P L C 又はアフィニティクロマトグラフィー（例えばプロテイン A 又はプロテイン L を使用するもの）が含まれる。いくつかの実施形態において、精製は、抗体分子上のアフィニティータグを使用して実施され得る。方法はまた、抗体分子を、任意選択により、薬学的に許容される賦形剤又は以下に記載される他の物質とともに、医薬組成物へと製剤化することを含み得る。

10

【 0 1 6 7 】

本発明の抗体は、処置用途、特に、癌の処置及び感染症の処置などのヒトにおける処置用途で用途を見出すことが期待される。したがって、本発明による抗体分子を含む医薬組成物などの組成物、及び薬学的に許容される賦形剤などの賦形剤も提供される。

20

【 0 1 6 8 】

本発明はさらに、処置方法における使用のための本発明の抗体分子を提供する。患者を処置する方法も提供され、この方法は、治療有効量の本発明による抗体分子を患者に投与することを含む。さらに、医薬の製造における使用のための本発明による抗体分子の使用が提供される。本明細書で言及される場合、患者は、好ましくはヒト患者である。

【 0 1 6 9 】

本発明はまた、患者の癌を処置する方法における使用のための本発明の抗体分子を提供する。患者の癌を処置する方法も提供され、この方法は、治療有効量の本発明による抗体分子を患者に投与することを含む。さらに、患者の癌を処置するための医薬の製造における使用のための本発明による抗体分子の使用が提供される。処置は、第 2 の抗癌剤及び／又は処置（抗腫瘍ワクチン及び／又は化学療法剤など）を患者に投与することをさらに含み得る。第 2 の抗癌剤及び／又は治療は、本発明の抗体分子と同時に、別々に、又は連続して、患者に投与され得る。

30

【 0 1 7 0 】

別の態様において、本発明は、

- a ) 癌の処置、 b ) 癌の進行の遅延、 c ) 癌に罹患している患者の生存期間の延長、又は d ) 細胞媒介性免疫応答の刺激

における使用のための、 P D - L 1 に結合する抗体に関する。

【 0 1 7 1 】

本発明はまた、患者の感染症を処置する方法における使用のための本発明の抗体を提供する。患者の感染症を処置する方法も提供され、この方法は、治療有効量の本発明による抗体を患者に投与することを含む。さらに、患者の感染症を処置するための医薬の製造における使用のための本発明による抗体の使用が提供される。処置は、感染症の処置のための第 2 の薬剤及び／又は治療を患者に投与することをさらに含み得る。第 2 の薬剤及び／又は治療法は、本発明の抗体又はその抗原結合フラグメント又は抗体分子と同時に、別々に、又は連続して、患者に投与され得る。

40

【 0 1 7 2 】

したがって、本明細書に記載の抗体分子は、治療用途、特に癌の処置に有用であり得る。さらに、抗体分子は、持続性感染症などの感染症の処置に有用であることが期待される。

50

本明細書に記載の抗体分子は、ヒト又は動物の体の処置方法において使用され得る。本発明の関連する態様は、

( i ) 医薬としての使用のための本明細書に記載の抗体分子、  
( i i ) 疾患又は障害の処置方法における使用のための本明細書に記載の抗体分子、  
( i i i ) 疾患又は障害の処置における使用のための医薬品の製造における本明細書に記載の抗体分子の使用；及び  
( i v ) 個体の疾患又は障害の処置方法であって、本明細書に記載の治療有効量の抗体分子を個体に投与することを含む方法  
を提供する。

【 0 1 7 3 】

10

個体は、患者、好ましくはヒト患者であり得る。

【 0 1 7 4 】

処置は、何らかの所望の治療効果、例えば、状態の進行の阻害又は遅延など、が達成される任意の処置又は治療であり得、進行速度の低下、進行速度の停止、状態の改善、状態の治癒又は寛解（部分的又は全体的）、1つ以上の症状及び／又は状態の兆候を予防、改善、遅延、軽減、若しくは阻止すること、又は個体若しくは患者の生存期間を処置の不存在時に予想される期間を超えて延長することを含む。

【 0 1 7 5 】

予防的手段（すなわち、予防法）としての処置も含まれる。例えば、癌などの疾患の発生又は再発の影響を受けやすい、又はそのリスクがある個体は、本明細書に記載されるように処置され得る。そのような処置は、個体における疾患の発生又は再発を予防又は遅延させ得る。

20

【 0 1 7 6 】

記載されているような処置方法は、抗体分子に加えて、少なくとも1つのさらなる処置を個体に投与することを含み得る。したがって、本明細書に記載の抗体分子は、単独で、又は1つ以上の他の処置と組み合わせて、個体に投与され得る。抗体分子が別の処置と組み合わせて個体に投与される場合、追加の処置は、抗体分子の投与と同時に、連続的に、又は別個に個体に投与され得る。追加の処置が抗体分子と同時に投与される場合、抗体分子及び追加の処置は、組み合わせた調製物として個体に投与され得る。例えば、追加の治療は、処置される疾患に対する既知の治療又は治療剤であり得る。

30

【 0 1 7 7 】

抗体分子は単独で投与され得るが、抗体分子は通常、抗体分子に加えて少なくとも1つの成分を含み得る医薬組成物の形態で投与される。したがって、本発明の別の態様は、本明細書に記載の抗体分子を含む医薬組成物を提供する。抗体分子を医薬組成物に製剤化することを含む方法も提供される。

【 0 1 7 8 】

医薬組成物は、抗体分子に加えて、薬学的に許容される賦形剤、担体、緩衝剤、安定剤、又は当業者に周知の他の材料を含み得る。本明細書で使用される「薬学的に許容される」という用語は、健全な医学的判断の範囲内で、合理的な利益／リスク比に見合った、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、又はその他の問題若しくは合併症のない、対象（例えば、ヒト）の組織と接触して使用するのに適した、化合物、材料、組成物、及び／又は剤形に関する。各担体、賦形剤などもまた、製剤の他の成分と適合性があるという意味で「許容可能」でなければならない。担体又は他の材料の正確な性質は、投与経路に依存し、これは、以下で論じられるように、注入、注射、又は他の適切な経路によるものであり得る。

40

【 0 1 7 9 】

非経口、例えば皮下又は静脈内投与（例えば、注射による）の場合、抗体分子を含む医薬組成物は、発熱物質を含まず、適切なpH、等張性及び安定性を備えた、非経口的に許容される水溶液の形態であり得る。関連技術を有する当業者は、例えば、塩化ナトリウム注射、リンガー注射、乳酸リンガー注射などの等張性ビヒクルを使用して、適切な溶液を

50

調製することが十分に可能である。リン酸、クエン酸及びその他の有機酸などの緩衝剤；アスコルビン酸及びメチオニンなどの酸化防止剤；保存剤（塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル、又はベンジルアルコール；メチル又はプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3'-ペントノール；及びm-クレゾール）；低分子量ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、又はリジンなどのアミノ酸；単糖、二糖、及びグルコース、マンノース、デキストリを含む他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；ショ糖、マンニトール、トレハロース又はソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質複合体）；及び／又はTween（商標）、PLURONICS（商標）又はポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン性界面活性剤を含む、保存剤、安定剤、緩衝剤、酸化防止剤及び／又は他の添加剤を必要に応じて使用してもよい。

#### 【0180】

いくつかの実施形態において、抗体分子は、投与前に再構成するために凍結乾燥形態で提供され得る。例えば、凍結乾燥された抗体分子は、個体に投与する前に、滅菌水又は生理食塩水で再構成され得る。

#### 【0181】

投与は「治療有効量」であり得、これは個体への利点を示すのに十分である。実際に投与される量、並びに投与の速度及び時間経過は、処置される対象の性質及び重症度、処置される特定の個体、個体の臨床状態、障害の原因、組成物の送達部位、抗体分子のタイプ、投与方法、投与のスケジュール、並びに医師に知られている他の要因に依存する。処置の処方、例えば、投与量の決定などは、一般医及び他の医師の責任の範囲内であり、症状の重症度及び／又は処置されている疾患の進行に依存し得る。抗体分子の適切な用量は当技術分野で周知である（Ledermann et al., 1991; Bagshawe et al., 1991）。投与される抗体分子に対して適切な、本明細書又はPhysician's Desk Reference (2003)に示されている特定の投与量が使用され得る。抗体分子の治療有効量又は適切な用量は、動物モデルにおけるインピトロ活性及びインピボ活性を比較することによって決定することができる。マウス及び他の試験動物における有効投与量をヒトに外挿するための方法は公知である。正確な用量は、処置される領域のサイズ及び位置、並びに抗体分子の正確な性質を含む、多数の要因に依存する。

#### 【0182】

典型的な抗体用量は、全身投与の場合は100μgから1gの範囲であり、局所投与の場合は1μgから1mgの範囲である。最初により高い負荷用量、続いて1つ以上より低い用量が投与され得る。これは、成人個体の単回処置用の用量であり、比例的に小児及び乳児用に調整され得、分子量に比例して他の抗体形式にも調整できる。

#### 【0183】

処置は、医師の裁量により、毎日、週に2回、週に1回、又は月に1回繰り返され得る。個体の処置スケジュールは、抗体組成物の薬物動態学的及び薬力学的特性、投与経路、並びに処置される状態の性質に依存し得る。

#### 【0184】

処置は定期的であり得、投与間の期間は、約2週間以上、例えば、約3週間以上、約4週間以上、約月1回以上、約5週間以上、又は約6週間以上であってもよい。例えば、処置は2から4週間ごと、又は4から8週間ごとであり得る。適切な製剤及び投与経路は上に記載されている。

#### 【0185】

好ましい実施形態において、本明細書に記載の抗体分子は、癌の処置方法における使用のためのものであり得る。

#### 【0186】

10

20

30

40

50

癌は、悪性癌細胞の異常な増殖を特徴とし得る。乳癌などの特定の種類の癌に言及される場合、これは、乳房組織などの関連組織の悪性細胞の異常な増殖を指す。乳房に位置するが、卵巣組織などの別の組織の悪性細胞の異常増殖の結果である二次癌は、本明細書で言及されるような乳癌ではなく、卵巣癌である。

#### 【0187】

癌は、原発癌又は二次癌であり得る。したがって、本明細書に記載の抗体分子は、癌が原発性腫瘍及び／又は腫瘍転移である、個体の癌を処置する方法における使用のためのものであり得る。

#### 【0188】

本明細書に記載の抗体分子を使用して処置される癌の腫瘍は、例えばその細胞表面上に、P D - L 1 を発現する細胞を含み得る。一実施形態において、腫瘍は、P D - L 1 を発現する細胞を含むと決定されたものであってもよい。細胞表面上の抗原の発現を決定するための方法は当技術分野で公知であり、例えば、フローサイトメトリーを含む。

10

#### 【0189】

例えば、本明細書に記載の抗体分子を使用して処置される癌は、急性骨髓性白血病（A M L）、慢性骨髓性白血病（C M L）、急性リンパ芽球性白血病（A L L）及び慢性リンパ性白血病（C L L）などの白血病；ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫及び多発性骨髓腫などのリンパ腫；並びに肉腫（例えば、軟部肉腫）、皮膚癌（例えば、メルケル細胞癌）、黒色腫、膀胱癌（例えば、尿路上皮癌）脳腫瘍（多形神経膠芽腫）、乳癌、子宮／子宮内膜癌、卵巣癌（例えば、卵巣漿液性囊胞腺腫）、前立腺癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌（N S C L C）及び小細胞肺癌（S C L C））、結腸直腸癌（例えば、結腸直腸腺癌）、子宮頸癌（例えば、子宮頸扁平上皮癌及び子宮頸部腺癌）、肝癌（例えば、肝細胞癌）、頭頸部癌（例えば、頭頸部扁平上皮細胞癌）、食道癌、膵臓癌、腎癌（例えば、腎細胞癌）、副腎癌、胃癌（例えば、胃腺癌）、精巣癌、胆嚢及び胆道の癌（例えば、胆管細胞癌）、甲状腺癌、胸腺癌、骨癌、及び脳癌などの固形癌からなる群から選択され得る。

20

#### 【0190】

好みしい実施形態において、本明細書に記載の抗体分子を使用して処置される癌は、固形癌である。より好みしくは、本明細書に記載の抗体分子を使用して処置される癌は、肉腫、黒色腫、膀胱癌、脳癌、乳癌、卵巣癌、子宮／子宮内膜癌、前立腺癌、肺癌、結腸直腸癌、子宮頸癌、肝癌、頭頸部癌、膵臓癌、腎癌、胃癌からなる群から選択される固形癌である。

30

#### 【0191】

癌において、処置は、完全な癌の寛解を含む癌の成長の阻害、及び／又は癌の転移の阻害、及び癌の再発の阻害を含み得る。癌の増殖は、一般的に、癌内により発達した形態への変化を示す多数の指標のいずれかを指す。したがって、癌増殖の阻害を測定するための指標には、癌細胞の生存の低下、腫瘍の体積又は形態の減少（例えば、コンピューター断層撮影（C T）、超音波検査、又は他の画像化方法を使用して決定される）、腫瘍増殖の遅延、腫瘍血管系の破壊、遅延型過敏性皮膚検査のパフォーマンスの改善、抗癌免疫細胞又は他の抗癌免疫応答の活性の増加、及び腫瘍特異的抗原のレベルの減少が含まれる。個体の癌性腫瘍に対する免疫応答を活性化又は増強することにより、癌の増殖、特に対象にすでに存在する癌の増殖に抵抗する個体の能力を改善し、及び／又は個体の癌増殖の傾向を低下させ得る。

40

#### 【0192】

癌処置において、本明細書に記載の抗体分子は、問題の癌の処置に適切であることが示されているか、適切であると期待される抗癌療法又は治療剤などの、別の抗癌療法又は治療剤と組み合わせて、個体に投与され得る。例えば、抗体分子は、化学療法剤、放射線療法、免疫療法剤、抗腫瘍ワクチン、腫瘍溶解性ウイルス、養子細胞移植（A C T）療法（養子N K 細胞療法など）又はキメラ抗原受容体（C A R）、自己腫瘍浸潤リンパ球（T I L）、若しくはガンマ／デルタT細胞による治療、又はホルモン療法のための薬剤と組み

50

合わせて個体に投与され得る。

【0193】

理論に拘束されることを望むものではないが、本明細書に記載の抗体分子は、抗癌治療におけるアジュvantとして作用し得ると考えられる。具体的には、例えば、化学療法及び／又は放射線療法と組み合わせた、又は抗腫瘍ワクチンと組み合わせた、抗体分子の個体への投与は、化学療法及び／又は放射線療法、又は抗腫瘍ワクチン単独で達成されるよりも、癌に対してより大きな免疫応答を誘発すると考えられる。

【0194】

本明細書に記載されるような本発明の抗体と組み合わせた投与のための1つ以上の化学療法剤は、タキサン、細胞傷害性抗生物質、チロシンキナーゼ阻害剤、PARP阻害剤、B-Raf酵素阻害剤、MEK阻害剤、c-MET阻害剤、VEGFR阻害剤、PDGF阻害剤、アルキル化剤、プラチナ類似体、ヌクレオシド類似体、葉酸代謝拮抗剤、サリドマイド誘導体、抗悪性腫瘍化学療法剤などからなる群から選択され得る。タキサンは、ドセタキセル、パクリタキセル及びnab-パクリタキセルを含み；細胞傷害性抗生物質は、アクチノマイシン、ブレオマイシン、並びにドキソルビシン、ミトキサントロン及びバルルビシンなどのアントラサイクリンを含み；チロシンキナーゼ阻害剤は、エルロチニブ、ゲフィチニブ、アキシチニブ、PLX3397、イマチニブ、コベミチニブ及びトラメチニブを含み；PARP阻害剤は、ピラパリブを含み；B-Raf酵素阻害剤は、ベムラフェニブ及びダブルフェニブを含み；アルキル化剤は、ダカルバジン、シクロホスファミド及びテモゾロミドを含み；プラチナ類似体は、カルボプラチニン、シスプラチニン及びオキサリプラチニンを含み；ヌクレオシド類似体は、アザシチジン、カペシタビン、フルダラビン、フルオロウラシル及びゲムシタビンを含み；葉酸代謝拮抗剤は、メトトレキサート及びペメトレキセドを含む。本発明における使用に適した他の化学療法剤には、デファクチニブ、エンチノスタット、エリブリン、イリノテカン、及びビンプラスチンが含まれる。

【0195】

本明細書に記載の抗体分子とともに投与するための好ましい治療剤は、ドキソルビシン、ミトキサントロン、シクロホスファミド、シスプラチニン、及びオキサリプラチニンである。

【0196】

本明細書に記載されるような抗体分子と組み合わせた投与のための放射線療法は、外照射療法又は近接照射療法であり得る。

【0197】

本明細書に記載されるような抗体分子と組み合わせた投与のための免疫療法剤は、治療用抗体分子、核酸、サイトカイン、又はサイトカインベースの治療剤であり得る。例えば、治療用抗体分子は、免疫調節分子、例えば、阻害性チェックポイント分子又は免疫共刺激分子、自然免疫系の受容体、又は腫瘍抗原、例えば、細胞表面腫瘍抗原又は可溶性腫瘍抗原に結合し得る。治療用抗体分子が結合し得る免疫調節分子の例には、CTLA-4、LAG-3、TIGIT、TIM-3、VISTA、PD-1、CD47、CD73、CSF-1R、KIR、OX40、CD40、HVEM、IL-10及びCSF-1が含まれる。治療用抗体分子が結合し得る自然免疫系の受容体の例には、TLR1、TLR2、TLR4、TLR5、TLR7、TLR9、RIG-I様受容体（例えば、RIG-I及びMDA-5）、及びSTINGが含まれる。治療用抗体分子が結合し得る腫瘍抗原の例には、HER2、EGFR、CD20及びTGF-ベータが含まれる。

【0198】

本明細書に記載されるような抗体分子と組み合わせた投与のための核酸は、siRNAであり得る。

【0199】

サイトカイン又はサイトカインベースの治療は、IL-2、コンジュゲートIL-2のプロドラッグ、GM-CSF、IL-7、IL-12、IL-9、IL-15、IL-18、IL-21、及びI型インターフェロンからなる群から選択され得る。

【0200】

10

20

30

40

50

癌の処置のための抗腫瘍ワクチンは、クリニックで実施され、且つ科学文献で詳細に議論されている (Rosenberg S. Development of Cancer Vaccines. ASCO Educational Book Spring:60-62(2000)など)。これは主に、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) を伴う場合と伴わない場合の両方で、ワクチン接種方法としてこれらの細胞を使用することにより、自己又は同種異系の癌細胞によって発現される様々な細胞マーカーに応答するように免疫系を刺激する戦略を含む。GM-CSFは、抗原提示において強い反応を引き起こし、前記戦略で使用される場合、特によく機能する。

#### 【0201】

化学療法剤、放射線療法、免疫療法剤、抗腫瘍ワクチン、腫瘍溶解性ウイルス、ACT療法、又はホルモン療法剤は、好ましくは、問題の癌のための化学療法剤、放射線療法、免疫療法剤、抗腫瘍ワクチン、腫瘍溶解性ウイルス、ACT療法、又はホルモン療法剤、すなわち、問題の癌の処置に効果的であることが示されている、化学療法剤、放射線療法、免疫療法剤、抗腫瘍ワクチン、腫瘍溶解性ウイルス、ACT療法、又はホルモン療法剤である。問題の癌に効果的であることが示されている、適切な化学療法剤、放射線療法、免疫療法剤、抗腫瘍ワクチン、腫瘍溶解性ウイルス、ACT療法、又はホルモン療法剤の選択は、十分に当業者の能力の範囲内である。

10

#### 【0202】

潜在的な治療的使用のためのいくつかの実施形態において、エフェクター機能を活性化しない抗体が好ましい。

#### 【0203】

IgG4が使用されているが、このサブクラスはFabアーム交換を受け、インビボでIgG4間で重鎖を交換できる。エフェクター機能を欠いているため、IgG4抗体は、細胞を枯渇させることなく受容体を遮断するための好ましいIgGサブクラスを表す。IgG4分子は、Fabアーム交換と呼ばれる動的プロセスで半分子を交換できる。この現象は、治療用抗体と内因性IgG4の間で発生し得る。S228P変異は、この組換えプロセスを防ぎ、より予測不可能でない治療用IgG4抗体の設計を可能にすることが示されている。

20

#### 【0204】

CH2ドメインは、Fc受容体及び補体に結合することが知られている。CH2ドメインのFc受容体への結合には抗体依存性細胞媒介性傷害性 (ADCC) が必要である一方、補体への結合には補体依存性細胞傷害性 (CDC) が必要である。抗体分子のCH2ドメインは、好ましくは、CH2ドメインの1つ以上のFcRI、FcRIIa、FcRIIb、FcRIIIなどのFc受容体、及び/又は補体への結合を低減又は抑制する1つ以上の変異を含む。本発明者らは、Fc受容体への結合を減少させる、又は抑制することにより、抗体分子によって媒介されるADCCが減少する、又は排除されると仮定する。同様に、補体への結合を減少させる、又は抑制することは、抗体分子によって媒介されるCDCを減少又は排除することが期待される。理論に拘束されることを望むものではないが、これは、抗体分子が患者に投与される場合に、肝臓の炎症を軽減又は回避することが期待される。さらに、Fc受容体への結合を低減又は抑制することは、抗体分子が本明細書に記載されるような免疫細胞抗原の第2の抗原結合部位を含む場合に有用であることが期待され、ここで、ADCC及び/又はCDCを介した、抗体分子が結合した免疫細胞の死滅は避けるべきである。1つ以上のFc受容体及び/又は補体へのCH2ドメインの結合を減少させる、又は抑制する変異は、当技術分野で公知である (Wang et al., 2018)。これらの変異には、Bruhns et al., 2009及びHezareh et al., 2001に記載される「LALA変異」が含まれ、これは、CH2ドメインのIMGT1.3位及び1.2位のロイシン残基をアラニン (L1.3A及びL1.2A) で置換することを含む。或いは、CH2ドメインのIMGT84.4位のアスパラギン (N) をアラニン、グリシン、又はグルタミン (N84.4A、N84.4G、又はN84.4Q) に変異させることによる、保存されたN結合型グリコシル化部位の変異を通じた-グリコシル抗体の生成は、IgG1エフェクター機能を低下させることも知られている (Wang et

30

40

50

al., 2018)。さらなる代替として、補体活性化(C1q結合)及びADCCは、CH2ドメインのIMGT114位のプロリンをアラニン又はグリシン(P114A又はP114G)に変異させることによって低減することが知られている(Idusogie et al., 2000; Klein et al., 2016)。これらの変異は、ADCC又はCDC活性がさらに低下した、又は全くない抗体分子を生成するために組み合わせることもできる。

#### 【0205】

したがって、抗体分子は、CH2ドメインを含み得、ここで、CH2ドメインは、好ましくは、

(i) 1.3位及び1.2位のアラニン残基；及び／又は

(ii) 114位のアラニン又はグリシン；及び／又は

(iii) 84.4位のアラニン、グルタミン又はグリシン；

を含み、ここで、アミノ酸残基の番号付けは、IMGT番号付けスキームに従う。

#### 【0206】

好ましい実施形態において、抗体分子はCH2ドメインを含み、ここで、CH2ドメインは、

(i) 1.3位のアラニン残基；及び

(ii) 1.2位のアラニン残基；

を含み、ここで、アミノ酸残基の番号付けは、IMGT番号付けスキームに従う。

#### 【0207】

代替的な好ましい実施形態において、抗体分子はCH2ドメインを含み、ここで、CH2ドメインは、

(i) 1.3位のアラニン残基；

(ii) 1.2位のアラニン残基；及び

(iii) 114位のアラニン；

を含み、ここで、アミノ酸残基の番号付けは、IMGT番号付けスキームに従う。

#### 【0208】

IgGは、FcRn媒介性リサイクルにより、血清中に自然に長期間持続し、典型的な半減期はおよそ21日である。半減期を延長するために、FcドメインとFcRnとのpH依存性相互作用は、pH7.4で最小限の結合を維持しながらpH6.0での親和性を高めるように設計されている。変異T250Q/M428Lは、アカゲザルのIgG半減期をおよそ2倍増加させた。M252Y/S254T/T256E変異体(YTEと呼ばれる)は、カニクイザルのIgG半減期をおよそ4倍増加させた。投与された抗体の効力を維持又は改善する一方で、投与の頻度を減らすために、いくつかの状況ではより長い半減期が望ましい。本発明の抗体は、投与後のインビボ血清の半減期を延長するように操作された半減期延長変異体として提供され得、したがって、本発明の抗体は、T250Q/M428L又はM252Y/S254T/T256E変異体として提供され得る。

#### 【0209】

本発明の抗体分子は、PD-L1の検出、特にその細胞表面にPD-L1を含む細胞、すなわち細胞表面に結合したPD-L1を発現する細胞の検出に有用であり得る。細胞は、CD8<sup>+</sup>T細胞、CD4<sup>+</sup>T細胞、Treg細胞、B細胞、NK細胞、NKT細胞、樹状細胞、又はTILなどの免疫細胞であってもよいが、好ましくは、CD8<sup>+</sup>T細胞又はTILである。

#### 【0210】

したがって、本発明は、サンプル中のPD-L1の存在、好ましくはその細胞表面にPD-L1を含む細胞の存在、を検出するための抗体分子の使用に関する。抗体分子は、本明細書の他の箇所に記載されているように、検出可能な標識にコンジュゲートされ得る。

#### 【0211】

PD-L1を検出するインビトロでの方法も提供され、この方法は、抗体分子を目的のサンプルとインキュベートすること、及び抗体分子のサンプルへの結合を検出することを含み、ここで、抗体のサンプルへの結合は、PD-L1の存在を示す。サンプルへの抗体

10

20

30

40

50

分子の結合は、例えば、E L I S A を使用して検出され得る。

【0212】

好ましい実施形態において、本発明は、その細胞表面にP D - L 1 を含む細胞を検出するインピトロでの方法に関し、この方法は、抗体分子を目的の細胞サンプルとインキュベートすること、及びサンプル中に存在する細胞への抗体分子の結合を決定することを含み、ここで、サンプル中に存在する細胞への抗体の結合は、その細胞表面にP D - L 1 を含む細胞の存在を示す。細胞への抗体分子の結合を検出するための方法は当技術分野で公知であり、E L I S A 、及びフローサイトメトリーを含む。

【0213】

目的の細胞サンプルは、個体から得られた腫瘍サンプルであり得る。

10

【0214】

したがって、本発明の抗体分子は、疾患又は障害の検出又は診断、特に癌の検出又は診断に有用であり得る。癌は、本明細書に記載されるような本発明の抗体分子で処置することができる癌であり得る。

【0215】

したがって、本発明の関連する態様は、

( i ) 診断薬としての使用のための本明細書に記載の抗体分子、

( i i ) 癌などの疾患又は障害を検出又は診断する方法における使用のための本明細書に記載の抗体分子、

( i i i ) 疾患又は障害の検出又は診断における使用のための診断薬の製造における本明細書に記載の抗体分子の使用；

20

( i v ) 個体の疾患又は障害を検出又は診断する方法；及び

( v ) 個体における疾患又は障害を検出又は診断する方法における使用のためのキットであって、本明細書に記載の抗体分子を含む、キット

を提供する。

【0216】

本発明のさらなる態様及び実施形態は、以下の実験的例示を含む本開示を与えられた当業者には明らかであろう。

【0217】

本明細書で言及されている全ての文書は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

30

【0218】

本明細書で使用される場合、「及び／又は」は、2つの特定の特徴又は構成要素のそれぞれの特定の開示として、他方の有無にかかわらず解釈されるべきである。例えば、「A 及び／又は B」は、ちょうどそれが本明細書に個別に記載されているかのように、( i ) A 、( i i ) B 、並びに( i i i ) A 及び B 、のそれぞれの特定の開示として解釈されるべきである。

【0219】

文脈上が別段の指示がない限り、上記の特徴の説明及び定義は、本発明のいずれの特定の態様又は実施形態にも限定されず、記載される全ての態様及び実施形態に等しく適用される。

40

【0220】

ここで、本発明の特定の態様及び実施形態を、例として、本明細書で提供される図を参照して説明する。

【図面の簡単な説明】

【0221】

図面の一覧

【図1】混合白血球反応アッセイ。抗P D - L 1 カップクローン、G1/894\_8\_E05、G1/887\_4\_E12、及びG1/887\_4\_G12の機能的活性は、混合白血球反応アッセイで試験された。全ての抗P D - L 1 mAb は、0 . 0 3 0 nM未満のE C<sub>50</sub>値を有する強力な活性

50

を示した。陰性対照G1AA/4420の活性は観察されなかった。

【図2】D011.10マウスT細胞活性化アッセイ。マウスPD-L1に対する抗PD-L1カッパクローニー、G1/894\_8\_E05、G1/887\_4\_E12、及びG1/887\_4\_G12の機能的活性は、LK35.2を過剰発現するマウスPD-L1及びD011.10T細胞を用いたT細胞アッセイで試験した。全ての抗PD-L1 mAbは、低ナノモル濃度のEC<sub>50</sub>値を有する強力な活性を示した。陰性対照G1AA/4420の活性は観察されなかった。

【図3】非腫瘍性マウスにおける抗PD-L1 mAbの薬物動態。

【図4】混合白血球反応アッセイ。抗PD-L1カッパクローニー、G1AA/E05v2、G1AA/E12v2及びG1AA/G12v2の機能的活性は、混合白血球反応アッセイで試験された。全ての抗PD-L1 mAbは、0.055nM未満のEC<sub>50</sub>値を有する強力な活性を示した。陰性対照G1AA/4420の活性は観察されなかった。

10

### 【実施例】

#### 【0222】

##### 実施例

これらの実験の目的は、マウス及び/又はカニクイザルPD-L1と交差反応性であり、PD-1/PD-L1活性の強力な阻害剤（遮断剤）である抗ヒトPD-L1 mAbを生成することであった。

#### 【0223】

##### 実施例1：ナイーブ抗PD-L1結合mAb : 280\_02\_G02の分離

###### 1.1 抗原：CD4及びFcタグ付きヒト及びマウスPD-L1

20

融合タンパク質を含むヒト及びマウスのPD-L1抗原は、抗体の選択及びスクリーニングに使用するために生成された。抗原は、単量体C末端ラットCD4、ドメイン3及び4(rCD4)タグ(Brown and Barclay, 1994)、又は二量体ヒトIgG1 Fcドメイン(hPD-L1-rCD4-His(配列番号79)、hPD-L1-Fc-His(配列番号80)、mPD-L1-rCD4-His(配列番号81)及びmPD-L1-Fc-His(配列番号82)のいずれかとともに発現させた。2つの異なる形式での抗原の産生により、逐次抗体ファージディスプレイのパニング中にタグバインダーの除去が可能となった。抗原をコードする発現プラスミドは、Chapple et al., 2006に記載されるように、HEK293細胞にトランスフェクトされた。トランスフェクションの5日後に上清を回収し、分泌抗原をNi-NTAセファロースアフィニティークロマトグラフィーで精製した(Schofield et al., 2007)。ビオチン化抗原は、EZ-link Sulfo-NHS-Biotin試薬(Thermo Fisher Scientific、製品コード21326)を使用して、製造元の推奨に従って調製した。ビオチン化反応生成物をゲルfiltration、単量体画分を回収した。単量体画分は、全ての液相ファージディスプレイの選択のために使用された。蛍光ビオチン定量キット(Thermo Fisher Scientific、製品コード46610)を使用して決定した分子あたりの平均ビオチン数は、PD-L1単量体あたり1から3ビオチンであった。

30

#### 【0224】

###### 1.2 選択

###### 1.2.1 ライブラリーの設計

「IONTAS 1」ヒト抗体ファージディスプレイライブラリー(IONTAS Ltd.)を使用して、抗PD-L1クローニーを選択した。IONTAS 1ライブラリーの構築のために使用された抗体遺伝子は、ヒトリンパ球(42のバフィーコートの提供)及び1つの扁桃腺組織サンプルに由來した。バフィーコート及び扁桃腺組織の両方が、地域研究倫理委員会(Local Research Ethical Committee)の承認の下で入手された。

40

#### 【0225】

###### 1.2.2 ナイーブ固相選択

Schofield et al., 2007に記載されたように、ポリスチレンNuncチューブに直接コートィングされた抗原を使用して、IONTAS1抗体ファージディスプレイライブラリーで3ラウンドの固相選択を実行した。第1、第2、及び第3の選択ラウンドは、それぞれヒトPD-L1-Fc-His(配列番号80)、マウスPD-L1-rCD4-His(配列

50

番号 81) 及びヒト P D - L 1 - F c - H i s (配列番号 80) が使用された。第1のラウンドでは、直接選択のために、Nunc Maxisorpイムノチューブ(ImmunoTube) (Thermo Scientific、444202) を 10 μg / ml のヒト P D - L 1 - F c - H i s で一晩コーティングした。翌日、チューブを PBS で2回すすぎ、その後 PBS 2% M a r v e l / PBS (MPBS) を上部に充填してブロックし、1時間インキュベートした後、チューブを PBS で3回洗浄した。また、IONTAS 1抗体ファージディスプレイライブラリー (500 μl) を1時間、4% MPBS (500 μl) でブロックした。各抗原でコーティングされたイムノチューブに 2% MPBS (179.25 μl) 、F c - H i s (10.75 μl、2.8 mg / ml) 及びブロックされたIONTAS 1抗体ファージディスプレイライブラリー (110 μl、2 × 10<sup>12</sup>コロニー形成単位、2% MPBS) を追加した。F c - H i s を選択に追加して、固相固定化 F c タグ付き抗原に結合する抗 F c バイオインダーを除去した。抗体ファージディスプレイライブラリーを室温で1.5時間、直接固定化された抗原に結合させた。この後、イムノチューブを PBS-T (PBS、pH 7.4、0.1% Tween (商標)-20) で6回洗浄し、次に PBS で6回洗浄した。結合したファージを、標準ファージ回収手順を使用して溶出及び増殖した。抗体ファージディスプレイ選択の第2のラウンドは、Nuncイムノソープチューブ(immunosorb tube)をコーティングするためにマウス P D - L 1 - r C d 4 - H i s (配列番号 81) を使用し、選択解除のために F c - H i s の代わりに r C d 4 - H i s を使用し、ヒト P D - L 1 - F c - H i s に対して選択された第1のラウンドのアウトプットファージをインプットファージ集団として使用したことと除いて、上記のように実行した。ヒト P D - L 1 - F c - H i s による第3のラウンドは、第1のラウンドと全く同じように実行された。  
10  
20

#### 【0226】

##### 1.2.3 チェーンシャッフルリングと溶液相の選択

選択された可変重 (VH) 抗 P D - L 1 抗体集団は、Dyson et al., 2011 に記載されるように、ナイープ可変軽 (VL) 抗体集団とシャッフルされ、このシャッフルされ、レスキューアップされた抗体ファージディスプレイ集団が溶液相の選択において使用された。簡単に説明すると、パニングは、第1、第2、及び第3のラウンドで、それぞれヒト P D - L 1 - r C d 4 - H i s (配列番号 79) (10 nM)、ヒト P D - L 1 - r C d 4 - H i s (配列番号 79) (200 pM) 及びマウス P D - L 1 - r C d 4 - H i s (配列番号 81) (10 nM) で実行され、これにより、「選択 280」と呼ばれるアウトプット抗 P D - L 1 s c F v 集団が得られた。この s c F v 集団は、Dyson et al., 2011 に記載されるように、実行されたファージポリクローナル E L I S A によって決定されたように、ヒト及びマウスの抗 P D - L 1 結合 s c F v を含み、ヒト P D 1 若しくは r C d 4 又は F c タグとの最小の交差反応性を示した。  
30

#### 【0227】

##### 1.3 スクリーニング：E L I S A、組換えブロッキングアッセイ、細胞ベースのプロッキングアッセイ

###### 1.3.1 モノクローナル s c F v E L I S A

実施例 1.2.3 からの選択 280 s c F v 集団を E L I S A によってスクリーニングして、ヒト P D - L 1 に最もよく結合するクローニングを同定した。s c F v 集団を可溶性 s c F v ベクター p S A N G 10 にサブクローニングし、(Martin et al., 2006; Studier, 2005) に記載されているように、可溶性 s c F v を含有する大腸菌 (E.coli) 培養物を調製した。次に、可溶性 s c F v を、固定化されたヒト P D - L 1 - r C d 4 - H i s (配列番号 79) を用いたモノクローナル E L I S A で使用した。簡単に説明すると、Nunc Maxisorpプレート (Thermo Fisher Scientific、437111) をヒト P D - L 1 - r C d 4 - H i s (配列番号 79) (5 μg / ml、PBS) で一晩コーティングし、2% MPBS で1時間ブロックし、大腸菌 (E.coli) 培養上清 (2 × 2% MPBS で 1 : 2 に希釈) を添加し、s c F v を室温で1時間結合させた。結合した s c F v は、ユーロピウムで標識された抗FLAG M2抗体 (Sigma、F1804) で検出された。合計 470 のクローニングがスクリーニングされ、これにより、抗原を含有しない「空の」ブロックされたウェルと比  
40  
50

較して、バックグラウンドより少なくとも 10 倍高い P D - L 1 の結合シグナルを持つ 346 の抗 P D - L 1 クローンが同定された。一次 E L I S A シグナルによって評価された 192 の最良の抗ヒト P D - L 1 クローンが、さらなる分析のために選択された。

#### 【 0 2 2 8 】

##### 1 . 3 . 2 E L I S A ベースの P D - L 1 / P D - 1 ブロッキングアッセイにおける s c F v のスクリーニング

P D - L 1 及び P D 1 の間の相互作用を遮断したクローンを特定するために、 E L I S A を実行してブロッキング s c F v のためのスクリーニングを実行した。簡単に説明すると、 Nunc Maxisorp プレート (437111、 Thermo Fisher Scientific) を抗 r C d 4 (ドメイン 3 及び 4 ) 抗体 (MCA1022、 OX-68、 Bio-Rad) で一晩コーティングし、 3 % M P B S でブロックし、室温で 1 時間、ヒト P D 1 - r C d 4 - H i s (配列番号 79) (3 % M P B S 中 5 μ g / m l) でインキュベートした。ビオチン化ヒト P D - L 1 - F c - H i s (配列番号 79) (50 μ l、 0 . 2 n M) を、 s c F v を含有する大腸菌 (E.coli) 培養上清と事前に混合した。Nunc 96 ウェルプレートを、 P B S 、 0 . 1 % Tween (商標) -20 (P B S - T) で 3 回、 P B S で 3 回洗浄した後、ヒト P D - L 1 - F c - H i s / s c F v 混合を添加し、室温で 1 時間インキュベートした。プレートを洗浄し、結合したヒト P D - L 1 - F c - H i s をヤギ抗 F c - ビオチン (Jackson ImmunoResearch、 109-065-098、 Laboratories 、 0 . 1 μ g / m l 、 3 % M P B S) 及びストレプトアビシン・ユーロピウム (Streptavidin-Europium) (Perkin Elmer、 1244-360) 、その後に DELFIA エンハンスマントソリューション (Perkin Elmer、 4001-0010) を使用して検出した。スクリーニングされた 192 個のクローンのうち、培地対照と比較して、 183 個は少なくとも 90 % のブロッキング活性を示した。同定された 183 個の抗 P D - L 1 s c F v クローンを、実施例 1 . 3 . 1 に記載されているように、一次 E L I S A でマウス P D - L 1 交差反応性についてさらにスクリーニングしたが、ヒト P D - L 1 の代わりに固定化マウス P D - L 1 - r C d 4 - H i s を使用した。これにより、 50 のマウス交差反応性抗 P D - L 1 クローンが特定され、これは、 I g G 1 形式への変換の候補であった。

#### 【 0 2 2 9 】

##### 1 . 3 . 3 ブロッキング抗 P D - L 1 s c F v クローンの I g G 1 形式への変換

P D - L 1 及び P D 1 の間の相互作用を遮断した抗 P D - L 1 s c F v クローンは、 V L 及び V H 遺伝子を I g G 1 発現プラスミド p I N T 3 - I g G 1 にサブクローニングすることにより、 I g G 1 形式に変換され、 Chapple et al., 2006 に記載されるように、 H E K 2 9 3 で、 4 m l スケールで発現された。抗体は、製造元の指示に従って、プロテイン A セファロースビーズ (P C - A 1 0 0) 及び Proteus 「 1 ステップバッチ」 ミディスピニカラム (Generon、 GEN-1SB08) を使用して、バッチアフィニティー精製された。精製された抗体の透析は、 8 k D a カットオフの GeBAflex マキシチューブ (Generon、 D 045) を使用して実行された。必要に応じて、抗体を限外濾過により 2 μ M に濃縮した。

#### 【 0 2 3 0 】

##### 1 . 3 . 4 ジャーカット N F A T レポーター共培養アッセイにおける P D - L 1 / P D - 1 ブロッキング活性のためのスクリーニング

次に、精製された抗 P D - L 1 m A b の機能的活性を、共培養レポーターアッセイスクリーニングで評価した。このスクリーニングは、 G loResponse NFAT-luc2 / PD-1 安定ジャーカット細胞株 (Promega、 CS187102) 及び、解凍及び使用 P D - L 1 細胞 (Promega、 CS178103) を使用して製造元の指示に従って実行された。 P D - L 1 細胞を、 10 % F B S を含有する H A M ' S - F 1 2 培地に播種した。翌日、 P D - 1 ジャーカットレポーター細胞 (Promega、 CS187102) をアッセイ培地 (90 % R P M I 1 6 4 0 、 1 % F B S) に再懸濁した。付着した P D - L 1 細胞を含有するプレートから培地を除去し、 2 倍濃度 (200 n M) で異なる抗体を含む 40 μ l のアッセイ培地、その後に 40 μ l の P D - 1 細胞混合物を付着細胞に加えた。プレートは、 5 % C O 2 、 37 ℃ で 6 時間インキュベートした。 BioGlo 試薬 (Promega、 G7940、 80 μ l) を各ウェルに添加し

10

20

20

30

40

50

、BMG pherastarプレートリーダーを使用してルシフェラーゼアウトプットを読み取った。これにより、抗体を含有しない対照と比較してルシフェラーゼ活性が増加するために共培養アッセイでPD1とPD-L1の相互作用を遮断することができる抗体G1/280\_02\_G02が特定された。この活性は、用量反応共培養アッセイ（濃度範囲を2倍にする：200から1.56nM）で確認され、計算された半数効果濃度（EC<sub>50</sub>）は4.2nMになった。

#### 【0231】

##### 1.4 配列の最適化

G1/280\_02\_G02抗体の配列の予備分析により、VH-CDR2の潜在的な脱アミド化部位、具体的にはKabat位54から55のNGモチーフが同定された。この部位での脱アミド化は、潜在的に結合に影響を与える可能性があるため、NGモチーフがNA、NS、SG、又はGGのいずれかに変更された変異体クローニングが作成された。これらの修飾は、組換えPD-L1に対する親和性又はPD-L1ブロッキング活性の効力の顕著な低下をもたらさず、軽鎖シャッフルで使用するために、G1/280\_02\_G02\_NSと指定されたNS修飾を含有する変異体クローニングを選択した。

10

#### 【0232】

##### 1.5 ナイーブ選択の概要

使用されたファージ選択戦略により、強力なインビトロPD-1/PD-L1ブロッキング活性とマウスPD-L1交差反応性を備えた50を超える抗ヒトPD-L1結合クローニングが同定された。特に、G1/280\_02\_G02は、細胞ベースのPD-L1レポーターアッセイで強力な活性化を示し、そのためにさらなる最適化のために選択された。

20

#### 【0233】

##### 実施例2：カッパ軽鎖を含有する抗PD-L1クローニングを生成するためのチェーンシャッフリング

G1/280\_02\_G02\_NS抗体はラムダ軽鎖を有する。これまで臨床状況で使用されてきたほとんどのモノクローナル抗体はカッパ軽鎖を持っているため（Jain et al., 2017）、チェーンシャッフリングキャンペーンを使用して、G1/280\_02\_G02\_NS抗体の重鎖を含むが、ヒトPD-L1及びマウスの交差反応性に対する親和性を保持したカッパ軽鎖と対となる、クローニングを生成することが求められた。ファージディスプレイプラスミドpIONTAS-1（カッパライプラリー）のIONTAS（商標）カッパ軽鎖ライプラリーを使用して、軽鎖変異体と結合したG1/280\_02\_G02\_NS抗体の重鎖を含むscFvクローニングの軽鎖シャッフルライプラリーを調製した。

30

#### 【0234】

##### 2.1 ファージの選択及びスクリーニング戦略

ビオチン化ヒトPD-L1-rCD4-His（配列番号79）及びマウスPD-L1-rCD4-His抗原（配列番号81）を使用して、3ラウンドで多数のファージディスプレイ溶液の選択を行った。選択は、全てのラウンドで抗原濃度を減少させることによって実行され（100から0.02nMまで変化）、選択の各ラウンドにおいて「非抗原」対照が使用された。選択の詳細を表2に示す。

#### 【0235】

40

## 【表2】

表2.

選択番号	抗原	インプットライブラリ	ラウンド
866	hPD-L1; 100 nM	チェーンシャッフルライブラリ	1
867	hPD-L1; 10 nM	チェーンシャッフルライブラリ	1
868	hPD-L1; 1 nM	チェーンシャッフルライブラリ	1
869	hPD-L1; 1 nM	867 のアウトプット	2
870	hPD-L1; 0.2 nM	867 のアウトプット	2
871	hPD-L1; 0.1 nM	868 のアウトプット	2
872	hPD-L1; 0.02 nM	868 のアウトプット	2
887	hPD-L1; 0.1 nM	869 のアウトプット	3
888	mPD-L1; 1.0 nM	869 のアウトプット	3
889	mPD-L1; 0.1 nM	869 のアウトプット	3
890	hPD-L1; 0.02 nM	870 のアウトプット	3
891	mPD-L1; 1.0 nM	870 のアウトプット	3
892	mPD-L1; 0.1 nM	870 のアウトプット	3
893	mPD-L1; 1.0 nM	872 のアウトプット	3
894	mPD-L1; 0.1 nM	872 のアウトプット	3

## 【0236】

セクション1.3.1に記載されているように、可溶性scFv発現システムを使用して、ラウンド2から2つ（no.871及び872）及びラウンド3から4つ（no.887、890、891及び894）の6つの選択アウトプットがスクリーニングのために選択された。DELFIA増強溶液を使用した上記の実施例1.3.1に記載されたアッセイを使用して、合計1692個の可溶性scFvクローンを、ELISA（hu-PD-L1-rCD4-His（配列番号79）抗原を、ダルベッコ（Dulbecco）PBS50 μl中、3 μg/mlでMaxisorbプレート上にコーティングした）で固定化抗原に結合させるためにスクリーニングした。

## 【0237】

スクリーニングされた1692クローンのうち、1029クローンがDELFIAアッセイで2000RFUを超えるシグナルを生じ、成功率は約61%であった。次に、上位736クローンを選択し、hPD-L1-rCD4-His抗原の3つの濃度（1.0nM、0.2nM、及び0.04nM）を使った二次アッセイ（親和性ランキング）を使用して分析した。スクリーニングされた736クローンから、最大のシグナルを示した48クローンが、IgG1形式でのクローニング及び発現のために選択された。クローンをExpi293F（商標）（Fisher Scientificカタログ番号13479756）細胞を800 μlスケ-

10

20

30

40

50

ルで発現させ、培養上清を IgG1 形式でさらにスクリーニングするためにトランスフェクション後 5 日目に回収した。

#### 【0238】

##### 2.2 SPRスクリーニング

48 の抗体は全て、SPR (Biacore T200 機器) を使用して親和性によってランク付けされた。ランク付けのために、希釈した上清 (1XPBS 及び 0.002% Tween (商標) -20 で作製されたランニングバッファー中 1 : 10) をプロテイン A チップ (GE healthcare、製品コード : 29127556) 上に固定化し、ヒト PD-L1 - rCD4-His (配列番号 79) を 50 nM の濃度で調製した表面上に流した。この 1 回の注入を使用して生成された結合 ( $k_a$ ) 及び解離 ( $k_d$ ) 速度定数を使用して、推定解離定数 ( $K_D$ ) を決定した。クローンの  $K_D$  値は、IgG1 形式 (G1/280\_02\_G02\_NS) にクローン 280\_02\_G02\_NS のそれと比較した。クローン G1/280\_02\_G02\_NS よりもヒト PD-L1 に対して高い親和性を示し、そのためクローン G1/280\_02\_G02\_NS とともに完全な速度論的分析が行われたユニークな配列の 10 個のクローンが同定された。10

#### 【0239】

簡単に説明すると、SPR 実験は BIACoreT200 機器を使用して実行された。希釈した培養上清からの抗体を、FC2 上のプロテイン A チップ (GE Healthcare、29127556) に 10 μl / 分の流速で、60 秒の接触時間で捕捉した。典型的には、これにより 500 ~ 800 RU の抗体が捕捉される。50 から 0.05 nM の範囲の PD-L1 - rCD4-His の 2 倍希釈液を、FC1 及び FC2 上で 50 nM から 30 μl / 分の流速で注入した (濃度範囲 : 50 nM ~ 0.05 nM)。結合は 180 秒にわたって測定され、解離は 300 秒にわたって測定された。全ての測定は、PBS、pH 7.4、0.05% Tween (商標) -20 で、25 °C で実施した。速度論的パラメーターは、参照細胞の減算及び BIAe valuation ソフトウェア (GE、BR-1005-97) を使用した 1 : 1 の相互作用を想定したセンソグラム実験データのフィッティングによって決定された。得られたデータは、BIAe valuation ソフトウェアを使用してフィッティングされ、対応する  $k_a$ 、 $k_d$ 、及び  $K_D$  値を算出した。試験された 10 個のクローンのうち、「G1/887\_04\_E12」、「894\_08\_A05」、「G1/894\_08\_E05」及び「G1/887\_04\_G12」と指定された 4 つの抗体は、ナノモル濃度以下の  $K_D$  値を示し、これは、G1/280\_02\_G02\_NS につき  $K_D$  よりも低かった。記載のスクリーニング条件下で得られた親和性データは、実施例 2 に記載のカッパ軽鎖シャッフルにより、G1/280\_02\_G02\_NS 抗体の重鎖がラムダ軽鎖だけでなくカッパ軽鎖とも対になって、組換えヒト PD-L1 に対する良好な、そして実際に改善された、親和性を有する抗体を産生することを示した。低レベルの捕捉 mAb で生成された正確な親和性は、表 3 セクション 3.2 に報告されている。2030

#### 【0240】

実施例 3 : IgG1 形式のカッパクローンの特性評価

##### 3.1 細胞ベースの PD-1 / PD-L1 ブロッキングアッセイ

カッパ軽鎖、G1/887\_04\_E12、G1/894\_08\_E05 及び G1/887\_04\_G12 を含有する抗 PD-L1 クローンが、PD1 及び PD-L1 の間の相互作用を遮断する能力を、PD1 / PD-L1 Blockade Bioassay 製品 (Promega、J1250/J1255) を製造元の推奨に従って使用した生体発光細胞ベースのアッセイで評価した。ブロッキング活性を G1/280\_02\_G02\_NS クローンと比較した。40

#### 【0241】

簡単に説明すると、全ての抗体はセクション 1.3.3 に記載されているように発現及び精製され、100 nM から 35 pM まで (8 つの濃度) の 3 倍希釈で 2 回試験された。計算された IC<sub>50</sub> 値を表 3 に示す。試験された全てのクローンは、PD1 / PD-L1 相互作用の強力な阻害剤であることが示され、3 つのカッパ軽鎖を含有するクローン G1/887\_04\_E12、G1/894\_08\_E05、及び G1/884\_04\_G12 は、ラムダ軽鎖を含有するクローン G1/280\_02\_G02\_NS よりもさらに優れた IC<sub>50</sub> 値を示した。

#### 【0242】

50

50

50

## 【表 3】

表 3.

クローン ID	IC <sub>50</sub> (nM)
G1/280_02_G02_NS	0.51
G1/887_04_E12	0.35
G1/894_08_E05	0.36
G1/887_04_G12	0.33

10

## 【0 2 4 3】

## 3.2 親和性

抗 P D - L 1 m A b G1/887\_04\_E12、G1/887\_04\_G12 及び G1/894\_08\_E05 の組換えヒトビオチン化ヒト P D - L 1 - Avi - His (Acro Biosystems、PD1-H82E5)、カニ クイザル P D - L 1 - His (Acro Biosystems、PD1-C52H4) 及びマウス P D - L 1 - His (Acro Biosystems、PD1-M5220)との結合を、Biacore T200 機器 (GE Healthcare) を使用して S P R で測定した。親和性を I g G 1 形式の 280\_02\_G02\_NS クローンと比較した (G1AA/280\_02\_G02\_NS ; このクローン名の「A A」は、このクローンが C H 2 ドメインに「L A L A」変異も含んでいたことを示す)。

20

## 【0 2 4 4】

簡単に説明すると、HBS-EP 緩衝液 (GE Healthcare、BR100188) で 2 μg / ml に希釈した抗 P D - L 1 m A b を、30 μl / 分で、プロテイン A チップ (GE Healthcare、29127556) のフローセル 2、3、及び 4 に個別に注入し、約 110 R U の最終応答を達成した。HBS-EP 緩衝液で希釈した組換えヒト、カニクイザル及びマウス P D - L 1 - His 抗原を、必要に応じてフローセル 1、2、3、又は 4 に、81 nM から 0.037 nM の濃度範囲で 3 倍希釈して、75 μl / 分で 4 分間注入し、その後緩衝液中で 10 分間解離させた。再生は、10 mM グリシン - H C L p H 1.5 (GE Healthcare、Human Antibody Capture Kit、B R 0 0 3 5 6) を 30 μl / 分の速度で 30 秒間注入することによって達成された。差し引かれたデータ (フローセル 2 - フローセル 1、フローセル 3 - フローセル 1、又はフローセル 4 - フローセル 1) は、BIAevaluation 3.2 ソフトウェア (GE Healthcare) を使用して分析して、屈折率 (R I) 定数 0 で、質量移動を伴うモデル 1 : 1 結合を使用して結合を同定した。マウス P D - L 1 結合曲線の親和性を決定するために、対応するヒト結合プロファイルの R m a x を使用した。

30

## 【0 2 4 5】

結合データは、G1AA/280\_02\_G02\_NS クローン及び G1/894\_08\_E05、G1/887\_04\_E12 及び G1/887\_04\_G12 クローンが、1 枝台前半のナノモル濃度又はナノモル濃度以下の親和性でヒト及びカニクイザル P D - L 1 に結合し、完全にヒト / カニクイザルの交差反応性であることを示した。(表 4)。G1AA/280\_02\_G02\_NS クローンと比較して、G1/894\_08\_E05、G1/887\_04\_E12、及び G1/887\_04\_G12 クローンの結合親和性は、ヒト P D - L 1 で約 1.8 から 4.8 倍、カニクイザル P D - L 1 で 2.7 から 4.7 倍高かった。組換えマウス P D - L 1 に対するクローンの親和性は低く、K D 値は 3.8 から 2.25 nM の範囲であり、最も高い親和性が G1/887\_04\_E12 クローンで観察された。これらのデータは、G1AA/280\_02\_G02\_NS 抗体の重鎖が、組換えヒト及びカニクイザル P D - L 1 についての良好な (及びカッパ軽鎖ペアリングの場合はナノモル濃度以下の) 親和性、並びに組換えマウス P D - L 1 についての低くともいくらかの親和性を有する抗体を産生するために、ラムダ軽鎖及びカッパ軽鎖の両方と対となることができるこ

40

とを示す。

50

## 【0246】

## 【表4】

表4.

クローン	ヒト PD-L1-His K <sub>D</sub> (nM)	カニクイザル PD- L1-His K <sub>D</sub> (nM)	マウス PD-L1-His K <sub>D</sub> (nM)
G1AA/280_2_G02_NS	1.10	1.32	137
G1/894_08_E05	0.60	0.49	223
G1/887_04_E12	0.23	0.28	38
G1/887_04_G12	0.39	0.45	225

## 【0247】

## 3.3 細胞発現PD-L1への抗PD-L1 mAbの結合

## 3.3.1 ヒトPD-L1を過剰発現する細胞の生成

抗PD-L1 mAb G1/894\_08\_E05、G1/887\_04\_E12及びG1/887\_04\_G12の細胞表面PD-L1への結合を評価するために、ヒトPD-L1を過剰発現するHEK293細胞を生成した。

## 【0248】

KpnI及びNotI制限部位を使用して、ヒトPD-L1配列（配列番号83）をpcDNA（商標）5/FRTベクター（ThermoFisher Scientific、カタログ番号V601020）にサブクローンし、その後、Lipofectamine 2000（Life Technologies、11668-019）を使用してベクターをFlp-In T-REx 293細胞株（Life Technologies、R780-07）に形質転換した。細胞を、10%FBS、100 μg / mlハイグロマイシンB（Melford Laboratories Ltd、Z2475）及び15 μg / mlプラスチサイジン（Melford Laboratories Ltd、B1105）を含有するDMEMで、安定的に形質転換された細胞のコロニーが形成されるまで3～4週間増殖させた。これらのコロニーを1 μg / mlのドキシサイクリン（Sigma Aldrich、D9891）の存在下で増幅し、PEコンジュゲート抗ヒトPD-L1（MIH1）抗体（BD Biosciences、557924）を使用してPD-L1の発現について試験した。細胞解離緩衝液を使用して細胞を剥離し、PBSで1回洗浄し、96ウェルプレートのウェルに2×10<sup>5</sup>細胞でブレーティングし、PBSで1：20に希釈した抗体と4で1時間インキュベートした後、PBSで再度洗浄し、Accuri C6サイトメーター（BD Biosciences）を使用して測定した。FlowJoXソフトウェアを使用してデータを分析した。ヒトPD-L1の発現が細胞株で検出された。

## 【0249】

## 3.3.2 細胞結合アッセイ：HEK293-hPD-L1及び対照HEK-FRTへの細胞結合は特異的結合を示す。

抗ヒトPD-L1 mAb、G1/894\_08\_E05、G1/887\_04\_E12及びG1/887\_04\_G12を、次に、フローサイトメトリーを使用して、ヒトPD-L1を発現するHEK293細胞への結合を試験した。非特異的結合は、ヒトPD-L1を欠くHEK293親細胞（Flp-In T-Rex 293細胞株、Life Technologies、R780-07）への結合を試験することによっても評価された。

## 【0250】

HEK293及びHEK293-hPD-L1懸濁液は、0.5%BSA（Sigma、A7906）を含有するPBS中で調製し、100 μlの丸底96ウェルプレート（VWR、734-

10

20

30

40

50

1797)に $1 \times 10^5$ 細胞 / ウェルで播種した。細胞を $100 \mu l$ の $1 \times$ DPBSで1回洗浄し、mAb G1/894\_08\_E05、G1/887\_04\_E12及びG1/887\_04\_G12を $100 \mu l$ の $1 \times$ DPBS (Gibco、14190-094)で希釈した ( $1 \cdot 10^{-6} \sim 0 \cdot 013 \text{ nM}$ で、5倍希釈)。洗浄した細胞を希釈した抗体混合物に再懸濁し、4℃で30分間インキュベートした後、PBSで1回洗浄した。次に、PBSで1:1000に希釈した $100 \mu l$  / ウェルの二次抗体 (Alexa Fluor 647-AffiniPure Goat Anti-Human IgG, F(ab')2 Fragment Specific, Stratech Scientific、109-605-006-JIR) を添加し、細胞 / 抗体混合物を4℃で20分間インキュベートした後、細胞を再度PBSで洗浄し、7AAD (1:1000、Biotium、40043) を含有する $100 \mu l$ のPBSに再懸濁してから、Cantollフローサイトメーター (BD Bioscience) を使用して分析した。死細胞を除外し、FITCチャネル (488 nm / 530 / 30) の蛍光を測定した。幾何平均蛍光強度 (GMFI) 値を抗体の対数濃度に対してプロットし、得られた曲線をGraphPad Prismの対数 (アゴニスト) 対応答式を使用して適合させた。

#### 【0251】

G1/894\_08\_E05、G1/887\_04\_E12及びG1/887\_04\_G12クローニは、EC<sub>50</sub>値が $0 \cdot 26 \sim 0 \cdot 29 \text{ nM}$ の範囲で細胞表面ヒトPD-L1に結合することが見出された (表5参照)。親HEK293細胞への結合は観察されず、結合の特異性を示した。したがって、試験した全てのmAbクローニは、非特異的な結合は観察されず、PD-L1に特異的に結合した。

#### 【0252】

##### 【表5】

表5.

クローニ	HEK293:hPD-L1 EC <sub>50</sub> (nM)	HEK293-FRT 隣性 対照細胞
G1/894_08_E05	0.29	結合なし
G1/887_04_E12	0.26	結合なし
G1/887_04_G12	0.27	結合なし

10

20

30

#### 【0253】

##### 3.4 混合リンパ球反応アッセイにおける抗PD-L1 mAbの活性

抗PD-L1 mAbの活性は、混合リンパ球反応 (MLR) アッセイで試験された。MLRアッセイは、2つの同種異系リンパ球集団 (同じ種であるが、遺伝的に異なる) 間で発生する細胞性免疫応答を測定する。このアッセイでは、あるドナーからのCD4+T細胞及び別のドナーからの単球由来樹状細胞 (iDC) を使用する。免疫細胞には生理学的レベルの免疫チェックポイント調節因子が含まれているため、MLRアッセイを使用して、T細胞活性化がヒトシステムのmAbによって増強されることを確認することができる。

40

#### 【0254】

##### 3.4.1 拡大培養CD4+T細胞の生成

PBMCは、フィコール勾配分離によって白血球錐体から分離された。CD4+T細胞は、Human CD4+T Cell Isolation Kit (Miltenyi Biotec Ltd、130-096-533) を使用して、製造元の指示に従って分離した。ヒトT-アクチベーターCD3 / CD28 Dynabeads (Life Technologies、11131D) をボルテックスで再懸濁した。ビーズを滅菌 $15 \text{ ml}$ チューブに移し、10%FBS (Life Technologies、10270106) を含む $10 \text{ ml}$  RPMI (Life Technologies、61870044) 及び $1 \times$ ペニシリンストレプトマイシン (Life Technologies、15140122) を加えてダイナビーズを洗浄した。上澄みを廃棄した。 $10\%$ FBS及び $1 \times$ ペニシリンストレプトマイシン溶液を添加したRPMI中

50

の  $1 \cdot 0 \times 10^6$  細胞 / ml の CD4 + T 細胞、及び 3 : 1 のビーズ対細胞比を有する 50 IU / ml の組換えヒト IL-2 (Peprotech, 200-02-50 μg) を T 75 フラスコ (Greiner Bio-one, 690195) に移し、37 + 5% CO<sub>2</sub> でインキュベートした。3 日後、細胞を穏やかに再懸濁し、計数した。細胞密度は、必要に応じて新鮮な培地 (RPMI - 10% FBS + ペニシリンストレプトマイシン溶液 1X + 50 IU / ml の rhuIL-2) を添加することにより、 $0 \cdot 8 \sim 1 \times 10^6$  細胞 / ml の範囲に維持した。7 日目又は 8 日目に、CD3 / 28 ビーズを除去し、CD4 + T 細胞を、減量した 10 IU / ml の rhuIL-2 を有する新鮮培地 RPMI - 10% FBS + ペニシリンストレプトマイシン溶液 1X の  $1 \times 10^6$  細胞 / ml で一晩静置した。細胞は必要になるまで凍結保存した。

## 【0255】

10

## 3.4.2 iDC の生成

未処理の単球は、Human Pan Monocyte Isolation Kit (Miltenyi Biotec Ltd, 130-096-537) を使用して、製造元の指示に従ってヒト PBMC から分離した。単球は、ヒト Mo-DC 分化培地 (Miltenyi Biotec Ltd, 130-094-812) を使用して、製造元の指示に従って iDC に分化させた。

## 【0256】

20

## 3.4.3 MLR アッセイ

拡大培養された T 細胞は、実験の 1 日前に解凍し、AIM V 培地 (GIBCO, 12055-091) で洗浄し、AIM V 培地中、37 + 5% CO<sub>2</sub> で一晩インキュベートした。抗ヒト PD-L1 mAb、G1/894\_08\_E05、G1/887\_04\_E12 及び G1/887\_04\_G12 を、96 ウェル丸底プレート (VWR, 734-1797) 中、50 μl の AIM V 培地で、最終濃度の 4 倍で 3 回希釈した。LALA 変異を含有する 4420 と指定される抗 FITC 抗体 (Bedzyk et al., 1989; Bedzyk et al., 1990) が陰性対照として含まれていた。30 nM から 0.002 nM までの 3 倍希釈系列を試験した。50 μl の AIM V 培地に懸濁した  $1 \times 10^4$  iDC 細胞、及び  $100 \mu l$  の AIM V 培地に懸濁した  $1 \times 10^5$  拡大培養した CD4 + T 細胞の両方を、抗体希釈液に添加し、37 + 5% CO<sub>2</sub> で 5 日間インキュベートした。以下の対照が含まれていた：CD4 + T 細胞単独、iDC 単独、CD4 + T 細胞 + iDC、及び AIM V 培地単独。上清を回収し、サンプルを希釈し (1 : 25)、ヒト IFN-γ ELISA Ready-SET-Go! キット (Life Technologies, 88-7316-77) を使用して、インターフェロン-γ (IFN-γ) 濃度を測定した。Gen5 ソフトウェア、BioTek を備えたプレートリーダーを使用して、プレートを 450 nm で読み取った。450 nm (補正) の吸光度値から 630 nm の吸光度値を差し引いた。サイトカイン濃度を計算するための標準曲線は、4 パラメーターロジスティック曲線適合 (Gen5 Software, BioTek) に基づいていた。ヒト IFN-γ の濃度を抗体の対数濃度に対してプロットし、得られた曲線を GraphPad Prism の対数 (アゴニスト) 対応答式を使用して適合させた。

30

## 【0257】

抗ヒト PD-L1 mAb G1/894\_08\_E05、G1/887\_04\_E12 及び G1/887\_04\_G12 は、EC<sub>50</sub> 値が 0.030 nM 未満、及び IFN-γ (E<sub>max</sub>) の最大レベルが 1000 0 pg / ml を超える MLR アッセイにおいて強力な活性を示した (表 6、代表図 1)。EC<sub>50</sub> は、応答の半分が達成される mAb の濃度を示し、他方で、E<sub>max</sub> は、アッセイで達成される IFN-γ の最大濃度を示す絶対値である。予想通り、陰性対照 G1AA/4420 mAb では活性は観察されなかった。

40

## 【0258】

50

## 【表 6】

表 6.

クローン	MLR アッセイにおける機能的活性	
	EC <sub>50</sub> (nM)	E <sub>max</sub> (pg/ml)
G1/894_08_E05	0.024	14620
G1/887_04_E12	0.029	11440
G1/887_04_G12	0.021	12670
G1AA/4420 陰性対照	活性なし	

10

## 【0259】

3.5 マウス D O 1 1 . 1 0 T 細胞活性化アッセイにおける抗 P D - L 1 m A b の活性  
 抗ヒト P D - L 1 m A b G1/887\_04\_E12、G1/887\_04\_G12 及び G1/894\_08\_E05 はマウス P D - L 1 に対して弱い交差反応性を示すことが示されたため（実施例 3.2、表 4 を参照）、マウス P D - L 1 に対するそれらの機能的活性を、D O 1 1 . 1 0 O V A T - リンパ球及び L K 3 5 . 2 B - リンパ球ハイブリドーマ細胞株に基づく、インターロイキン 2 ( I L - 2 ) 放出アッセイで調査した。I L - 2 放出は T 細胞活性化のマーカーである。内因性マウス P D - 1 を発現する T 細胞に空のベクター ( p L V X ) をトランسفェクトした。B - 細胞にマウス P D - L 1 構築物をトランسفェクトした。

20

## 【0260】

## 3.5.1 空のベクターを用いた T 細胞株の產生

レンチウイルス形質導入法を使用した Lenti-X HTX パッケージングシステム ( Clontech、631249 ) を使用して、空のレンチウイルスベクター p L V X を含有する D O 1 1 . 1 0 細胞 ( National Jewish Health ) を生成した。Lenti-X 発現ベクター ( pLVX ) ( Clontech、631253 ) を Lenti-X HTX パッケージングミックスとともに Lenti-X293T 細胞株 ( Clontech、632180 ) に同時トランسفェクトして、ウイルスを生成した。D O 1 1 . 1 0 細胞株は、Lenti-X HTX パッケージングシステムで產生されたレンチウイルス粒子を使用して形質導入された。

30

## 【0261】

## 3.5.2 P D - L 1 を過剰発現する抗原提示細胞の產生

レンチウイルス形質導入法を使用した Lenti-X HTX パッケージングシステム ( Clontech、631249 ) を使用してマウス P D - L 1 を過剰発現する L K 3 5 . 2 B 細胞リンパ腫細胞 ( ATCC、HB-98 ) を生成した。マウス P D - L 1 c D N A ( 配列番号 84 のマウス P D - L 1 をコードする ) を含有する Lenti-X 発現ベクター ( pLVX ) ( Clontech、631253 ) は、Lenti-X HTX パッケージングミックスとともに Lenti-X293T 細胞株 ( Clontech、632180 ) に同時トランسفェクトして、ウイルスを生成した。L K 3 5 . 2 細胞株は、Lenti-X HTX パッケージングシステムで生成したレンチウイルスベクターを使用して形質導入された。

40

## 【0262】

## 3.5.3 マウス D O 1 1 . 1 0 T 細胞活性化アッセイ

抗 P D - L 1 m A b G1/887\_04\_E12、G1/887\_04\_G12 及び G1/894\_08\_E05 又は抗 F I T C 陰性対照 m A b ( G1AA/4420 ) の希釈液は、実験培地 ( D M E M ( Gibco、61965-026 ) 、 1 0 % F B S ( Gibco、10270-106 ) 、 1 m M ピルビン酸ナトリウム ( Gibco、11360-070 ) ) で調製された。 2 . 4 6 μ M O V A ペプチド ( H - I S Q A V H A A H A E I N E A G R - O H 、 Pepscan ) ( 1 0 0 μ L L K 3 5 . 2 m P D - L 1 細胞 ( マウス P D - L 1 を過剰発現させるために m P D - L 1 を含むレンチウイルスベクターで形質導入された B 細胞ハイブリドーマ ) / m A b 混合物が 9 6 丸底プレート

50

の 1 ウェルあたり) の存在下、mAb は、 $4 \times 10^5 / \text{ml}$  LK35.2 mPD-L1 細胞と 1 : 1 で、実験培地中で混合し、37℃、5% CO<sub>2</sub> で 1 時間インキュベートした。100 μl 容量の実験培地中の mlあたり  $2 \times 10^5$  DO11.10 pLVX 細胞(空のレンチウイルスベクターで形質導入された DO11.10 T 細胞ハイブリドーマ)を、100 μl の LK35.2 mPD-L1 / (mAb) 混合物に添加した。次いで、細胞を混合し、37℃、5% CO<sub>2</sub> で、24 時間インキュベートした。上清を収集し、製造元の指示に従ってマウス IL-2 ELISA キット (eBioscience、88-7024-88 又は R & D システム、SM2000) でアッセイした。Gen5 ソフトウェア、BioTek を備えたプレートリーダーを使用して、プレートを 450 nm で読み取った。450 nm (補正) の吸光度値から 570 nm の吸光度値を差し引いた。サイトカイン濃度を計算するための標準曲線は、4 パラメータロジスティック曲線適合 (Gen5 Software、BioTek) に基づいていた。マウス IL-2 の濃度を mAb の対数濃度に対してプロットし、得られた曲線を GraphPad Prism の対数 (アゴニスト) 対応答式を使用して適合させた。

#### 【0263】

結果を図 2 及び表 7 に示す。抗ヒト PD-L1 mAb は、マウス T 細胞活性化アッセイで顕著な活性を示し、効力 (EC<sub>50</sub>) は 1 ~ 4.4 nM の範囲であった。予想通り、陰性对照 mAb では活性は観察されなかった。試験した 3 つのクローンのうち、組換えマウス PD-L1 に対して最も高い親和性を示した (表 4 参照) G1/887\_04\_E12 も、T 細胞活性化アッセイで最も強力なクローンであった。効力の差は、測定された親和性よりも低く、これは、このアッセイにおける LK35.2 細胞でのマウス PD-L1 の過剰発現によるためである可能性が高い。

#### 【0264】

#### 【表 7】

表 7

クローン	mPD-L1 DO11.10 T 細胞活性化アッセイにおける機能的活性	
	EC <sub>50</sub> (nM)	E <sub>max</sub> (pg/ml)
G1/894_08_E05	4.37	2112
G1/887_04_E12	1.02	1966
G1/887_04_G12	2.71	1912
G1AA/4420 陰性 対照	活性なし	

#### 【0265】

#### 3.6 ナイーブマウスの薬物動態

インビボ 薬物動態 (PK) を調査するために、抗 PD-L1 mAb G1/894\_08\_E05、G1/887\_04\_E12、及び G1/887\_04\_G12 を、mAb を非腫瘍性マウスに投与した研究用グレードの PK 試験で試験し、血清中の濃度を経時的に測定した。

#### 【0266】

C57BL/6 マウス (9 ~ 10 週齢の雌) を 3 匹の動物からなる 4 つのグループに分け、静脈内投与された試験抗体の単回投与を受けた。動物に 8 mg / kg の抗 PD-L1 mAb を 1 回投与した。抗体を静脈内投与 (100 μl、尾静脈) し、血液サンプル (20 μl、尾静脈) を 7 つの異なる時点で、1 時点あたり 3 匹のマウスから収集した。時点は、投与後 0.5、1、6、24、48、96、及び 144 時間であった。血液を室温で 2 時間凝固させ、遠心分離機で 20 分間、2000 g で回転させた後、血清を回収して -80℃ で保存した。分析のために、全ての血清サンプルを解凍し、同時に、200-3W-002-A プログラムを使用して Gyrolab xPlore 機器 (Gyrolab Technologies) で実行した。

10

20

30

40

50

ビオチン化ヤギ抗ヒト IgG - 重鎖及び軽鎖サル吸着 (Cambridge Bioscience、A80-3 19B) を捕捉試薬として使用し、ヤギ抗ヒト IgG - A F 6 4 7 (Cambridge Bioscience、2040-31) を検出試薬として使用した。ヒト IgG の濃度を各血清サンプルで測定し、各化合物の滴定曲線に基づいて実際の薬物濃度を計算して、検出における潜在的な差異を排除した。捕捉又は検出抗ヒト IgG mAbへの結合がmAbによって変化しなかったことを検証するために、追加の標準曲線を実行した。

#### 【0267】

抗 PD-L1 mAb は初期の急速なクリアランスを示さず、曝露レベルは 6 日間で 2 4 μg / ml 超に維持された (図 3)。このデータは、mAb で予想されたとおりであり、公開されている抗 PD-L1 mAb データと一致している (Deng et al., 2016)。 10

#### 【0268】

##### 3.7 IgG1 形式のカッパクローンの特性評価の概要

選択されたカッパ軽鎖を含む抗 PD-L1 mAb G1/894\_08\_E05、G1/887\_04\_E12、及び G1/887\_04\_G12 は、カニクイザル及びマウス PD-L1 の交差反応性を示し、細胞表面に発現した PD-L1 への特異的結合を示し、ラムダ軽鎖を含むクローン G1/2 80\_02\_G02 よりも、組換えヒト及びカニクイザル PD-L1 に対してさらに高い親和性を示した。抗 PD-L1 mAb G1/894\_08\_E05、G1/887\_04\_E12、及び G1/887\_04\_G12 は、インビトロでヒト T 細胞の強力な活性化因子であり、機能的なマウス交差反応性を保持し、非腫瘍性マウスで満足な PK プロファイルを保持することを示した。

#### 【0269】

##### 実施例 4：配列の最適化

###### 4.1 潜在的なタンパク質脱アミド化部位の特定及び除去

G1/280\_02\_G02\_NS クローン配列の解析により、H-CDR2 ループ (Kabat 位 54 ~ 57) 内の配列 NSNT (配列番号 6) が、脱アミド化された場合、結合に影響を与える可能性がある潜在的な脱アミド化部位として同定された。このクローンの重鎖は、実施例 2 に記載のチェーンシャッフルリングキャンペーンによって得られた全てのカッパ軽鎖含有クローンに保持されていたため、この潜在的な脱アミド化部位は、クローン G1/887\_04\_E12、G1/894\_08\_A05、G1/894\_08\_E05、及び G1/887\_04\_G12 にも存在した。

生殖細胞系列配列に最も近い特定のプライマーを使用して、4 つのカッパ軽鎖含有クローンにおいて、NSNT (配列番号 6) 配列は、部位特異的変異導入法により、GGST (配列番号 7)、SGGT (配列番号 5) 又は SGNA (配列番号 8) のいずれかに変化して、表 8 で特定される変異体クローンを産生した。この潜在的な脱アミド化部位を除去すると同時に、カッパ軽鎖シャッフル中にこの抗体の配列に意図せず導入された、G1/887\_04\_E12 クローンの VH 領域内の Kabat 位 28 のプロリン残基の役割は、G1/280\_02\_G02\_NS クローンに含まれるスレオニン残基に戻すことによっても調査された。親及び得られた変異体クローン (全て IgG1 形式) を 0.8 ml スケールでトランスフェクトし、トランスフェクションの 5 日後に回収した培養上清を使用して、SPR によるヒト及びカニクイザル PD-L1 - rCD4-His に対するクローンの親和性を決定した。Cyno PD-L1 - rCD4-His を実施例 1.1 で記載されているように生成した G1/887\_04\_E12 クローンに由来する変異体クローンを除いて、全ての変異体クローンは、それぞれの親クローンと比較して、ヒト及びカニクイザル PD-L1 に対するナノモル濃度以下の親和性を保持していた (表 8 参照)。 30

#### 【0270】

10

20

30

40

50

【表 8】

表 8.

クローン ID	H-CDR2 (54-57 位) “NSNT”モチーフ又は 生殖細胞系列(GGST、 SGGT、又は SGNA)	H-CDR1 プロリン (28 位)	hPDL1 $K_D$ (nM)	cPDL1 $K_D$ (nM)
G1/280_02_G02_NS	-	-	1.20	1.80
G1/887_04_E12 (親)	NSNT (配列番号 6)	+	0.21	0.25
G1/929_01_A01	GGST (配列番号 7)	-	2.66	3.18
G1/929_01_A02	SGGT (配列番号 5)	-	3.07	3.64
G1/929_01_A03	SGNA (配列番号 8)	-	2.66	3.31
G1/894_08_A05 (親)	NSNT (配列番号 6)	-	0.42	0.57
G1/929_01_A04	GGST (配列番号 7)	-	0.47	0.60
G1/929_01_A05	SGGT (配列番号 5)	-	0.55	0.62
G1/929_01_A06	SGNA (配列番号 8)	-	0.45	0.58
G1/894_08_E05 (親)	NSNT (配列番号 6)	-	0.48	0.59
G1/929_01_A07	GGST (配列番号 7)	-	0.47	0.59
G1/929_01_A08	SGGT (配列番号 5)	-	0.50	0.65
G1/929_01_A09	SGNA (配列番号 8)	-	0.49	0.57
G1/887_04_G12 (親)	NSNT (配列番号 6)	-	0.36	0.50
G1/929_01_A10	GGST (配列番号 7)	-	0.42	0.60
G1/929_01_A11	SGGT (配列番号 5)	-	0.51	0.57
G1/929_01_A12	SGNA (配列番号 8)	-	0.51	0.66

10

20

30

40

## 【0271】

親 (G1/887\_04\_E12) と比較して G1/929\_01\_A01、G1/929\_01\_A02、及び G1/929\_01\_A03 クローンの親和性が大幅に低下したのは、H-CDR2 における GST (配列番号 7)、SGT (配列番号 5) 及び SGNA (配列番号 8) の置換の存在よりも、Kabat 位 28 における VH 領域のプロリンが除去に起因する可能性が高いと考えられた。G1/887\_04\_E12 クローン内のこのプロリン残基が PDL-L1 に対する親和性について重要であるように見えたことは驚くべきことであった。H-CDR2 (54 ~ 57 位) における SGT (配列番号 5) 置換を含む 3 つの親クローン G1/887\_04\_E12、G1/894\_08\_E05 及び G1/887\_04\_G12 に由来する変異体、すなわちクローン G1/929\_01\_A02

50

、G1/929\_01\_A08及びG1/929\_01\_A11は、このSGGT（配列番号5）置換が生殖細胞系列配列に最も近いことに基づいて、さらなる特性評価のために選択された。

#### 【0272】

部位特異的変異導入を使用して、G1/280\_02\_G02\_NSクローンのH-CDR2ループ内の潜在的な脱アミド化部位（Kabat位54から57のNSNT（配列番号6））もSGGT（配列番号5）へと修飾された。さらに、このクローンのラムダ軽鎖のCDR1におけるKabat位31から32で特定される、さらなる潜在的な脱アミド化部位（NSモチーフ）は、IGLV2-8-01、IGLV2-8-02、IGLV2-8-03、IGLV2-11-01、IGLV2-11-02、IGLV2-11-03及びIGLV2-14-01、IGLV2-14-02、IGLV2-14-03、IGLV2-14-04などのいくつかの生殖細胞系列配列におけるこの位置にチロシンが見られるように、セリン32（Kabat番号付け）をチロシンに変異させることによってNYへと修飾された。これらの修飾の組み合わせにより、ラムダ軽鎖含有クローンG1/lambdaV3が得られ、これもさらなる特性評価のために選択された。10

#### 【0273】

実施例5：mAb/mAb<sup>2</sup>の特性評価

##### 5.1 mAb及びmAb<sup>2</sup>形式のクローニング及びクローンの產生

実施例4で同定されたG1/929\_01\_A02「SGGT」変異体クローンのVH領域のKabat位28のスレオニン残基を、ヒト及びカニクイザルPD-L1に対する親和性を改善する目的で、親クローンG1/887\_04\_E12の同じ位置に存在するようにプロリンに変異させた。HEK293-6E細胞における一過性発現及びmAb Select SuReタンパク質Aカラムを使用した精製を使用して、この修飾された変異体クローン、及び実施例4においてIgG1形式及びLALA変異で同定された他の3つの「SGGT」変異体クローン（G1/929\_01\_A08、G1/929\_01\_A11、及びG1/lambdaV3）を产生し、エフェクター機能が非存在下の場合の機能的活性の試験を可能にした。得られたmAbは、G1AA/E12v2、G1AA/E05v2、G1AA/G12v2及びG1AA/lambdaV3と指定された。重鎖及び軽鎖配列は、それぞれG1AA/E12v2につき配列番号47及び配列番号48、G1AA/G12v2につき配列番号49及び配列番号50、G1AA/E05v2につき配列番号51及び配列番号52、及びG1AA/lambdaV3につき配列番号61及び配列番号62に示されている。20

#### 【0274】

mAbのCDRに基づく抗原結合部位は、mAb<sup>2</sup>と呼ばれる二重特異性抗体を提供するために、定常ドメインで生成されたFcabc（フラグメント結晶化抗原結合）部分と組み合わせることができる。30

#### 【0275】

本発明の抗PD-L1抗体は、ヒトPD-L1につきそれらの特異性を試験するために、抗CD137/抗PD-L1 mAb<sup>2</sup>形式で产生した。mAb<sup>2</sup>は、重鎖を持つIgG1 LALA形式で产生され、重鎖は、Fcabc部分のCH3ドメインに抗ヒトCD137結合部位を有し、抗PD-L1 mAbクローンのG1AA/E12v2、G1AA/E05v2、G1AA/G12v2又はG1AA/lambdaV3からのVHドメインを有する。mAb<sup>2</sup>を生成するために、重鎖を抗PD-L1 mAbの対応する軽鎖と同時トランスフェクトした。mAb<sup>2</sup>は、HEK293-6E細胞において一過性発現により产生され、mAb Select SuReプロテインAカラムを使用して精製されて、クローンFS22-172-003AA/E12v2、FS22-172-003AA/G12v2、FS22-172-003AA/E05v2及びFS22-172-003AA/lambdaV3が得られた。重鎖及び軽鎖配列は、それぞれFS22-172-003AA/E12v2につき配列番号85及び配列番号86、FS22-172-003AA/G12v2につき配列番号87及び配列番号88、FS22-172-003AA/E05v2につき配列番号89及び配列番号90、及びFS22-172-003AA/lambdaV3につき配列番号91及び配列番号92に示されている。40

#### 【0276】

##### 5.2 ヒト及びカニクイザルPD-L1に対するmAbの親和性

G1AA/lambdaV3（すなわち、VH-CDR2におけるNSNT（配列番号6）からS

10

20

30

40

50

G G T (配列番号 5)、V L - C D R 1におけるN SからN Y、及びL A L A変異)及びカッパ軽鎖含有m A bのG1AA/E12v2、G1AA/E05v2及びG1AA/G12v2(すなわち、L A L A変異、及びG1AA/E12v2単独、V H領域におけるKabat位28のスレオニンからプロリン)に存在するさらなる配列修飾が結合動力学に影響を及ぼすかどうかを決定するために、実施例3.2に記載のように、ヒト及びカニクイザルP D - L 1についてこれらの抗P D - L 1 m A bの親和性が決定された。m A bのG1AA/lamda v3、G1AA/E05v2、G1AA/E12v2、及びG1AA/G12v2は、m A b G1AA/280\_02\_G02\_NS、G1/894\_08\_E05、G1/887\_04\_E12及びG1/887\_04\_G12について実施例3.2(表4)で観察されたそれらと同様のヒト及びカニクイザルP D - L 1についての親和性を示し、試験されたm A b及びm A b<sup>2</sup>の結合親和性は、潜在的な脱アミノ化部位の修飾又はL A L A変異の導入により影響を受けなかったことが実証された。G1AA/E12v2 m A bは、試験した4つのm A b全ての中で最低のK<sub>D</sub>値を示した(ヒトP D - L 1では0.21nM、カニクイザルP D - L 1では0.37nM)。

#### 【0277】

G1AA/E12v2のV Hは、G1/929\_01\_A02(実施例4、表8)のV Hと1残基異なり、G1AA/E12v2はKabat位28にプロリンを保持するが、G1/929\_01\_A02はこの位置にスレオニンを保持する。G1/929\_01\_A02は、G1AA/E12v2と比較した場合、ヒト及びカニクイザルP D - L 1の両方に対して10倍を超える低い親和性を示した。このデータは、クローンG1AA/E12v2のV Hにおける28位(Kabat命名法)のプロリン残基が、ヒト及びカニクイザルP D - L 1に対する親和性に重要であることを示す。

#### 【0278】

#### 【表9】

表9.

mAb	ヒト P D - L 1 - His K <sub>D</sub> (nM)	カニクイザル P D - L 1 - His K <sub>D</sub> (nM)
G1AA/lambdav3	1.34	2.45
G1AA/E05v2	0.50	0.89
G1AA/E12v2	0.21	0.37
G1AA/G12v2	0.44	0.75

#### 【0279】

##### 5.3 P D - L 1 ファミリーメンバーの特異性

P D - L 1は、免疫チェックポイント調節因子のB7相同性ファミリーに属する(Ni and Dong, 2017)。m A b<sup>2</sup>クローンFS22-172-003AA/lambdav3、FS22-172-003A A/E05v2、FS22-172-003AA/E12v2及びFS22-172-003AA G12v2の抗P D - L 1のF abアームの特異性を分析するために、密接に関連するファミリーメンバーへそれらが結合する能力を、S P Rを使用して試験した。この目的は、1 μMの濃度で密接に関連する抗原へのm A b<sup>2</sup>の結合を示さないが、1 nMの濃度でP D - L 1受容体への結合を示すことによって特異性を示すことであった。

#### 【0280】

C M 5チップ上のフローセルは、およそ1 0 0 0 R UのヒトP D - L 2 - F c(R&D Biosystems、1224-PL)、C D 8 0 - F c(R&D Biosystems、140-B1)、P D - 1 - His(R&D Biosystems、8986-PD)、B 7 - H 3 - H i s(F-star自社生産)、P D - L 1 - F c(R&D Biosystems、156-B7)又はP D - L 1 - H i s(Acrobiosystems、PD1-H83F3)のいずれかで固定された。フローセル1はブランク固定として実行された。m A b<sup>2</sup>は、1 × H B S - E P緩衝液で1 μM及び1 nM(GE Healthcare、製品コードBR100188)に希釈し、3分間チップ上に流動させ、次いで4分間解離させた。

10

20

30

40

50

再生のために、10 mMグリシン pH 1.5の30秒注入を使用した。各抗原のコーティングを実証するために、陽性対照mAbを50~100 nMで注入した。結合レベルは、会合フェーズの終わりに決定され、比較された。

#### 【0281】

試験した全てのmAb<sup>2</sup>クローニーは、高レベルの特異性を示し、ヒトPD-L1-Fc又はPD-L1-Hisのいずれかに結合するために、1 nMで検出された結合応答の105 RUから570 RUの範囲に対し、1 μMで検出された4つの抗原に結合するmAb<sup>2</sup>は10 RU未満であった。これらの結果は、PD-L1に対するFabアームの特異性が、潜在的な脱アミノ化部位を除去するためにCDRに加えられた修飾にかかわらず保持され、LALA変異の導入及びmAb<sup>2</sup>形式におけるFabの産生はPD-L1へのそれらの結合に影響されないことを示した。

#### 【0282】

##### 5.4 MLRにおける抗ヒトPD-L1 mAbの活性

抗PD-L1 mAbのG1AA/E05v2、G1AA/E12v2、及びG1AA/G05v2は、実施例3.4に記載されているように混合リンパ球反応（MLR）アッセイで試験された。G1AA/4420を陰性対照として使用した。データを表10及び図4に示す。mAbのG1AA/E05v2、G1AA/E12v2及びG1AA/G12v2は、0.054 nM未満のEC<sub>50</sub>及び600 pg/mlを超えるIFN-γの最大レベル（Emax）のMLRアッセイにおいて強力な活性を示した（表10、図4）。EC<sub>50</sub>、特にEmax値は、例3.4で記載した値とは顕著に異なっていた。応答は、あるドナーからのT細胞及び別のドナーからの単球由来樹状細胞との間の同種反応に依存するため、この違いはドナーのばらつきによるものと考えられている。抗ヒトPD-L1 mAbの効力は、クローニーの効力の順序にランク付けしたのと同様に、実施例3.4に記載されたデータと一致していた。予想通り、陰性対照G1AA/4420 mAbの活性は観察されなかった。

#### 【0283】

##### 【表10】

表10.

クローニー	MLR アッセイにおける機能的活性	
	EC <sub>50</sub> (nM)	Emax (pg/ml)
G1AA/E05v2	0.047	632
G1AA/E12v2	0.054	666
G1AA/G12v2	0.040	686
G1AA/4420 陰性対照	活性なし	

#### 【0284】

##### 5.5 抗PD-L1 mAbの発現、精製及び分析特性

mAbのG1AA/E05v2、G1AA/E12v2、及びG1AA/G12v2はラボスケールで產生され、SEC及び示差走査熱量測定（DSC）の標準的な分析方法によって特徴付けられた。

#### 【0285】

##### 5.5.1 ラボスケールでの抗PD-L1 mAbの発現及び精製

mAbのG1AA/E05v2、G1AA/E12v2、及びG1AA/G12v2をコードするDNA配列を、PEIpro（Polyplus、フランス）を使用してHEK293 6E（カナダ国立研究評議会（National Research Council Canada））細胞にトランスフェクトした。5日後、細胞培養液を回収し、AKTAxpress機器を使用してMabSelectプロテイン-Aプレパックカラム（両方GE Healthcare、ウプサラ（Uppsala）、スウェーデン）で精製した。カラムの平衡化は、50 mM Tris、pH 7.0の250 mM NaCl、で行い、その後、回収した細胞培養液をロードした。樹脂を50 mM Tris、pH 7.0の250 mM

10

20

30

40

50

NaClを使用して洗浄し、続いてpH3.5未満の緩衝液を使用してmAbを溶出した。

【0286】

5.5.2 SE-UPLCによる分析

精製後のSE-UPLCは、Acuity H-Class Bio UPLC (Waters Corp、UK)を使用して、単量体の割合を測定するために精製から24時間以内に実施した(材料は4で保存した)。Acuity UPLC BEH200 SEC 1.7mmカラム(4.6×150mm)を使用し、移動相は、250mMリン酸ナトリウム、100mM L-アルギニン、pH6.8で構成されていた。単量体、低分子量及び高分子量種の定量化は、Empowerソフトウェア(Waters Corp、UK)を使用して実行された。

【0287】

5.5.3 熱安定性

G1AA/E05v2、G1AA/E12v2、及びG1AA/G12v2の融解温度(T<sub>m</sub>)は、Microcal VPキヤピラリー示差走査熱量計(DSC)を使用して測定した。G1AA/lambdav3は、カツバ軽鎖含有mAb及びラムダ軽鎖含有mAbの違いを評価するために含まれていた。サンプルは、サンプル緩衝液中、0.2mg/mlの濃度で測定された。スキャン速度は60/時間に設定され、データは35から100の間で収集された。データ分析は、Origin7.0ソフトウェアを使用して実行された。Fab及びCH3のDSCピークが重複していたため、1つの値が報告された。

【0288】

【表11】

表11.

mAb	タンパク質A後の 単量体純度%	Fab/CH3のTm
G1AA/E05v2	99.48 ± 0.01%	80.4~82.8°C
G1AA/E12v2	98.85 ± 0.07%	81.4~84.1°C
G1AA/G12v2	99.83 ± 0.11%	78.1~81.3°C
G1AA/lambdav3	99.75 ± 0.25%	68.1°C

【0289】

結果の概要を表11に示す。3つのmAb: G1AA/E05v2、G1AA/E12v2、及びG1AA/G12v2は、良好な分析特性パラメーターを示した。タンパク質A後の単量体純度は98%を超える。Fab遷移の熱安定性(T<sub>m</sub>)は、IgG1について典型的に報告される遷移の上端で確認され、G1AA/E12v2が最も熱的に安定しているように見えた(Fab/CH3 T<sub>m</sub> = 81.4~84.1)。ラムダ軽鎖mAbのG1AA/lambdav3は、3つのカツバ軽鎖含有mAbよりもT<sub>m</sub>が低かった。

【0290】

参考文献

Bedzyk WD, Johnson LS, Riordan GS, Voss EW Jr. Comparison of variable region primary structures within an anti-fluorescein idiotype family. J. Biol. Chem. 264(3), 1565-69 (1989).

Bedzyk WD, Weidner KM, Denzin LK, Johnson LS, Hardman KD, Pantoliano M W, Asel ED, Voss EW Jr. Immunological and structural characterization of a high affinity anti-fluorescein single-chain antibody. J Biol Chem. 265(30), 186

10

20

30

40

50

15-20 (1990).

Brown MH, Barclay AN. Expression of immunoglobulin and scavenger receptor superfamily domains as chimeric proteins with domains 3 and 4 of CD4 for ligand analysis. *Protein Eng.* 7(4), 515-21 (1994).

Bruhns P, Iannascoli B, England P, Mancardi DA, Fernandez N, Jorieux S, Daeron M. Specificity and affinity of human Fc receptors and their polymorphic variants for human IgG subclasses. *Blood* 113(16), 3716-25 (2009).

Chapple SD, Crofts AM, Shadbolt SP, McCafferty J, Dyson MR. Multiplexed expression and screening for recombinant protein production in mammalian cells. *BMC Biotechnol.* 6:49 (2006).

Curran MA, Montalvo W, Yagita H, Allison JP. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107(9), 4275-80 (2010).

Deng R, Bumbaca D, Pastuskovalas CV, Boswell CA, West D, Cowan KJ, Chiu H, McBride J, Johnson C, Xin Y, Koeppen H, Leabman M and Iyer S. Preclinical pharmacokinetics, pharmacodynamics, tissue distribution, and tumor penetration of anti-PD-L1 monoclonal antibody, an immune checkpoint inhibitor. *MAbs* 8(3), 593-603 (2016).

Dyson MR, Zheng Y, Zhang C, Colwill K, Pershad K, Kay BK, Pawson T, McCafferty J: Mapping protein interactions by combining antibody affinity maturation and mass spectrometry. *Anal. Biochem.* 417(1), 25-35 (2011).

Grosso J, Inzunza D, Wu Q, Simon J, Singh P, Zhang X, Phillips T, Simmons P, Cogswell J. Programmed death-ligand 1 (PD-L1) expression in various tumor types. *J. Immunother Cancer.* 1(Suppl 1), 53 (2013).

Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, Fine GD, Hamid O, Gordon MS, Sosman JA, McDermott DF, Powderly JD, Gettinger SN, Kohrt HE, Horn L, Lawrence DP, Rost S, Leabman M, Xiao Y, Mokatrin A, Koeppen H, Hegde PS, Mellman I, Chen DS, Hodi FS. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 515(7528), 563-7 (2014).

Hezareh M, Hessell AJ, Jensen RC, van de Winkel JG, Parrish PW. Effector function activities of a panel of mutants of a broadly neutralizing antibody against human immunodeficiency virus type 1. *J. Virol.* 75(24), 12161-8 (2001).

Hu S, Shively L, Raubitschek A, Sherman M, Williams LE, Wong JY, Shively JE, Wu AM. Minibody: A novel engineered anti-carcinoembryonic antigen antibody fragment (single-chain Fv-CH3) which exhibits rapid, high-level targeting of xenografts. *Cancer Res.* 56(13), 3055-61 (1996).

Idusogie EE, Presta LG, Gazzano-Santoro H, Totpal K, Wong PY, Ultsch M, Meng YG, Mulkerrin MG. Mapping of the C1q binding site on rituxan, a chimeric antibody with a human IgG1 Fc. *J. Immunol.* 164(8), 4178-84 (2000).

Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, Okazaki T, Honjo T, Minato N. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99(19), 12293-7 (2002).

Jain T, Sun T, Durand S, Hall A, Houston NR, Nett JH, Sharkey B, Bobrowicz B, Caffry I, Yu Y, Cao Y, Lyraugh H, Brown M, Baruah H, Gray LT, Krauland EM, Xu Y, Vasquez M and Wittrup KD. Biophysical properties of the clinical-stage antibody landscape. *PNAS* 114 (5), 944-949 (2017).

Kabat EA, Wu TT, Perry HM, Gottesman KS, Foeller C. Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed. NIH Publication No. 91-3242. Washington, D.C.: U.S. Department of Health and Human Services (1991).

10

20

30

40

50

- Kontermann RE. Dual targeting strategies with bispecific antibodies. *MAbs* 4(2), 182-97 (2012).
- Klein C, Schaefer W, Regula JT. The use of CrossMAb technology for the generation of bi- and multispecific antibodies. *MAbs*. 8(6), 1010-20 (2016).
- Larkin J, Hodi FS, Wolchok JD. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med.* 373(13), 1270-1 (2015).
- Lefranc MP, Pommie C, Kaas Q, Duprat E, Bosc N, Guiraudou D, Jean C, Ruiz M, Da Piedade I, Rouard M, Foulquier E, Thouvenin V, Lefranc G. IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor constant domains and Ig superfamily C-like domains. *Dev. Comp. Immunol.* 29(3), 185-203 (2005). 10
- Martin CD, Rojas G, Mitchell JN, Vincent KJ, Wu J, McCafferty J, Schofield DJ. A simple vector system to improve performance and utilisation of recombinant antibodies. *BMC Biotechnol.* 6, 46 (2006).
- Ni L, Dong C. New B7 family checkpoints in human cancers. *Mol. Cancer Ther.* 16(7), 1203-11 (2017).
- Powles T, Eder JP, Fine GD, Braiteh FS, Loriot Y, Cruz C, Bellmunt J, Burris H A, Petrylak DP, Teng SL, Shen X, Boyd Z, Hegde PS, Chen DS, Vogelzang NJ. M PDL3280A (anti-PD-L1) treatment leads to clinical activity in metastatic bladder cancer. *Nature* 515(7528), 558-62 (2014).
- Rao M, Valentini D, Dodoo E, Zumla A, Maeurer M. Anti-PD-1/PD-L1 therapy for infectious diseases: learning from the cancer paradigm. *Int. J. Infect. Dis.* 56, 221-228 (2017). 20
- Schofield DJ, Pope AR, Clementel V, Buckell J, Chapple SDj, Clarke KF, Conquer JS, Crofts AM, Crowther SR, Dyson MR, Flack G, Griffin GJ, Hooks Y, Howat WJ, Kolb-Kokocinski A, Kunze S, Martin CD, Maslen GL, Mitchell JN, O'Sullivan M, Perera RL, Roake W, Shadbolt SP, Vincent KJ, Warford A, Wilson WE, Xie J, Young JL, McCafferty J. Application of phage display to high throughput antibody generation and characterization. *Genome Biol.* 8(11), R254 (2007).
- Spiess C, Zhai Q, Carter PJ. Alternative molecular formats and therapeutic applications for bispecific antibodies. *Mol. Immunol.* 67(2 Pt A), 95-106 (2015). 30
- Studier FW. Protein production by auto-induction in high density shaking cultures. *Protein Expr. Purif.* 41(1), 207-34 (2005).
- Wang X, Mathieu M, Brezski RJ. IgG Fc engineering to modulate antibody effector functions. *Protein Cell.* 9(1), 63-73 (2018).
- Wolchok JD, Kluger H, Callahan MK, Postow MA, Rizvi NA, Lesokhin AM, Segal NH, Ariyan CE, Gordon RA, Reed K, Burke MM, Caldwell A, et al. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N. Engl. J. Med.* 369(2), 122-33 (2013).
- Wykes MN, Lewin SR. Immune checkpoint blockade in infectious diseases. *Nat. Rev. Immunol.* 18(2), 91-104 (2017).

【0291】

40

配列表情報

抗体配列

注記：

i . 完全重鎖、可変ドメインはイタリック体で示され、Kabatスキームに従うCDRはイタリック体且つ下線で示され、IMGTスキームに従うCDRは太字のイタリック体で示され、したがって、重複するIMGT及びKabat CDR配列は太字、イタリック体、且つ下線で示され、該当する場合、LAGA変異の位置は太字且つ下線で示される。

ii . 完全重鎖のアミノ酸及びcDNA配列は、任意選択によるC末端のリジンなしで提供される。

iii . 完全軽鎖、可変ドメインはイタリック体で示され、Kabatスキームに従うCD

50

Rはイタリック体且つ下線で示され、IMGTスキームに従うCDRは太字のイタリック体で示され、したがって、重複するIMGT及びKabat CDR配列は太字、イタリック体、且つ下線で示される。

i v . 可変ドメインのアミノ酸配列において、Kabatスキームに従うCDRはイタリック体且つ下線で示され、IMGTスキームに従うCDRは太字のイタリック体で示され、したがって、重複するIMGT及びKabat CDR配列は太字、イタリック体、且つ下線で示される。

v . Kabatスキーム及びIMGTスキームの両方に従うCDRアミノ酸配列が提供される。

【0292】

10

20

30

40

50

## 【表 1 2】

G1/280\_02\_G02 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 65)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNGNTNYAQKLOGRVTMTTDSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGVYYYYWQGTLTVSSASTKGPSVF</u> PLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>	10
重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 93)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNGNTNYAQKLOGRVTMTTDSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGVYYYYWQGTLTVSSASTKGPSVF</u> PLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCPAPE<u>AAGGPSVFLFPKPKDTLMIS</u> RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>	20
VH ドメイン AA (配列番号 45)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNGNTNYAQKLOGRVTMTTDSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGVYYYYWQGTLTVSS</u></i>	30
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG	
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS	
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 95)	ISAYNGNT	
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 78)	WISAYNGNTNYAQKLQG	40

## 【 0 2 9 3 】

【表 1 3】

HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSY <sup>YYYY</sup>
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSY <sup>YYYY</sup>
軽鎖 AA (配列番号 66)	<i>QSALTQPASVSGSPGQSITIS<u>CTGTSSDVGGYNSVSWYQQFPGKA</u> <u>PKLMIFEVTNRPSGVSDRFSGSKSDNTASLTISGLQAEDEAEYYCS</u> <u>SFKRGSTLVVFGGGTKLTVLGQPAAPSVTLFPPSSEELQANK</u> ATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS</i>
VL ドメイン AA (配列番号 46)	<i>QSALTQPASVSGSPGQSITIS<u>CTGTSSDVGGYNSVSWYQQFPGKA</u> <u>PKLMIFEVTNRPSGVSDRFSGSKSDNTASLTISGLQAEDEAEYYCS</u> <u>SFKRGSTLVVFGGGTKLTVL</u></i>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 96)	SSDVGGYNS
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 26)	TGTSSDVGGYNSVS
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 77)	EVT
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 13)	EVTNRPS
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 14)	SSF <b>KRGSTLVV</b>
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 14)	SSF <b>KRGSTLVV</b>

【0 2 9 4】

10

20

30

40

50

【表 1 4】

G1/280\_02\_G02\_NS の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 63)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNSNTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGVYYYYWQGTLTVSSASTKGPSVF</u> PLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>	10
重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 97)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNSNTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGVYYYYWQGTLTVSSASTKGPSVF</u> PLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCPAPE<u>AAGGPSVFLFPKPKDTLMIS</u> RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>	20
VH ドメイン AA (配列番号 43)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNSNTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGVYYYYWQGTLTVSS</u></i>	30
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG	
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS	
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 98)	ISAYNSNT	
HCDR2 (AA) Kabat) (配列番号 23)	WISAYNSNTNYAQKLQG	40

【 0 2 9 5 】

【表 15】

HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSVYYYY
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSVYYYY
軽鎖 AA (配列番号 64)	<i>QSALTQPASVSGSPGQSITIS<u>CTGTSSDVGGYNSVSWYQQFPKGKA</u> <u>PKLMIFEVTNRPSGVSDRFSGSKSDNTASLTISGLQAEDEAEYYCS</u> <u>SFKRGSTLVVFGGGTLTVLGQPAAPSVTLPFPPSSEELQANK</u> ATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS</i>
VL ドメイン AA (配列番号 44)	<i>QSALTQPASVSGSPGQSITIS<u>CTGTSSDVGGYNSVSWYQQFPKGKA</u> <u>PKLMIFEVTNRPSGVSDRFSGSKSDNTASLTISGLQAEDEAEYYCS</u> <u>SFKRGSTLVVFGGGTLTVL</u></i>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 96)	SSDVGGYNS
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 26)	TGTSSDVGGYNSVS
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 77)	EVT
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 13)	EVTNRPS
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 14)	SSFKRGSTLVV
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 14)	SSFKRGSTLVV

【0296】

10

20

30

40

50

## 【表 1 6】

G1/894\_08\_E05 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 57)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTS<u>YGISWVRQAPGQG</u> LEWMG<u>WISAYNSNTNYAOKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS</u> <u>DDTAVYYCARDLFPTIFGVSYWWGQGTLTVSSASTKGPSVF</u> PLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNKHPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCPAPE<u>AAGGPSVFLFPKPKDTLMIS</u> RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 99)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTS<u>YGISWVRQAPGQG</u> LEWMG<u>WISAYNSNTNYAOKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS</u> <u>DDTAVYYCARDLFPTIFGVSYWWGQGTLTVSSASTKGPSVF</u> PLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNKHPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCPAPE<u>AAGGPSVFLFPKPKDTLMIS</u> RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
VH ドメイン AA (配列番号 37)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTS<u>YGISWVRQAPGQG</u> LEWMG<u>WISAYNSNTNYAOKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS</u> <u>DDTAVYYCARDLFPTIFGVSYWWGQGTLTVSS</u></i>
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 98)	ISAYNSNT
HCDR2 (AA) Kabat) (配列番号 23)	WISAYNSNTNYAQKLQG

10

20

30

40

## 【 0 2 9 7 】

【表 17】

HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSY <del>YYYY</del>
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSY <del>YYYY</del>
軽鎖 AA (配列番号 58)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITC<u>RASOSISGRLAWYQQKPGKAPN</u> <u>LLIYEASNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC<u>OOSY</u></u></i> <b><u>STPRVTFGQGTKVEIKRTAAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC</u></b> LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTL SKADYEKHLYACEVTHQGLSSPVT KSFNR GEC
VL ドメイン AA (配列番号 38)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITC<u>RASOSISGRLAWYQQKPGKAPN</u> <u>LLIYEASNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC<u>OOSY</u></u></i> <b><u>STPRVTFGQGTKVEIK</u></b>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 71)	EAS
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 22)	QQSYSTPRVT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 22)	QQSYSTPRVT

【0298】

10

20

30

40

50

【表 18】

G1/887\_04\_E12 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 53)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNSNTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGV</u>YYYYWQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSQLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCPAPE<u>AAGGPSVFLFPKPKDTLMIS</u> RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>	10
重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 101)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNSNTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGV</u>YYYYWQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSQLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCPAPE<u>AAGGPSVFLFPKPKDTLMIS</u> RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>	20
VH ドメイン AA (配列番号 33)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNSNTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGV</u>YYYYWQGTLTVSS</i>	30
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 102)	GYPFTSYG	
HCDR1 (AA) (Kabat)	SYGIS	
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 98)	ISAYNSNT	
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 23)	WISAYNSNTNYAQKLQG	40

【 0 2 9 9 】

【表 19】

HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSVYYYY
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSVYYYY
軽鎖 AA (配列番号 54)	<i>DIQMTQSPSTLSASVRDRVITCRASQSIGNRLAWYQHKPGKAPKL LIYE<u>EASTSET</u>GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC<u>OOSYS</u> <u>TPYTFGQGTKLEIK</u>RATAAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSST LTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</i>
VL ドメイン AA (配列番号 34)	<i>DIQMTQSPSTLSASVRDRVITCRASQSIGNRLAWYQHKPGKAPKL LIYE<u>EASTSET</u>GVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC<u>OOSYS</u> <u>TPYTFGQGTKLEIK</u></i>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 103)	QSIGNR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 15)	RASQSIGNRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 71)	EAS
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 16)	EASTSET
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 17)	QQSYSTPYT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 17)	QQSYSTPYT

【0300】

10

20

30

40

50

## 【表 20】

G1/887\_04\_G12 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 55)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNSNTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGV</u>YYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAA<u>L</u>GLCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 104)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNSNTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGV</u>YYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAA<u>L</u>GLCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCPAPE<u>A</u>AGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
VH ドメイン AA (配列番号 35)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNSNTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGV</u>YYYYWGQGTLTVSS</i>
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat)	SYGIS
(配列番号 1)	
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 98)	ISAYNSNT
HCDR2 (AA) Kabat) (配列番号 23)	WISAYNSNTNYAQKLQG

10

20

30

40

## 【0301】

【表 2 1】

HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSVYYYY
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSVYYYY
軽鎖 AA (配列番号 56)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCRAS<u>QSISGR</u>LA<u>WYQQKPGKAPN</u> <u>LLIYEASNL</u>E<u>SGVPSRFSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC<u>OOSY</u></u></i> <i><u>SWPRTFGQG</u>TKVEIKRTAAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL</i> LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKL <sup>Y</sup> ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
VL ドメイン AA (配列番号 36)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCRAS<u>QSISGR</u>LA<u>WYQQKPGKAPN</u> <u>LLIYEASNL</u>E<u>SGVPSRFSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC<u>OOSY</u></u></i> <i><u>SWPRTFGQG</u>TKVEIK</i>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 77)	EASN
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 21)	QQSYSWPRT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 21)	QQSYSWPRT

【0 3 0 2】

10

20

30

40

50

## 【表 2 2】

G1/894\_08\_A05 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 59)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNSNTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGV</u>SYYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCPAPE<u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS</u> RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>	10
重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 105)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNSNTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGV</u>SYYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCPAPE<u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS</u> RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>	20
VH ドメイン AA (配列番号 39)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNSNTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGV</u>SYYYYWGQGTLTVSS</i>	30
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG	
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS	
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 98)	ISAYNSNT	
HCDR2 (AA) Kabat) (配列番号 23)	WISAYNSNTNYAQKLQG	40

## 【 0 3 0 3 】

【表 2 3】

HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSY <del>YYYY</del>
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSY <del>YYYY</del>
軽鎖 AA (配列番号 60)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIC<u>RASOSISGRLAWYQQKPGKAPN</u> <u>LLIYEASNLESGVPSRFSGSGTEFTLTINSLQPDDFATYYC<u>OOA</u></u></i> <i><u>NTFPRVSFGGGTKVEIKRTAAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV</u></i> CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHLYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
VL ドメイン AA (配列番号 40)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIC<u>RASOSISGRLAWYQQKPGKAPN</u> <u>LLIYEASNLESGVPSRFSGSGTEFTLTINSLQPDDFATYYC<u>OOA</u></u></i> <i><u>NTFPRVSFGGGTKVEIK</u></i>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 106)	EASN
LCDR2 (AA) Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 24)	QQANTFPRVS
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 24)	QQANTFPRVS

【0304】

10

20

30

40

50

## 【表 2 4】

## G1AA/E05v2 の重鎖及び軽鎖及び可変ドメインのアミノ酸及び cDNA 配列並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 107)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGV</u>YYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAA<u>LGCLVKDYFPEPVT</u>SWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSVVTVPS<u>SSLGTQTYICNVN</u>HKPSNTKV DKKVEPKSCDKTH<u>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD</u>TLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
----------------------------------	---

## 【 0 3 0 5 】

10

20

30

40

50

【表 25】

重鎖 DNA (LALA なし) (配列番号 108)	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCGGAGCCGAAGTCAAGAGGC CTGGAGCGTCCGTAAAGGTGTCTGCAAAGCCTCAGGATA CACCTCACTCGTACGGGATTCCCTGGTCCGCCAAGCAC CGGGTCAAGGCTTGGAGTGGATGGATGGATCAGCGCGTA TTCCGGGGAAACCAACTACGCTAAAAGCTGCAGGGTCGC GTGACCATGACCACCGATACTCCACCTCAACGCCCTACAT GGAAC TGAGATCTCTCGGGAGCGACGACACTGCCGTGTAC TACTGTGCCCGGGACCTGTTCCCCACTATCTCGGAGTGTC GTACTACTACTACTGGGCCAGGGACTCTCGTGACCGTGT CGAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTGGTCTCCGCTGGCC CCATCGTCCAAGAGCACATCAGGGGTACCGCCGCCCTGG GCTGCCTTGTGAAGGATTACTTCCCAGGCCGTACAGTG TCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCATACTT CCCGGCTGTGCTTCAGTCCTCTGGCCTGTACTCATTGTCCTC CGTGGTCACCGTCCCTCGTCCTCCCTGGCACCCAGACCT ATATCTGTAATGTCAACCATAAGCCCTGAACACCAAGGT GACAAGAAGGTCGAGCCGAAGTCGTGCGACAAGACTCACA CTTGCCCGCCTGCCAGCCCCGGAACTGCTGGTGGTCCT TCGGTGTCCCTCTCCGCCAAGCCGAAGGATAACCCTGAT GATCTCACGGACCCCCGAAGTGCACCTGTGTGGTGGAC TGGATGGAGTGGAAAGTGCACAACGCCAACAGCCACG GGAAGAACAGTACAACACTACCTACCGCGTGGTCCGTG CTCACTGTGCTGCACCAAGACTGGCTGAACGGGAAGGAGT ACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCCTGCCTGCCCAAT TGAGAAAATATCTGAAAGCCAAGGGACAGCCTCGAGAG CCTCAAGTGTACACCCCTGCCTCCCTCTGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAAGTCTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGATTCT ACCCATCGGATATGCCGTGGAATGGAAAGCAACGGACA GCCCGAGAACAACTACAAGACGACTCCGCCGTGGAT TCCGACGGGAGCTTCTTGTACTCCAAGCTGACCGTCGA CAAGAGCAGATGGCAGCAGGGAAACGTGTTCTCCTGCTCC GTGATGCATGAGGCCTGCACAACCAACTACACTCAGAAGA GCTTGTCCCTGTCGCCCGGA
	10
	20
	30
	40

【0306】

【表 2 6】

重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 51)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISMVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSYWWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
---------------------------------	--

【0307】

10

20

30

40

50

【表 2 7】

重鎖 DNA (LALA あり) (配列番号 109)	GAA GTGCAGCTGGTGCAGTCGGAGCCGAAGTCAAGAGGC CTGGAGCGTCCGTAAAGGTGTCTGCACAAAGCCTCAGGATA CACCTTCACTTCGTACGGGATTCCTGGTCCGCCAACGCAC CGGGTCAAGGCTTGGAGTGGATGGATGGATCAGCGCGTA TTCCGGGGAAACCAACTACGCTCAAAAGCTGCAGGGTCGC GTGACCATGACCACCGATA CCTCACCTCAACGGCCTACAT GGA ACTGAGATCTCTGCGGAGCGACGACACTGCCGTGTAC TACTGTGCCCGGGACCTGTTCCCCACTATCTCGGAGTGTC GTACTACTACTACTGGGGCCAGGGGACTCTCGTGACCGTGT CGAGCGCTAGCACTAAGGGCCCCTCGGTGTTCCCCTGGCC CCATCGTCCAAGAGCACATCAGGGGGTACCGCCGCCCTGG GCTGCCTTGTGAAGGATTACTTCCCAGGCCGTACAGTG TCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGACATACTT CCCGGCTGTGCTTCAGCCTCTGGCCTGTACTCATTGTCCTC CGTGGTCACCGTCCCTCGTCCTCCCTGGCACCCAGACCT ATATCTGTAATGTCAACCATAAGCCCTCGAACACCAAGGTC GACAAGAAGGTCGAGCCGAAGTCGTGCGACAAGACTCACA CTTGCCCGCCTTGCCTCAGCCCCGGAAAGCTGCCGGTGGTCC TCGGTGTCCCTTCCCCTCCAGCCGAAGCCGAAGGATACCTG GATCTCACGGACCCCCGAAGT GACCTGTGTGGTGGAC GTGTCACGAGGACCCGGAAAGT GAAATTCAATTGGTACG TGGATGGAGTGGAAAGTGCACAA CGCAAGACCAAGCCACG GGAAGAACAGTACAAC TCTACCTACCGCGTGGTGGTCCGT CTCACTGTGCTGCACCAAGACTGGCTGAACGGGAAGGAGT ACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAAGCGCTGCCTGCCCAAT TGAGAAAATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCTCGAGAG CCTCAAGTGTACACCCCTGCCTCCCTCGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAAGTCTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGATTCT ACCCATCGGATATGCCGTGGAATGGGAAAGCAACGGACA GCCCGAGAACAAACTACAAGACGACTCCGCCGTGCTGGAT TCCGACGGGAGCTTCTTGTACTCCAAGCTGACCGTCGA CAAGAGCAGATGGCAGCAGGGAAACGTGTTCTCCTGCTCC GTGATGCATGAGGCAGCTGCACAACCAACTACACTCAGAAGA GCTTGTCCCTGTCGCCCGGA
	10
	20
	30
	40

【0308】

【表 2 8】

VH ドメイン AA (配列番号 31)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAOKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSYWWGQGTLTVSS</i>
VH ドメイン DNA (配列番号 110)	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCGGAGCCGAAGTCAAGAGGC CTGGAGCGTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAAGCCTCAGGATA CACCTTCACTCGTACGGGATTCCTGGTCCGCCAAGCAC CGGGTCAAGGCTTGGAGTGGATGGATGGATCAGCGCGTA TTCCGGGGAAACCAACTACGCTAAAAGCTGCAGGGTCGC GTGACCATGACCACCGATAACCTCACCTAACGGCCTACAT GGAAGTGAGATCTCTGCAGGACGACACTGCCGTGTAC TACTGTGCCGGGACCTGTTCCCCACTATCTCGGAGTGTC GTACTACTACTACTGGGCCAGGGACTCTCGTACCGTGT CGAGC
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 111)	ISAYSGGT
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 18)	WISAYSGGTNYAQKLQG

10

20

30

【0309】

40

50

【表 2 9】

HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSVYYYY
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSVYYYY
軽鎖 AA (配列番号 52)	<p><i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITICRASOSISGRLAWYQQKPGKAPN</i></p> <p><i>LLIYEASNLESGVPSRFSGSGSTEFTLTISSLQPEDFATYYC</i><b><i>OOSY</i></b></p> <p><i>STPRVTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL</i></p> <p>LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS</p> <p>TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
軽鎖 DNA (配列番号 112)	<p>GACATTCAAGATGACCCAATCCCCGTCCACGCTGAGCGCCTC</p> <p>CGTCGGTGATCGCGTGACAATCACTGTGGCGTCGCAGT</p> <p>CCATCTCTGGAAGGCTGCCCTGGTACCAAGCAGAACGCTGG</p> <p>AAAGGCTCCAACCTCCTTATCTACGAAGCCAGAACCTGG</p> <p>AGTCCGGAGTAGCCTAGCCGGTTAGCGGATCAGGGTCCGG</p> <p>TACCGAGTTCACCCCTGACCATTCCCTCGCTCCAACCTGAGG</p> <p>ACTTCGCCACCTACTACTGCCAACAGTCCTATTCAACTCCG</p> <p>CGCGTGACCTCGGCCAGGGCACTAAGGTCGAAATCAAAA</p> <p>GAACCGTGGCAGCCCCATCGGTGTTATCTTCCGCCCTCG</p> <p>GACGAACAGCTGAAGTCAGGCAGTGCTAGCGTGGTCTGTCT</p> <p>CCTGAACAATTCTACCCCGCGAAGCTAAGGTCAGTGG</p> <p>AAGGTCGACAACCGCGCTGCAGTCCGGAAACAGCCAGGAGT</p> <p>CAGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACTTATTCCCTG</p> <p>TCCTCCACCCCTGACTTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGC</p> <p>ACAAAGTGTACGCCCTGCGAAGTGACCCATCAAGGGCTTTC</p> <p>GTCGCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCAGGGCGAATGC</p>
VL ドメイン AA (配列番号 32)	<p><i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITICRASOSISGRLAWYQQKPGKAPN</i></p> <p><i>LLIYEASNLESGVPSRFSGSGSTEFTLTISSLQPEDFATYYC</i><b><i>OOSY</i></b></p> <p><i>STPRVTFGQGTKVEIK</i></p>

【0310】

10

20

30

40

50

【表 3 0】

VL ドメイン DNA (配列番号 113)	GACATTAGATGACCCAATCCCCGTCCACGCTGAGCGCCTC CGTCGGTGATCGCGTGACAATCACTGTCGGCGTCGAGT CCATCTCTGGAAGGCTCGCCTGGTACCGAGCAGAACCTGG AAAGGCTCCAACCTCCTTATCTACGAAGCCAGCAACCTGG AGTCCGGAGTGCTAGCCGGTTAGCGGATCAGGGTCCGG TACCGAGTTCACCTGACCATTCCCTCGCTCCAACCTGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAACAGTCCTATTCAACTCCG CGCGTGACCTTCGGCCAGGGCACTAAGGTCGAAATCAA
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 71)	EAS
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 22)	QQSYSTPRVT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 22)	QQSYSTPRVT

【0311】

【表 3 1】

**G1AA/E12v2 の重鎖及び軽鎖及び可変ドメインのアミノ酸及び cDNA 配列並びに CDR のアミノ酸配列**

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 114)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYPFTS<u>Y</u>GISWVRQAPGQG LEWMGW<u>I</u>SAYSGGTNYAQ<u>K</u>LOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>D</u>LFP<u>T</u>IFGV<u>S</u>YYYWGQ<u>G</u>TLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYS<u>L</u>SSVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHCP<u>C</u>PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN<u>A</u>TKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISK AKGQP<u>P</u>REP<u>Q</u>VYTLPPSRDELTKN<u>Q</u>VS<u>L</u>TCLVK<u>G</u>FYPSDI<u>A</u>VE WESNGQ<u>P</u>ENNYK<u>T</u>TPVLD<u>S</u>DGSFFLYSKLTVD<u>K</u>SRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYT<u>Q</u>KS<u>L</u>SLSPG</i>
----------------------------------	---

10

20

30

40

50

【0312】

【表32】

重鎖DNA (LALAなし) (配列番号115)	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCGGAGCCGAAGTCAAGAGGC CTGGAGCGTCCGTAAAGGTGTCCCTGCAAAGCCTCAGGATA CCCCTCACTCGTACGGGATTCCTGGGTCCGCCAACGAC CGGGTCAAGGCTTGGAGTGGATGGATGGATCAGCGCGTA TTCCGGGGAAACCAACTACGCTCAAAAGCTGCAGGGTCGC GTGACCATGACCACCGATACTCCACCTCAACGGCCTACAT GGAACGTGAGATCTCTGCGGAGCGACGACACTGCCGTGTAC TACTGTGCCGGGACCTGTTCCCCACTATCTCGGAGTGTCT GTACTACTACTACTGGGCCAGGGACTCTCGTACCGTG CGAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTGGTGTCCCGCTGGCC CCATCGTCCAAGAGCACATCAGGGGTACGCCGCCCTGG GCTGCCTGTGAAGGATTACTTCCCAGGCCGTACAGTG TCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCATACTTT CCCGGCTGTGCTTCAGTCCTCTGGCCTGTACTCATTCCTC CGTGGTCACCGTCCCTCGTCCTCCCTGGCACCCAGACCT ATATCTGTAATGTCAACCATAAGCCCTCGAACACCAAGGTC GACAAGAAGGTCGAGCCGAAGTCGTGCGACAAGACTCACA CTTGCCCGCCTTGGCCAGCCCCGGAACTGCTGGTGGTCT TCGGTGTCCCTCTCCGCCAAGCCGAAGGATAACCTGAT GATCTCACGGACCCCCGAAGTGACCTGTGTGGTGGAC GTGTCCCACGAGGACCCGGAAGTGAATTCAATTGGTACG TGGATGGAGTGGAAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGGCCACG GGAAGAACAGTACAACCTACCTACCGCGTGGTGTCCGTG CTCACTGTGCTGCACCAAGACTGGCTGAACGGGAAGGAGT ACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCCTGCCTGCCCAAT TGAGAAAACATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCTCGAGAG CCTCAAGTGTACACCCCTGCCTCCCTCTGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAAGTCTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGATTCT ACCCATCGGATATGCCGTGGAATGGGAAAGCAACGGACA GCCCGAGAACAACTACAAGACGACTCCGCCGTGCTGGAT TCCGACGGGAGCTCTTGTACTCCAAGCTGACCGTCGA CAAGAGCAGATGGCAGCAGGGAAACGTGTTCTCCTGCTCC GTGATGCATGAGGCCTGCACAACCAACTACACTCAGAAGA GCTTGTCCCTGTCGCCCGGA
	10
	20
	30
	40

【0313】

## 【表 3 3】

重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 47)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAOKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSYWWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
---------------------------------	--

## 【0 3 1 4】

10

20

30

40

50

【表 3 4】

重鎖 DNA (LALA あり) (配列番号 116)	GAA GTGCAGCTGGTGCAGTCGGAGCCGAAGTCAAGAGGC CTGGAGCGTCCGTGAAGGTGTCTGCAAAGCCTCAGGATA CCCCTTCACTTCGTACGGATTCTGGTCCGCCAACGCAC CGGGTCAAGGCTTGGAGTGGATGGATGGATCAGCGCGTA TTCCGGGGAAACCAACTACGCTCAAAAGCTGCAGGGTCGC GTGACCATGACCACCGATACTCCACCTAACGGCCTACAT GGA ACTGAGATCTCTGCGGAGCGACGACACTGCCGTGTAC TACTGTGCCCGGGACCTGTTCCCCACTATCTCGGAGTGTC GTACTACTACTACTGGGGCCAGGGGACTCTCGTGACCGTGT CGAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTGGTGTCCCGCTGGCC CCATCGTCCAAGAGCACATCAGGGGGTACCGCCGCCCTGG GCTGCCTGTGAAGGATTACTTCCCAGGCCGTACAGTG TCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCATACTTT CCCGGCTGTGCTTCAGCCTCTGGCCTGTACTCATTCCTC CGTGGTCACCGTCCCTCGTCCTCCCTGGGCACCCAGACCT ATATCTGTAATGTCAACCATAAGCCCTCGAACACCCAAGGTC GACAAGAAGGTCGAGCCGAAGTCGTGCGACAAGACTCACA CTTGCCCGCCTGCCAGCCCCGGAAGCTGCCGGTGGTCCCT TCGGTGTCCCTTCCCAGCCGAAGCCGAAGGATACCGTGT GATCTCACGGACCCCCGAAGTGAACCTGTGTGGTGGAC GTGTCACGGAGGGACCCCGAAGTGAATTCAATTGGTACG TGGATGGAGTGGAAAGTGCACAACGCCAACAGCAAGCCACG GGAAGAACAGTACAACCTACCTACCGCGTGGTCCGTG CTCACTGTGCTGCACCAAGACTGGCTGAACGGGAAGGAGT ACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCCTGCCCTGCCCAAT TGAGAAAATATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCTCGAGAG CCTCAAGTGTACACCCCTGCCCTCTGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAAGTCTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGATTCT ACCCATCGGATATGCCGTGGAATGGGAAAGCAACGGACA GCCCGAGAACAAACTACAAGACGACTCCGCCGTGCTGGAT TCCGACGGGAGCTCTTGTACTCCAAGCTGACCGTCGA CAAGAGCAGATGGCAGCAGGGAAACGTGTTCTCCTGCTCC GTGATGCATGAGGCCTGCACAACCAACTACACTCAGAAGA GCTTGTCCCTGTCGCCCGGA
	10
	20
	30
	40

【0315】

【表 3 5】

VH ドメイン AA (配列番号 27)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAOKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSYYYYWGQGTLTVSS</i>
VH ドメイン DNA (配列番号 117)	GAAGTGCACTGGTGCAGTCGGAGCCGAAGTCAAGAGGC CTGGAGCGTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAAGCCTCAGGATA CCCCTCACTCGTACGGATTCTGGTCCGCCAACGAC CGGGTCAAGGCTGGAGTGGATGGATGGATCAGCGCGTA TTCCGGGGAAACCAACTACGCTCAAAAGCTGCAGGGTCGC GTGACCATGACCACCGATACTCCACCTCAACGGCCTACAT GGAAC TGAGATCTCTGCAGCGACACTGCCGTAC TACTGTGCCGGGACCTGTTCCCCACTATCTCGGAGTGT GTACTACTACTGGGCCAGGGACTCTCGTACCGTGT CGAGC
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 102)	GYPFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 111)	ISAYSGGT
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 18)	WISAYS GG TN YA QKLQG
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSYYYY
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSYYYY
軽鎖 AA (配列番号 48)	<i>DIQMTQSPSTLSASVRDRVIITCRASOSIGNRLAWYQHKPGKAPKL LIYEASTSETGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQOSYS TPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</i>

10

20

30

40

【0316】

【表 3 6】

軽鎖 DNA (配列番号 118)	GACATCCAGATGACGCAGAGCCCGTCTACCCTGTCCGCCTC CGTGAGAGATCGCGTGATCATCACCTGTGGGCCAGCCAG TCCATCGGAAACCGCTTGGCGTGGTACCAGCACAAGCCTG GGAAGGCTCCGAAGCTGCTCATCTACGAAGCCTCGACTTCG GAGACTGGTGTCCCTAGCCGGTTAGCGGATCGGGATCAG GGACCGATTCACTCTGACCATTCCCTCCCTGCAACCCGAG GACTTCGCCACCTACTACTGCCAACAGTCATATTCCACCCCC GTACACCTTCGGACAAGGCACCAAGCTCGAAATCAAGCGG ACTGTCGCCGCACCTCCGTGTTCATTTCCCACCCCTCCGAC GAACAGCTGAAATCGGGTACAGCTAGCGTGGTCTGTCTCCT GAACAATTCTACCCGCGCGAAGCTAAGGTCCAGTGGAAAG GTCGACAACGCGCTGCAGTCCGAAACAGCCAGGAGTCAG TGACCGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACTTATTCCCTGTCC TCCACCCCTGACTTTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACA AAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCATCAAGGGTTCGTCG CCCGTGACCAAGAGCTTCAACCAGGGCGAATGC
VL ドメイン AA (配列番号 28)	<i>DIQMTQSPSTLSASVRDRVITCRASOSIGNRLAWYQHKPGKAPKL</i> <i>LIYEASTSETGVPSRFSGSGSTDFLTISLQPEDFATYYCQOSYS</i> <b><i>TPYT</i></b> <i>FGQGTKLEIK</i>
VL ドメイン DNA (配列番号 119)	GACATCCAGATGACGCAGAGCCCGTCTACCCTGTCCGCCTC CGTGAGAGATCGCGTGATCATCACCTGTGGGCCAGCCAG TCCATCGGAAACCGCTTGGCGTGGTACCAGCACAAGCCTG GGAAGGCTCCGAAGCTGCTCATCTACGAAGCCTCGACTTCG GAGACTGGTGTCCCTAGCCGGTTAGCGGATCGGGATCAG GGACCGATTCACTCTGACCATTCCCTCCCTGCAACCCGAG GACTTCGCCACCTACTACTGCCAACAGTCATATTCCACCCCC GTACACCTTCGGACAAGGCACCAAGCTCGAAATCAAG

【0317】

10

20

30

40

50

【表 3 7】

LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 103)	QSIGNR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 15)	RASQSIGNRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 71)	EAS
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 16)	EASTSET
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 17)	QQSYSTPYT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 17)	QQSYSTPYT

10

【0 3 1 8】

20

【表 3 8】

**G1AA/G12v2 の重鎖及び軽鎖及び可変ドメインのアミノ酸及び cDNA 配列並びに CDR のアミノ酸配列**

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 120)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTS<u>YGISWVRQAPGQG</u>  <u>LEWMGWISAYSGGTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS</u>  <u>DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGV</u>SYYYYWGQCTLTVSSASTKGPSVF</u></i> PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
----------------------------------	--

30

【0 3 1 9】

40

50

【表 3 9】

重鎖 DNA (LALA なし) (配列番号 121)	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCGGAGCGAAGTCAGAGGC CTGGAGCGTCCGTAAAGGTGTCCTGCAAAGCCTCAGGATA CACCTTCACTTCGTACGGGATTCTGGTCCGCCAACGAC CGGGTCAAGGCTGGAGTGGATGGATGGATCAGCGCGTA TTCCGGGGAAACCAACTACGCTAAAAGCTGCAGGGTCGC GTGACCACATGACCACCGATACTCCACCTCAACGGCCTACAT GGAACGTGAGATCTCTGCGGAGCGACGACACTGCCGTGTAC TACTGTGCCGGGACCTGTTCCCCACTATCTGGAGTGTC GTACTACTACTACTGGGCCAGGGACTCTCGTGTACCGTGT CGAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCGGTGTCCCCTGGCC CCATCGTCCAAGAGCACATCAGGGGTACCGCCGCCCTGG GCTGCCCTGTGAAGGATTACTTTCCGAGCCCCGTACAGTG TCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCATACTTT CCCGCTGTGCTTCAGTCCTCTGGCCTGTACTCATTGTCCTC CGTGGTCACCGTCCCTCGTCCTCCCTGGCACCCAGACCT ATATCTGTAATGTCAACCATAAGCCCTCGAACACCAAGGTC GACAAGAAGGTCGAGCGAAGTCGTGCGACAAGACTCACA CTTGCCCGCCTGCCAGCCCCGGAAGTGTGGTGGTGCCT TCGGTGTCCCTCTCCGCCAACGCCGAAGGATACCTGAT GATCTCACGGACCCCCGAAGTGACCTGTGTGGTGGAC GTGCCCCACGAGGACCCCGGAAGTGAAATTCAATTGGTACG TGGATGGAGTGGAAAGTGCACAACGCCAACAGGCCACG GGAAGAACAGTACAACACTACCTACCGCGTGGTGTCCGTG CTCACTGTGCTGCACCAAGACTGGCTGAACGGGAAGGAGT ACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCCGTGCCCTGCCCAAT TGAGAAAATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCTCGAGAG CCTCAAGTGTACACCCCTGCCCTCCCTCGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAAGTCTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGATTCT ACCCATCGGATATGCCGTGGATGGAAAGCAACGGACA GCCCGAGAACAACTACAAGACGACTCCGCCGTGCTGGAT TCCGACGGAGCTTCTTGTACTCCAAGCTGACCGTCGA CAAGAGCAGATGGCAGCAGGGAAACGTGTTCTGCTCC GTGATGCATGAGGCCTGCACAAACCAACTACACTCAGAAGA GCTTGTCCCTGTGCCCGGA
	10
	20
	30
	40

【0320】

## 【表 4 0】

重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 49)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>DLFPTIFGV</u>YYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE<u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS</u> RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
------------------------------	--

## 【 0 3 2 1 】

10

20

30

40

50

【表 4 1】

重鎖 DNA (LALA あり) (配列番号 122)	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCGGAGCGAAGTCAAGAGGC CTGGAGCGTCCGTAAAGGTGTCCTGCAAAGCCTCAGGATA CACCTTCACTTCGTACGGGATTTCCTGGTCCGCCAACGAC CGGGTCAAGGCTTGGAGTGGATGGATGGATCAGCGCGTA TTCCGGGGAAACCAACTACGCTAAAAGCTGCAGGGTCGC GTGACCACATGACCACCGATAACCTCCACCTAACGGCCTACAT GGAAC TGAGATCTCTCGGGAGCGACGACACTGCCGTGTAC TACTACTACTACTGGGCCAGGGACTCTCGTGACCGTGT CGAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCGGTGTCCCCTGG CCATCGTCCAAGAGCACATCAGGGGTACCGCCGCCCTGG GCTGCCCTGTGAAGGATTACTTTCCCGAGCCCGTCACAGTG TCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCATACTTT CCCGCTGTGCTTCAGTCCTCTGGCCTGTACTCATTGTCCTC CGTGGTCACCGTCCCTCGCCTCCCTGGCACCCAGACCT ATATCTGTAATGTCAACCATAAGCCCTCGAACACCAAGGTC GACAAGAAGGTCGAGCGAAGTCGTGCGACAAGACTCACA CTTGCCCGCCTGCCAGCCCCGGAAGCTGCCGGTGGTCT TCGGTGTCTCTTCCCGCCAAGCGAAGGATACCCCTGAT GATCTCACGGACCCCCGAAGTGACCTGTGTTGGTGGAC GTGTCACGAGGACCCCGGAAGTGAAATTCAATTGGTACG TGGATGGAGTGGAAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCACG GGAAGAACAGTACAACACTACCTACCGCGTGGTGTCCGTG CTCACTGTGCTGCACCAAGACTGGCTGAACGGGAAGGAGT ACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCGCTGCCCTGG TGAGAAAAACTATCTGAAAGCCAAGGGACAGCCTCGAGAG CCTCAAGTGTACACCCCTGCCCTCCCTCGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAAGTCTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGATTCT ACCCATCGGATATGCCGTGGATGGAAAGCAACGGACA GCCCGAGAACAACTACAAGACGACTCCGCCGTGCTGGAT TCCGACGGAGCTTCTTGTACTCCAAGCTGACCGTCGA CAAGAGCAGATGGCAGCAGGGAAACGTGTTCTGCTCC GTGATGCATGAGGCCTGCACAACCAACTACACTCAGAAGA GCTTGCCCTGTGCCCGGA
	10
	20
	30
	40

【0 3 2 2】

【表 4 2】

VH ドメイン AA (配列番号 29)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSYYYYWGQGTLTVSS</i>
VH ドメイン DNA (配列番号 123)	GAAGTGCACTGGTGCAGTCGGAGCCGAAGTCAAGAGGC CTGGAGCGTCCGTGAAGGTGTCTGCAAAGCCTCAGGATA CACCTCACCTCGTACGGGATTCCTGGTCCGCCAAGCAC CGGGTCAAGGCTTGGAGTGGATGGATGGATCAGCGCGTA TTCCGGGGAAACCAACTACGCTAAAAGCTGCAGGGTCGC GTGACCATGACCACCGATACTCCACCTAACGGCCTACAT GGAACTGAGATCTCTCGGGAGCGACACTGCCGTGTAC TACTGTGCCCGGGACCTGTTCCCCACTATCTCGGAGTGTC GTACTACTACTGGGCCAGGGACTCTCGTGAACCGTGT CGAGC
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 111)	ISAYSGGT
HCDR2 (AA) Kabat) (配列番号 18)	WISAYSGGTNYAQKLQG
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSYYYY
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSYYYY
軽鎖 AA (配列番号 50)	<i>DIQMTQSPTLSASVGDRVITITCRASOSISGRLAWYQQKPGKAPN LLIYEASNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQOSY SWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</i>

10

20

30

40

【0 3 2 3】

【表 4 3】

軽鎖 DNA (配列番号 124)	GACATT CAGAT GACCCAGTCCCCGAGCACGCTGTCCGCAA GCGTGGGGGACAGAGTGACCATCACTGCCGCCTCACAA ATCCATCAGCGGACGCTTGGCCTGGTACCA CGCAGAAGGCC GGAAAGGCCAAACCTCTGATCTACGAAGCCTCGAAC TGGAGTCAGGCCTCCCTCGCGTTCTGGCTCCGGTTCC GGA ACTGAGTT CACCCTACCATCTCGTCCCTGCAACCGGA AGATTCGCCACCTACTACTGCCAACAGTCGTACTCCTGGC CCCGGACATT CGGACAGGGAACCAAAGTCGAGATTAAGCG GACTGTGGCGGCTCCTAGCGTGTTCATTTCCCCGTCCG ACGAACAGCTGAAGTCCGGTACCGCTAGCGTGGTCTGTCTC CTGAACAATTCTACCCGCGCGAAGCTAAGGTCCAGTGG AGGTCGACAACCGCCTGCAGTCCGGAAACAGCCAGGAGTC AGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACTTATTCCCTGT CCTCCACCCCTGACTTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCA CAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCATCAAGGGCTTCGT CGCCCGTGACCAAGAGCTCAACC GGCGAATGC
VL ドメイン AA (配列番号 30)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITICRASOSISGRLAWYQQKPGKAPN LLIYEASNLESGVPSRFSGSGLTEFTLTISSLQPEDFATYYCQOSY SWPRTFGQGTKVEIK</i>
VL ドメイン DNA (配列番号 125)	GACATT CAGAT GACCCAGTCCCCGAGCACGCTGTCCGCAA GCGTGGGGGACAGAGTGACCATCACTGCCGCCTCACAA ATCCATCAGCGGACGCTTGGCCTGGTACCA CGCAGAAGGCC GGAAAGGCCAAACCTCTGATCTACGAAGCCTCGAAC TGGAGTCAGGCCTCCCTCGCGTTCTGGCTCCGGTTCC GGA ACTGAGTT CACCCTACCATCTCGTCCCTGCAACCGGA AGATTCGCCACCTACTACTGCCAACAGTCGTACTCCTGGC CCCGGACATT CGGACAGGGAACCAAAGTCGAGATTAAG

【0324】

10

20

30

40

50

【表 4 4】

LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 71)	EAS
LCDR2 (AA) Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 21)	QQSYSWPRT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 21)	QQSYSWPRT

10

【0 3 2 5】

【表 4 5】

20

G1AA/lambdaV3 の重鎖及び軽鎖及び可変ドメインのアミノ酸及び cDNA 配列並びに CDR の  
アミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 126)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG</i> <i>LEWMGW<u>I</u>SAYSGGTNYA<u>O</u>K<u>L</u>QGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS</i> <i>DDTAVYYCAR<u>D</u>L<u>F</u>P<u>T</u>I<u>F</u>G<u>V</u>S<u>Y</u><u>Y</u>WG<u>Q</u>G<u>T</u>L<u>V</u>T<u>S</u>A<u>S</u>TKGPSVF</i> <i>PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH</i> <i>TFPAVLQSSGLYS<u>L</u>SSVVTP<u>S</u>SSLGT<u>T</u>QTYICNVNH<u>K</u>PSNTKV</i> <i>DKKVEPKSCDKTH<u>C</u>PPCP<u>A</u>PELLGGPSVFL<u>F</u>PP<u>K</u>PKDTLMISR</i> <i>TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN<u>A</u>TKPREEQY</i> <i>NSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTS<u>I</u>K</i> <i>AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK<u>G</u>FYPSDI<u>A</u>VE</i> <i>WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD<u>K</u>SRWQQGN</i> <i>V<u>F</u>SCSVMHEALHNHYT<u>Q</u>KSLSLSPG</i>
----------------------------------	---

30

【0 3 2 6】

40

50

【表 4 6】

重鎖 DNA (LALA なし) (配列番号 127)	GAAGTCAGCTGGTGCAGTCGGAGCCGAAGTCAGAGGC CTGGAGCGTCCGTAAAGGTGTCCTGCAAAGCCTCAGGATA CACCTTCACTTCGTACGGGATTTCTGGTCCGCCAACGAC CGGGTCAAGGCTTGGAGTGGATGGATGGATCAGCGCGTA TTCCGGGGAAACCAACTACGCTAAAAGCTGCAGGGTCGC GTGACCACATGACCACCGATAACCTCACCTCAACGGCCTACAT GGAACGTGAGATCTCTGCGGAGCGACGACACTGCCGTGTAC TACTGTGCCGGGACCTGTTCCCCACTATCTCGGAGTGT GTACTACTACTACTGGGCCAGGGGACTCTCGTACCGTGT CGAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCGGTGTCCCCTGG CCATCGTCCAAGAGCACATCAGGGGTACCGCCGCCCTGG GCTGCCCTGTGAAGGATTACTTTCCCGAGCCCGTCACAGTG TCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCATACTTT CCCGGCTGTGCTTCAGTCCTCTGGCCTGTACTCATTGTCCTC CGTGGTCACCGTCCCTCGTCCTCCCTGGCACCCAGACCT ATATCTGTAATGTCAACCATAAGCCCTCGAACACCAAGGTC GACAAGAAGGTCGAGCCGAAGTCGTGCGACAAGACTCACA CTTGCCCGCCTGCCAGCCCCGGAAGTGTGGTGGTGCCT TCGGTGTCCCTCTCCGCCAACGCCGAAGGATACCCCTGAT GATCTCACGGACCCCCGAAGTGACCTGTGTGGTGGAC GTGCCCCACGAGGACCCCGGAAGTGAAATTCAATTGGTACG TGGATGGAGTGGAAAGTGCACAACGCCAACAGGCCACG GGAAGAACAGTACAACACTACCTACCGCGTGGTGCCTG CTCACTGTGCTGCACCAAGACTGGCTGAACGGGAAGGAGT ACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCGCTGCCCTGCCCAAT TGAGAAAAACTATCTGAAAGCCAAGGGACAGCCTCGAGAG CCTCAAGTGTACACCCCTGCCCTCCCTCGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAAGTCTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGATTCT ACCCATCGGATATGCCGTGGAAATGGAAAGCAACGGACA GCCCGAGAACAAACTACAAGACGACTCCGCCGTGCTGGAT TCCGACGGAGCTTCTTGTACTCCAAGCTGACCGTCGA CAAGAGCAGATGGCAGCAGGGAAACGTGTTCTGCTCC GTGATGCATGAGGCCTGACAAACCAACTACACTCAGAAGA GCTTGTCCCTGTCGCCCGGA
	10
	20
	30
	40

【0327】

【表 4 7】

重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 61)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAOKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSYWWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE<u>AA</u>AGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQ YNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
---------------------------------	---

【0 3 2 8】

10

20

30

40

50

【表 4 8】

重鎖 DNA (LALA あり) (配列番号 128)	GAAGTCAGCTGGTGCAGTCGGAGCCGAAGTCAGAGGC CTGGAGCGTCCGTAAAGGTGTCCTGCAAAGCCTCAGGATA CACCTTCACTTCGTACGGGATTTCTGGTCCGCCAACGAC CGGGTCAAGGCTTGGAGTGGATGGATGGATCAGCGCGTA TTCCGGGGAAACCAACTACGCTAAAAGCTGCAGGGTCGC GTGACCATGACCACCGATAACCTCACCTCAACGGCCTACAT GGAACGTGAGATCTCTCGGGAGCGACACTGCCGTGTAC TACTGTGCCGGGACCTGTTCCCCACTATCTCGGAGTGT GTACTACTACTACTGGGCCAGGGACTCTCGTGACCGTGT CGAGCGCTAGGACTAAGGGCCCGTCGGTGTCCCGCTGGC CCATCGTCCAAGAGCACATCAGGGGTACCGCCGCCCTGG GCTGCCCTGTGAAGGATTACTTCCGAGGCCGTACAGTG TCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCATACTTT CCCGCTGTGCTTCAGTCCTCTGCCCTGTACTCATTGTCCTC CGTGGTCACCGTCCCTCGTCCTCCCTGGCACCCAGACCT ATATCTGTAATGTCAACCATAAGCCCTCGAACACCAAGGT GACAAGAAGGTCGAGCCGAAGTCGTGCGACAAGACTCACA CTTGCCCGCCTTGCCTGCCAGCCCCGGAAGCTGCCGTGGTCC TCGGTGTTCCTCTTCCGCCAACGCCGAAGGATACCCCTGAT GATCTCACGGACCCCCGAAGTGACCTGTGTGGTGGAC GTGCCCACGAGGACCCGGAAGTGAAATTCAATTGGTACG TGGATGGAGTGGAAAGTCACACGCCAACGCCAG GGAAGAACAGTACAACCTACCTACCGCGTGGTGTCCGTG CTCACTGTGCTGCACCAAGACTGGCTGAACGGGAAGGAGT ACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGCGCTGCCTGCCCAAT TGAGAAAATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCTCGAGAG CCTCAAGTGTACACCCCTGCCCTCCCTCGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAAGTCTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGATTCT ACCCATCGGATATGCCGTGGAATGGGAAAGCAACGGACA GCCCGAGAACAACTACAAGACGACTCCGCCGTGCTGGAT TCCGACGGGAGCTTCTTGTACTCCAAGCTGACCGTCGA CAAGAGCAGATGGCAGCAGGGAAACGTGTTCTCCTGCTCC GTGATGCATGAGGCGCTGCACAACCAACTACACTCAGAAGA GCTTGTCCCTGTCGCCCGGA
	10
	20
	30
	40

【0329】

【表 4 9】

VH ドメイン AA (配列番号 41)	EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPG QGLEWMGWISAYSGGTNYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYME LRSLRSDDTAVYYCARDLFPTIFGVSVYYYWGQGTLTVSS
VH ドメイン DNA (配列番号 129)	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCGGAGCCGAAGTCAAGAGGC CTGGAGCGTCCGTGAAGGTGTCTGCAAAGCCTCAGGATA CACCTCACTCGTACGGATTCTGGTCCGCCAACGAC CGGGTCAAGGCTTGGAGTGGATGGATGGATCAGCGCGTA TTCCGGGGAAACCAACTACGCTAAAAGCTGCAGGGTCGC GTGACCATGACCACCGATACTCCACCTAACGGCCTACAT GGAAC TGAGATCTCTGGAGCGACACTGCCGTGTAC TACTGTGCCGGGACCTGTTCCCCACTATCTCGGAGTGTC GTACTACTACTGGGCCAGGGACTCTCGTACCGTGT CGAGC
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 111)	ISAYSGGT
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 18)	WISAYSGGTNYAQKLQG
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSVYYY
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSVYYY
軽鎖 AA (配列番号 62)	<i>QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGT<u>SSDVGGNYVSWYQQFPKGKA</u> <u>PKLMIFEVTNRPSGVSDRFSGSKSDNTASLTISGLQAEDAEYYCS</u> <u>SFKRGSTLVVFGGKTLTVLGQPAAPSVTLFPPSSEELQANK</u> ATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS</i>

10

20

30

40

【 0 3 3 0 】

【表 5 0】

軽鎖 DNA (配列番号 130)	CAGTCGGCCCTTACTCAACCCGCGTCAGTCTCCGGTAGCCC CGGACAGTCCATCACGATTCTGTGCACCGGAACCAGCAGC GATGTCGGGGATAACAACACTACGTGTCTGGTACCAGCAGTT CCCGGGAAAGGCCCTAAGCTGATGATCTCGAAGTCACT AACAGACCTCCGGAGTGTGGACCGGTTCTCCGGCTCAA GTCCGACAACACTGCGAGCCTGACCATCTCGGCCTGCAA GCCGAGGACGAAGCCGAGTACTACTGTAGCTATTCAAGC GCGGTTCCACCCCTCGTGGTGTTCGGCGGTGGCACTAAGCTC ACCGTGCTGGCA GTTCCCCCGTCGAGCGAAGAACTGCAGGCCAACAGGCC ACCCTCGTCTGCCTGATCTCCGACTTCTACCCCTGGGCCGT GACTGTGGCTTGAAGGCCGATTCAAGCCCAGTGAAGGCC GGAGTGGAAACCACCACTCCGTCCAAGCAGTCGAACAATA AGTATGCCCGTCCTCCTACCTGTCGCTGACCCCGGAGCAG TGGAAGTCCCATCGGTCTACTCCTGCCAAGTCACCCACGA AGGGTCCACTGTGGAGAAAACAGTGGCTCCCACCGAGTGC TCT
VL ドメイン AA (配列番号 42)	<i>QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVS</i> <i>WQQFPGKA</i> <i>PKLMIFEVTNRPSGVSDRFSGSKSDNTASLTISGLQAEDEAEYYCS</i> <b><i>SFKRGSTLVVFGGGTKLTVL</i></b>
VL ドメイン DNA (配列番号 131)	CAGTCGGCCCTTACTCAACCCGCGTCAGTCTCCGGTAGCCC CGGACAGTCCATCACGATTCTGTGCACCGGAACCAGCAGC GATGTCGGGGATAACAACACTACGTGTCTGGTACCAGCAGTT CCCGGGAAAGGCCCTAAGCTGATGATCTCGAAGTCACT AACAGACCTCCGGAGTGTGGACCGGTTCTCCGGCTCAA GTCCGACAACACTGCGAGCCTGACCATCTCGGCCTGCAA GCCGAGGACGAAGCCGAGTACTACTGTAGCTATTCAAGC GCGGTTCCACCCCTCGTGGTGTTCGGCGGTGGCACTAAGCTC ACCGTGCTGGGA
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 132)	SSDVGGYNY
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 25)	TGTSSDVGGYNYVS

10

20

30

40

【0 3 3 1】

## 【表 5 1】

LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 77)	EVT
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 13)	EVTNRPS
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 14)	SSFKRGSTLVV
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 14)	SSFKRGSTLVV

10

## 【0 3 3 2】

20

30

40

50

## 【表 5 2】

G1/929\_01\_A07 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 133)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGW<u>I</u>SAYGGSTNYAOKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>D</u>LFP<u>T</u>IFGV<u>S</u>YYYWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>	10
VH ドメイン AA (配列番号 134)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGW<u>I</u>SAYGGSTNYAOKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCAR<u>D</u>LFP<u>T</u>IFGV<u>S</u>YYYWGQGTLTVSS</i>	20
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG	
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS	
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 135)	ISAYGGST	
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 136)	WISAYGGSTNYAQKLQG	
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVYYYY	30
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVYYYY	
軽鎖 AA (配列番号 137)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCRAS<u>Q</u><u>S</u><u>I</u><u>S</u><u>G</u>R<u>L</u>AW<u>Y</u>QQKPGKAPN LLIYEASNL<u>E</u>SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISL<u>Q</u>PED<u>F</u>ATYYC<u>Q</u><u>O</u><u>S</u><u>Y</u> <u>S</u><u>T</u><u>P</u><u>R</u><u>V</u><u>T</u><u>F</u><u>G</u><u>Q</u><u>G</u><u>T</u><u>K</u><u>V</u><u>E</u><u>I</u><u>K</u><u>R</u><u>T</u><u>A</u><u>A</u><u>A</u><u>P</u><u>S</u><u>V</u><u>I</u><u>F</u><u>P</u><u>P</u><u>S</u><u>D</u><u>E</u><u>Q</u><u>L</u><u>K</u><u>S</u><u>G</u><u>T</u><u>A</u><u>V</u><u>V</u><u>C</u> LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STTLSKADYEHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFRGEC</i>	40

## 【 0 3 3 3 】

## 【表 5 3】

VL ドメイン AA (配列番号 138)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVТИC<u>RASOSISGRLAWYQQKPGKAPN</u> <u>LLIYEASNLESGVPSRFSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC<u>QQSY</u></u></i> <b><u>STPRVTFGQGTKVEIK</u></b>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 71)	EAS
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 22)	QQSYSTPRVT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 22)	QQSYSTPRVT

10

20

## 【0 3 3 4】

30

40

50

## 【表 5 4】

G1/929\_01\_A08 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

(このクローンは G1AA/E05v2 と同一であるが、LALA 変異を有しない。)

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 139)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAOKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSVYYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYPFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHCPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPDLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
VH ドメイン AA (配列番号 140)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAOKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSVYYYYWGQGTLTVSS</i>
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 111)	ISAYSGGT
HCDR2 (AA) Kabat) (配列番号 18)	WISAYSGGTNYAQKLQG
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSVYYYY
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSVYYYY
軽鎖 AA (配列番号 141)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSIISGR<del>LAWYQQKPGKAPN LLIYEASNLES</del>GVPSRFSGSGTEFTLT<del>TISSLQPEDFATYYC</del><u>OOSY</u> <u>STPRVTFGQGT</u>KVEIKRTAAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTL SKADYEKH KLYACEVTHQGLSSPVTKS FNR GEC</i>

10

20

30

40

## 【 0 3 3 5 】

50

## 【表 5 5】

VL ドメイン AA (配列番号 142)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCRAS<u>QSISGRLAWYQQKPGKAPN</u> <u>LLIYEASNLESGVPSRFSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC<u>QOSY</u></u></i> <b><u>STPRVTFGQGTKVEIK</u></b>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 71)	EAS
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 22)	QQSYSTPRVT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 22)	QQSYSTPRVT

10

20

## 【0 3 3 6】

30

40

50

## 【表 5 6】

## G1/929\_01\_A09 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 143)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGNANYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSVYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDVFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI WESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
VH ドメイン AA (配列番号 144)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGNANYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSVYYYWGQGTLTVSS</i>
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 145)	ISAYSGNA
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 146)	WISAYSGNANYAQKLQG
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSVYYY
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSVYYY
軽鎖 AA (配列番号 147)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCRASQ<b>SISGRL</b>AWYQQKPGKAPN LLIYEASNLES<b>GVP</b>SRFS<b>GSG</b>SGTEFTLT<b>ISSLQ</b>PEDFATYYC<b>OOSY</b> <b>STPRVT</b>FG<b>QGT</b>KVEIKRTAAAAPS<b>FIF</b>PPSDEQL<b>KSGT</b>ASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STL<b>TLS</b>KADYEKHKL<b>YACE</b>VTH<b>QGLSS</b>PV<b>TKSFNR</b>GEC</i>

10

20

30

40

## 【 0 3 3 7 】

【表 5 7】

VL ドメイン AA (配列番号 148)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCRAS<u>QSISGR</u>LAWYQQKPGKAPN LLIYE<u>ASNLES</u>GVPSRFSGSGTEFTLTSSLQPEDFATYYC<u>OOSY</u> <u>STPRVT</u>FGQGTKVEIK</i>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 71)	EAS
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 22)	QQSYSTPRVT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 22)	QQSYSTPRVT

10

20

【0 3 3 8】

30

40

50

## 【表 5 8】

G1/929\_01\_A01 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 149)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYGGSTNYAOKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSVYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYLFPFPEPVTSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>	10
VH ドメイン AA (配列番号 150)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYGGSTNYAOKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSVYYYWGQGTLTVSS</i>	20
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 102)	GYPFTSYG	
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS	
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 135)	ISAYGGST	
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 136)	WISAYGGSTNYAQKLQG	
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSVYYY	30
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSVYYY	
軽鎖 AA (配列番号 151)	<i>DIQMTQSPSTLSASVRDRVIITCRASOSIGNRLAWYQHKPGKAPKL LIYE<u>EASTSETGVPSRFSGSGSGTDFTLTSSLQPEDFATYYCQOSYS</u> <u>TPYT</u>FGQGTKEIKRTAAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSST LTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</i>	40

## 【 0 3 3 9 】

【表 5 9】

VL ドメイン AA (配列番号 152)	<i>DIQMTQSPSTLSASVRDRVITCRAS<u>OSIGNRLAWYQHKGKAPKL</u> <u>LIYEASTSETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC<u>OOSYS</u></u></i> <b><u>TPYTFGQGTKLEIK</u></b>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 103)	QSIGNR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 15)	RASQSIGNRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 71)	EAS
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 16 )	EASTSET
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 17)	QQSYSTPYT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 17)	QQSYSTPYT

10

20

【 0 3 4 0 】

30

40

50

## 【表 6 0】

G1/929\_01\_A02 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 153)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGW<u>I</u>SAYSGGTNYA<u>Q</u>KLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTA<u>VYYC</u>ARDLFPTIFGV<u>S</u>YYYWG<u>Q</u>GTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTV<u>P</u>SSSLGTQTYICNVN<u>H</u>KPSNTKV DKKVEPKSCDKTH<u>C</u>PPCPAPELLGGPSVFL<u>F</u>PPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEV<u>K</u>FNWYVDGVEVHN<u>A</u>KT<u>K</u>PREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK<u>T</u>ISK AKGQP<u>R</u>EPPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK<u>G</u>FYPSDI<u>A</u>VE WESNGQ<u>P</u>ENNYKTPVLD<u>D</u>GSSFLYSKLTVD<u>K</u>SRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYT<u>Q</u>KSL<u>L</u>SPG</i>
VH ドメイン AA (配列番号 154)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKAS<u>GYPFTSYG</u>ISWVRQAPGQG LEWMGW<u>I</u>SAYSGGTNYA<u>Q</u>KLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTA<u>VYYC</u>ARDLFPTIFGV<u>S</u>YYYWG<u>Q</u>GTLTVSS</i>
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 102)	GYPFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 111)	ISAYSGGT
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 18)	WISAYSGGTNYAQKLQG
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGV <u>S</u> YYY
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGV <u>S</u> YYY
軽鎖 AA (配列番号 155)	<i>DIQM<b>T</b>QSPSTLSASVRDRV<u>I</u>TC<u>R</u><b>A</b>S<u>O</u><b>S</b><u>I</u><b>N</b><u>R</u><b>L</b>WYQHKPGKAPKL LIYE<u>E</u>ASTSETGVPSRFSGSG<u>G</u>TD<u>F</u>TL<u>I</u>SSL<u>Q</u>P<u>E</u>DFATYYC<u>O</u><b>O</b><u>S</u><b>S</b><u>Y</u><b>S</b> <b>T</b><u>P</u><u>Y</u><u>T</u><u>F</u><u>G</u><u>Q</u><u>G</u><u>T</u><u>K</u><u>L</u><u>E</u><u>I</u><u>K</u><u>R</u><u>T</u><u>A</u><u>A</u><u>A</u><u>P</u><u>S</u><u>V</u><u>I</u><u>F</u><u>P</u><u>P</u><u>S</u><u>D</u><u>E</u><u>Q</u><u>L</u><u>K</u><u>S</u><u>G</u><u>T</u><u>A</u><u>S</u><u>V</u><u>V</u><u>C</u><u>L</u> NNFY<u>P</u><u>R</u><u>E</u><u>A</u><u>K</u><u>V</u><u>Q</u><u>W</u><u>K</u><u>V</u><u>D</u><u>N</u><u>A</u><u>L</u><u>Q</u><u>S</u><u>G</u><u>N</u><u>S</u><u>Q</u><u>E</u><u>S</u><u>V</u><u>T</u><u>E</u><u>Q</u><u>D</u><u>S</u><u>K</u><u>D</u><u>S</u><u>T</u><u>Y</u><u>S</u><u>S</u><u>T</u> LTLSKADY<u>E</u><u>K</u><u>H</u><u>K</u><u>L</u><u>Y</u><u>A</u><u>C</u><u>E</u><u>V</u><u>T</u><u>H</u><u>Q</u><u>G</u><u>L</u><u>S</u><u>P</u><u>V</u><u>T</u><u>K</u><u>S</u><u>F</u><u>N</u><u>R</u><u>G</u><u>E</u></i>

10

20

30

40

## 【 0 3 4 1 】

【表 6 1】

VL ドメイン AA (配列番号 156)	<i>DIQMTQSPSTLSASVRDRVITCRAS<u>QSIGNRLAWYQHKPGKAPKL</u> <u>LIYEASTSETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC<u>OOSYS</u></u></i> <i><u>TPYTFGQGTKLEIK</u></i>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 103)	QSIGNR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 15)	RASQSIGNRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 71)	EAS
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 16)	EASTSET
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 17)	QQSYSTPYT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 17)	QQSYSTPYT

10

20

【0 3 4 2】

30

40

50

## 【表 6 2】

G1/929\_01\_A03 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 157)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGNANYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSYWWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQY NSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>	10
VH ドメイン AA (配列番号 158)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGNANYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSYWWGQGTLTVSS</i>	20
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 102)	GYPFTSYG	
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS	
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 145)	ISAYSGNA	
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 146)	WISAYSGNANYAQKLQG	
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSYWWY	30
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSYWWY	
軽鎖 AA (配列番号 159)	<i>DIQMTQSPSTLSASVRDRVIITCRASQSIGNRLAWYQHKPGKAPKL LIYEASTSETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQOSYS TPYTFGQGTKLEIKRTAAAAPSVFIFPPSDEQLSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS LTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</i>	40

## 【 0 3 4 3 】

【表 6 3】

VL ドメイン AA (配列番号 160)	<i>DIQMTQSPSTLSASVRDRVITCRAS<u>QSIGNRLAWYQHKPGKAPKL</u> <u>LIYEASTSETGVPSRFSGSGSGTDFTLTSSLQPEDFATYYC<u>OOSYS</u></u></i> <i><u>TPYTFGQGTKLEIK</u></i>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 103)	QSIGNR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 15)	RASQSIGNRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 71)	EAS
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 16)	EASTSET
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 17)	QQSYSTPYT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 17)	QQSYSTPYT

10

20

【0 3 4 4】

30

40

50

【表 6 4】

## G1/929\_01\_A10 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 161)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGW<u>I</u>SAYGGSTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTA<u>VYYCAR</u>DLFPTIFGVSY<del>YY</del>WGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSLGTQTYICNVNHNKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
VH ドメイン AA (配列番号 162)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGW<u>I</u>SAYGGSTNYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTA<u>VYYCAR</u>DLFPTIFGVSY<del>YY</del>WGQGTLTVSS</i>
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 135)	ISAYGGST
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 136)	WISAYGGSTNYAQKLQG
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSY <del>YY</del> YY
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSY <del>YY</del> YY
軽鎖 AA (配列番号 163)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITC<u>RASOSISGR</u>LA<u>WYQQKPGKAPN</u></i> <i>LLIYE<u>ASNL</u>ESGVPSRFSGSGSTEFTLT<u>ISSLOP</u>E<u>DEFATYYC</u><u>OOSY</u></i> <i><u>SWPRTFGQ</u>GT<u>KVEIKR</u>TAAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TTL<u>TSKADYEKH</u>LYACEVTHQGLSSPVT<u>KS</u>FN<u>RGE</u>C</i>

10

20

30

40

【 0 3 4 5 】

【表 6 5】

VL ドメイン AA (配列番号 164)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVТИC<u>RASQSISGR</u>LAWYQQKPGKAPN LLIYE<u>A</u>SNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLT<u>ISLQPEDFATYYC<u>OOSY</u></u></i> <u>SWPRTFGQGTKVEIK</u>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 106)	EASN
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 21)	QQSYSWPRT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 21)	QQSYSWPRT

10

20

【0 3 4 6】

30

40

50

## 【表 6 6】

G1/929\_01\_A11 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列  
 (このクローニンは G1AA/G12v2 と同一であるが、LALA 変異を有しない。)

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 165)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSYWWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
VH ドメイン AA (配列番号 29)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSYWWGQGTLTVSS</i>
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 111)	ISAYSGGT
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 18)	WISAYSGGTNYAQKLQG
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSYWW
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSYWW
軽鎖 AA (配列番号 166)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASOSISGRLAWYQQKPGKAPN LLIYEASNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC SWPRTFGQGTKVEIKRTAAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHLYACEVTHQGLSSPVTKSFRGEC</i>

10

20

30

40

## 【 0 3 4 7 】

【表 6 7】

VL ドメイン AA (配列番号 167)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITC<u>RASOSISGRLAWYQQKPGKAPN</u> <u>LLIYEASNLESGVPSRFSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYC<u>QOSY</u></u></i> <i><u>SWPRTFGQGTKVEIK</u></i>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 106)	EASN
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 21)	QQSYSWPRT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 21)	QQSYSWPRT

10

20

【0 3 4 8】

30

40

50

【表 6 8】

## G1/929\_01\_A12 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 168)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGW<u>ISAYSGNANYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLSR</u> <u>DDTAVYYCARDLFPTIFGVYYYYWGQGTLTVSS</u></i>	10
VH ドメイン AA (配列番号 169)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGW<u>ISAYSGNANYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLSR</u></i>	20
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG	
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS	
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 145)	ISAYSGNA	
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 146)	WISAYSGNANYAQKLQG	
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVYYYY	30
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVYYYY	
軽鎖 AA (配列番号 170)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCRAS<u>QOSISGR</u>LAWYQQKPGKAPN LLIYE<u>ASNLES</u>GVP<u>SRFS</u>SGSGTE<u>FTLT</u>ISSL<u>QPED</u>FATYYC<u>OOSY</u> <u>SWPRTFGQGT</u>KVEIKRTAAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</i>	40

【 0 3 4 9 】

【表 6 9】

VL ドメイン AA (配列番号 171 )	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVТИC<u>RASOSISGRLAWYQQKPGKAPN</u> <u>LLIYEASNLESGVPSRFSGSGTEFTLT<u>ISSLQPEDFATYYC<u>OOSY</u></u> <u>SWPRTFGQGTKVEIK</u></u></i>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 106)	EASN
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 21)	QQSYSWPRT
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 21)	QQSYSWPRT

10

20

【 0 3 5 0 】

30

40

50

## 【表 7 0】

G1/929\_01\_A04 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 172)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGW<u>ISAYGGSTNYAQKLQGRVTMTTDSTSTAYMELRSLSR</u> DDTA<u>VYYCARDLFPTIFGVSYYYYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF</u> PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQY NSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
VH ドメイン AA (配列番号 173)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGW<u>ISAYGGSTNYAQKLQGRVTMTTDSTSTAYMELRSLSR</u> DDTA<u>VYYCARDLFPTIFGVSYYYYWGQGTLVTVSS</u></i>
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 135)	ISAYGGST
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 136)	WISAYGGSTNYAQKLQG
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSYYYY
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSYYYY
軽鎖 AA (配列番号 174)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCRAS<u>QSI</u><u>S</u><u>G</u><u>R</u><u>L</u><u>A</u><u>W</u><u>Y</u><u>Q</u><u>Q</u><u>K</u><u>P</u><u>G</u><u>K</u><u>A</u><u>N</u> <u>LLI</u><u>Y</u><u>E</u><u>A</u><u>S</u><u>N</u><u>L</u><u>E</u><u>S</u><u>G</u><u>V</u><u>P</u><u>R</u><u>F</u><u>S</u><u>G</u><u>S</u><u>G</u><u>T</u><u>E</u><u>F</u><u>T</u><u>L</u><u>T</u><u>I</u><u>N</u><u>S</u><u>L</u><u>Q</u><u>P</u><u>D</u><u>D</u><u>F</u><u>A</u><u>T</u><u>Y</u><u>Y</u><u>C</u><u>Q</u><u>O</u><u>A</u> <u>N</u><u>T</u><u>F</u><u>P</u><u>R</u><u>V</u><u>S</u><u>F</u><u>G</u><u>G</u><u>G</u><u>T</u><u>K</u><u>V</u><u>E</u><u>I</u><u>K</u><u>R</u><u>A</u><u>A</u><u>A</u><u>P</u><u>S</u><u>V</u><u>F</u><u>I</u><u>F</u><u>P</u><u>P</u><u>S</u><u>D</u><u>E</u><u>Q</u><u>L</u><u>K</u><u>S</u><u>G</u><u>T</u><u>A</u><u>S</u><u>V</u> CLNNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTTLSKADYEKHLYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</i>

10

20

30

40

## 【0 3 5 1】

【表 7 1】

VL ドメイン AA (配列番号 175)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVТИC<u>RASOSISGR</u>LAWYQQKPGKAPN LLIYE<u>A</u>SNLESGVPSRFSGSGTEFTLTINSLQPDDFATYYC<u>OOA</u> <u>NTFP</u>RVSFGGGTKEIK</i>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 106)	EASN
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 24)	QQANTFPRVS
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 24)	QQANTFPRVS

10

20

【0 3 5 2】

30

40

50

## 【表 7 2】

G1/929\_01\_A05 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 176)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSVYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQY NSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
VH ドメイン AA (配列番号 177)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSVYYYWGQGTLTVSS</i>
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 111)	ISAYSGGT
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 18)	WISAYSGGTNYAQKLQG
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSVYYY
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSVYYY
軽鎖 AA (配列番号 178)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCRASOSISGR<del>LAWYQQKPGKAPN LLIYEASNLESGVPSRFSGSGSTEFTLTINSLQPDDFATYYC</del> <u>OQA</u> <u>NTFPRVSFGGGTKVEIKRTAAAAPS</u>VIFPPSDEQLKSGTASVV CLNNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTTLSKADYEKHLYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</i>

10

20

30

40

## 【 0 3 5 3 】

【表 7 3】

VL ドメイン AA (配列番号 179)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVТИC<u>RASQSISGRLAWYQQKPGKAPN</u> <u>LLIYEASNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTINSLQPDDFATYYC<u>QOA</u></u></i> <u>NTFP<u>PRV</u>SFGGGTKVEIK</u>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 106)	EASN
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 24)	QQANTFPRVS
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 24)	QQANTFPRVS

10

20

【0 3 5 4】

30

40

50

【表 7 4】

G1/929\_01\_A06 の重鎖及び軽鎖、可変ドメイン並びに CDR のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA なし) (配列番号 180)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQ GLEWMGWISAYSGNANYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARDLFPTIFGVSYWWGQGTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPALQSSGLYSLSSVVTVPSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTP REEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
VH ドメイン AA (配列番号 181)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQ GLEWMGWISAYSGNANYAQKLOGRVTMTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARDLFPTIFGVSYWWGQGTLTVSS</i>
HCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 94)	GYTFTSYG
HCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 1)	SYGIS
HCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 145)	ISAYSGNA
HCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 146)	WISAYSGNANYAQKLQG
HCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 69)	ARDLFPTIFGVSYWWG
HCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 3)	DLFPTIFGVSYWWG
軽鎖 AA (配列番号 182)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCRASQ<b>SISGR</b>LAWYQQKPGKAP NLLIYEASNLES<b>G</b>VPSRFSGSGSGTEFTLTINSLQPDDFATYYC<b>Q</b> <b>Q</b>ANTFPRVSFGGGTKVEIKRTAAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSTLSKADYEHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC</i>

10

20

30

40

【 0 3 5 5 】

50

【表 7 5】

VL ドメイン AA (配列番号 183)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVITC<u>RASOSISGRLAWYQQKPGKAP</u> <u>NLLIYEASNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTINSLQPDDFATYYCQ</u> <u>QANTFPRVSFGGGTKVEIK</u></i>
LCDR1 (AA) (IMGT) (配列番号 100)	QSISGR
LCDR1 (AA) (Kabat) (配列番号 19)	RASQSISGRLA
LCDR2 (AA) (IMGT) (配列番号 106)	EASN
LCDR2 (AA) (Kabat) (配列番号 20)	EASNLES
LCDR3 (AA) (IMGT) (配列番号 24)	QQANTFPRVS
LCDR3 (AA) (Kabat) (配列番号 24)	QQANTFPRVS

10

20

## 【0 3 5 6】

 $m A b^2$  形式で試験した  $m A b$ 

注記 :

i . 重鎖配列において、可変ドメインはイタリック体、該当する場合、L A L A 変異の位置は太字且つ下線。

i i . 軽鎖配列において、可変ドメインはイタリック体。

## 【0 3 5 7】

30

40

50

## 【表 7 6】

FS22-172-003AA/E05v2 mAb<sup>2</sup>の重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 89)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAQKLQGRVTMTTDSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSVYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHCPPCPAPE<u>AA</u>AGGPSVFLFPPKPKDTLM SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELPYIIPPNQVSLTCLVKKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVG ADRWLEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
軽鎖 AA (配列番号 90)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISGRLAWYQQKPGKAPN LLIYEASNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQSY STPRVTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STTLSKADYEHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</i>

## 【 0 3 5 8 】

10

20

30

40

50

## 【表 7 7】

FS22-172-003AA/E12v2 mAb<sup>2</sup> の重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 85)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYPFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVYYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHCPVCPAPE<u>AA</u>AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELPYIIPPYNQVSLTCLVKKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVG ADRWLEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
軽鎖 AA (配列番号 86)	<i>DIQMTQSPSTLSASVRDRVITCRASQSIGNRLAWYQHKPGKAPK LLIYEASTSETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSY STPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</i>

## 【 0 3 5 9 】

10

20

30

40

50

【表 7 8】

FS22-172-003AA/G12v2 mAb<sup>2</sup> の重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 87)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAQKLQGRVTMTTDSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVSVYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPCCPAPE<u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLM</u>I SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELPYIIPPYNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVG ADRWLEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
軽鎖 AA (配列番号 88)	<i>DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISGRLAWYQQKPGKAPN LLIYEASNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQSY SWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</i>

【 0 3 6 0 】

10

20

30

40

50

## 【表 7 9】

FS22-172-003AA/lambdav3 mAb<sup>2</sup>の重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列

重鎖 AA (LALA あり) (配列番号 91)	<i>EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYSGGTNYAQKLQGRVTMTTDSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARDLFPTIFGVYYYYWGQGTLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE<u>AA</u>GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELPYIIPPYNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVG ADRWLEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
軽鎖 AA (配列番号 92)	<i>QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQFPGKA PKLMIFEVTNRPSGVSDRFGSKSDNTASLTISGLQAEDEAEYYC SSFKRGSTLVFGGGTKLTVLGQPAAPSVTLFPPSSEELQANK ATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNN KYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTEC S</i>

## 【 0 3 6 1 】

10

20

30

40

50

## 【表 8 0】

組換え抗原のアミノ酸配列**PD-L1-rCd4-His**

シグナルペプチド(下線)

PD-L1 の細胞外ドメイン(標準フォント)

C 末端ラット CD4(ドメイン 3 及び 4)(イタリック体)

NotI 制限部位をコードする抗原及び C 末端融合の間の接合部(太字且つ下線)

C 末端ヘキサヒスチジンタグ(イタリック体且つ下線)

ヒト (配列番号 79)	<u>MRIFAVFIFTYWHLLNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQ</u> LDLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQRARLLKDQLSL GNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRI LVVDPVTSEHELTCAEGYPKAЕVIWTSSDHQVLSKGKTTTNSKREEK LFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPPNERT <b><u>AAATSITAYKSEGESAEFSFPLNLGEESLQGELRWKAEKAPSSQS</u>WITFSLK</b> <b><u>NQKVSVQKSTSNPKFQLSETLPLTLQIPQVSLQFAGSGNLTLDRGILYQE</u></b> <b><u>VNLVVMKVTQPDSENTLC</u>EVMGPTSPKMRLILKQENQEAVSRQEKEVQV QAPEAGVWQCLLSEGEEVKMDSKIQVLSKGLNGSHHHHHH</b>
マウス (配列番号 81)	<u>MRIFAGIIFTACCHLLRAFTITAPKDLYVVEYGSNVTMECRFPVERE</u> LD LLALVVYWEKEDEQVIQFVAGEEDLKPQHSNFRGRASLPKDQLLKGN AALQITDVKLQDAGVYCCIISYGGADYKRITLKVNAPYRKINQRISVD PATSEHELICQAEGYPEAEVIWTNSDHQPVSGKRSVTSRTEGMLLNV TSSLRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNHTAELIPELPATHPPQNRT <b><u>AA</u></b> <b><u>ATSITAYKSEGESAEFSFPLNLGEESLQGELRWKAEKAPSSQS</u>WITFSLK</b> <b><u>NQKVSVQKSTSNPKFQLSETLPLTLQIPQVSLQFAGSGNLTLDRGILYQE</u></b> <b><u>VNLVVMKVTQPDSENTLC</u>EVMGPTSPKMRLILKQENQEAVSRQEKEVQV PEAGVWQCLLSEGEEVKMDSKIQVLSKGLNGSHHHHHH</b>
カニクイザル (配列番号 184)	<u>MRIFAVFIFTYWHLLNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQ</u> L DLTSLIVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQRARLLKDQLSLG NAALRITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRIL VVDPVTSEHELTCAEGYPKAЕVIWTSSDHQVLSKGKTTTNSKREEKL LNVTSTLRINTTANEIFYCIFRRLDPEENHTAELVIPELPLALPPNERT <b><u>A</u></b> <b><u>ATSITAYKSEGESAEFSFPLNLGEESLQGELRWKAEKAPSSQS</u>WITFSLK</b> <b><u>NQKVSVQKSTSNPKFQLSETLPLTLQIPQVSLQFAGSGNLTLDRGILYQE</u></b> <b><u>VNLVVMKVTQPDSENTLC</u>EVMGPTSPKMRLILKQENQEAVSRQEKEVQV APEAGVWQCLLSEGEEVKMDSKIQVLSKGLNGSHHHHHH</b>

10

20

30

40

## 【 0 3 6 2 】

## 【表 8 1】

**PD-L1-Fc-His**

シグナルペプチド(下線)

PD-L1 の細胞外ドメイン(標準フォント)

ヒト IgG1 Fc(イタリック体)

NotI 制限部位をコードする抗原及び C 末端融合の間の接合部(太字且つ下線)

C 末端ヘキサヒスチジンタグ(イタリック体且つ下線)

ヒト (配列番号 80)	<b>MRIFAVFIFMTYWHLNNNAFTVTVPKDLVVVEYGSNMTIECKFPVEKQ</b> LDLAALIVYWE MEDKNIIQFVHGEEDLK VQHSSYRQRARLLKDQLSL GNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRI LVVDPVTSEHELT CQAEGYPKA EVIWTSSDHQVLSGKTTTNSKREEK LFNVTSTLRINTTNE IFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPPNERT <b>AAADKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS</b> <b>HEDPEVKFNWYVDGVEVHN</b> A KTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDI AVEWESNGQ PENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ <b>QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSHHHHHH</b>	10
マウス (配列番号 82)	<b>MRIFAGIIFTACCHLLRAFTITAPKDLVVVEYGSNVTMECRFPVERELD</b> LLALVVYWE KEDEQV I QFVAGEEDLK P QHSNFRGRASLPKDQLLKGN AALQITDVKLQDAGVYCCISYGGADYKRITLKVNAPYRKINQRISVD PATSEHELICQAEGYPEAEVIWTNSDHQPVSGKRSVTSRTEGMLLNV TSSLRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNHTAELIIPELPATHPPQNRT <b>AA</b> <b>ADKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE</b> <b>DPEVKFNWYVDGVEVHN</b> A KTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDI AVEWESNGQ PENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG <b>NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSHHHHHH</b>	20 30

## 【 0 3 6 3 】

【表 8 2】

**PD-L1**

細胞外ドメイン(イタリック体)

膜貫通ドメイン及び細胞内ドメイン(太字)

ヒト (配列番号 83)	<i>FTVTVPKDLVYVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNII</i> <i>QFVHGEEDLKQHSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGV</i> <i>YRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVVDPVTSEHELTCQAEG</i> <i>YPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTNEIFY</i> <i>CTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPPNERTHLVILGAILLCLGVA</i> <b>LTFIFRLRKGRMMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET</b>
マウス (配列番号 84)	<i>FTITAPKDLVYVEYGSNVTMECRFPVERELDLLALVVYWEKEDEQVI</i> <i>QFVAGEEDLKPQHSNFRGRASLPKDQLLGNAALQITDVKLQDAGV</i> <i>YCCIISYGGADYKRITLKVNAPYRKINQRISVDPATSEHELICQAEGYP</i> <i>EAEVIVTNSDHQPVSGKRSVTTSRTEGMLLNVTLRVNATANDVFY</i> <i>CTFWRSQPGQNHTAELIPELPATHPPQRNTHR<b>WVLLGSILLFLIVV</b></i> <b>STVLLFLRKQVRMLDVEKGVEDTSSKNRNDTQFEET</b>

10

20

30

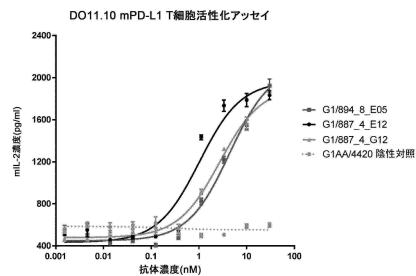
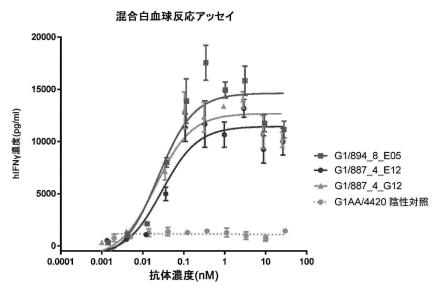
40

50

【図面】

【図 1】

【図 2】



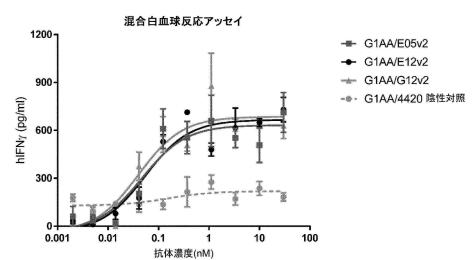
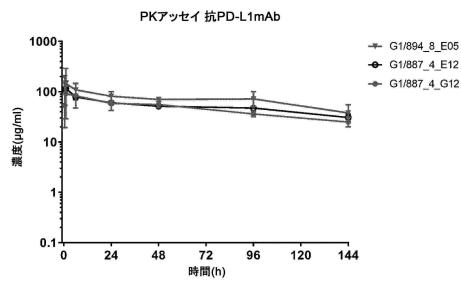
【図 3】

【図 4】

10

20

30



【配列表】

00076032050000001.app

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

	F I		
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395
		A 6 1 P	43/00
			1 2 1

イギリス国, ケンブリッジ ケンブリッジシャー シービー 22 3エーティー, バブラハム リサ  
ーチ キャンパス, エッデヴァ ビー 920, エフ - スター バイオテクノロジー リミテッド内

## (72)発明者 ラーキンス, マシュー

イギリス国, ケンブリッジ ケンブリッジシャー シービー 22 3エーティー, バブラハム リサ  
ーチ キャンパス, エッデヴァ ビー 920, エフ - スター バイオテクノロジー リミテッド内

## (72)発明者 ウィドロ, マテウシュ

イギリス国, ケンブリッジ ケンブリッジシャー シービー 22 3エーティー, バブラハム リサ  
ーチ キャンパス, エッデヴァ ビー 920, エフ - スター バイオテクノロジー リミテッド内

## (72)発明者 スレード, サチン

イギリス国, ソーストン ケンブリッジシャー シービー 22 3エイチジー, 82ビー ハイ ス  
トリート, イオンタス リミテッド内

## (72)発明者 ダイソン,マイケル

イギリス国, ソーストン ケンブリッジシャー シービー 22 3エイチジー, 82ビー ハイ ス  
トリート, イオンタス リミテッド内

## 審査官 市島 洋介

## (56)参考文献 特表 2018 - 508475 (JP, A)

国際公開第2017 / 220990 (WO, A1)

J. Immunother. Cancer, 2018年, 6:31, Published online 30 April 2018

## (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 07 K 1 / 00 - 19 / 00

C 12 N 15 / 00 - 15 / 90

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )