

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7510879号
(P7510879)

(45)発行日 令和6年7月4日(2024.7.4)

(24)登録日 令和6年6月26日(2024.6.26)

(51)国際特許分類		F I	
C 0 7 K	16/18 (2006.01)	C 0 7 K	16/18
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46
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
請求項の数 34 (全336頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2020-550642(P2020-550642)	(73)特許権者	515302853
(86)(22)出願日	平成31年3月19日(2019.3.19)		ファイヴ プライム セラピューティクス
(65)公表番号	特表2021-518133(P2021-518133		インク
	A)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3
(43)公表日	令和3年8月2日(2021.8.2)		2 0 - 1 7 9 9 , サウザンド オークス
(86)国際出願番号	PCT/US2019/022895		, ワン アムジェン センター ドライブ
(87)国際公開番号	WO2019/183040	(73)特許権者	511173147
(87)国際公開日	令和1年9月26日(2019.9.26)		ブリストル・マイヤーズ スクイブ カン
審査請求日	令和4年3月17日(2022.3.17)		パニー
(31)優先権主張番号	62/646,344		アメリカ合衆国 ニュージャージー 0 8
(32)優先日	平成30年3月21日(2018.3.21)		5 4 3 , プリンストン, ルート 2 0 6
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		アンド プロヴァンス ライン ロード
(31)優先権主張番号	62/696,597	(74)代理人	110002077
(32)優先日	平成30年7月11日(2018.7.11)		園田・小林弁理士法人
最終頁に続く		(72)発明者	ジョンストン, ロバート ジェー.
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 酸性pHでVISTAに結合する抗体

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】
pH6.0-6.5の酸性条件下でヒトV-domain Ig Suppressor of T cell Activation(hVISTA)に結合する単離された抗体であって、
抗体は、重鎖可変領域(VH)相補性決定領域1(CDR1)、CDR2およびCDR3を含み、
a. VH CDR1は配列番号491の残基26-35を含み、VH CDR2は、配列番号491の残基50-66を含み、かつVH CDR3は、配列番号491の残基99-112を含む；
b. VH CDR1は、配列番号503の残基26-35を含み、VH CDR2は、配列番号503の残基50-66を含み、かつVH CDR3は、配列番号503の残基99-112を含む；
c. VH CDR1は、配列番号515の残基26-35を含み、VH CDR2は、配列番号515の残基50-66を含み、かつVH CDR3は、配列番号515の残基99-112を含む；
d. VH CDR1は、配列番号527の残基26-35を含み、VH CDR2は、配列番号527の残基50-66を含み、かつVH CDR3は、配列番号527の残基99-112を含む；または、
e. VH CDR1は、配列番号539の残基26-35を含み、VH CDR2は

、配列番号539の残基50-66を含み、かつVH CDR3は、配列番号539の残基99-112を含む、
かつ、

抗体は、VL CDR1、CDR2およびCDR3を含む軽鎖可変領域(VL)を含み、VL CDR1は、配列番号68の残基24-35を含み、VL CDR2は、配列番号68の残基51-57を含み、かつVL CDR3は、配列番号68の残基90-98を含む、
単離された抗体。

【請求項2】

抗体は、配列番号491、503、515、527または539と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含むVHを含む、請求項1に記載の単離された抗体。

10

【請求項3】

pH6.0-6.5の酸性条件下でhVISTAに結合する抗体であって、

抗体は、K16R及びT84A置換の1つまたは両方により修飾されている、配列番号67、71、87、51、91、63、55、83、75、59、79、11、15、19、23、27、31、35、39、43、47、193、201、197、213、185、237、257、245、241、205、253、271、249、261、189、221、225、209、229、233、317、269、289、321、281、273、285、309、265、301、297、293、313、277、305、491、503、515、527または539のVHを含み、かつ、

20

抗体は、VL CDR1、CDR2及びCDR3を含み、

VL CDR1は、配列番号68の残基24-35を含み、VL CDR2は、配列番号68の残基51-57を含み、かつVL CDR3は、配列番号68の残基90-98を含む、
抗体。

【請求項4】

抗体は、配列番号68と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む、請求項1から3のいずれか一項に記載の単離された抗体。

【請求項5】

抗体は、配列番号68のVLを含む、請求項4に記載の単離された抗体。

30

【請求項6】

単離された抗体は、以下の特性：

a. 抗体は、酸性条件下では、pH7.0の中性条件またはpH7.35-7.45の生理的条件におけるよりも高い親和性で、hVISTAに結合する；

b. 抗体は、酸性条件下では、pH7.0の中性条件またはpH7.35-7.45の生理的条件下でのそのK_Dよりも少なくとも10倍低いK_DでhVISTAに結合する；

c. 抗体は、酸性条件下では、pH7.0の中性条件またはpH7.35-7.45の生理的条件下でのそのk_{off}よりも少なくとも5倍低いk_{off}でhVISTAに結合する；

d. 抗体は、pH7.0未満のpHを有する条件下でヒトT細胞へのhVISTAの結合を阻害する；

40

e. 抗体は、pH7.0未満のpHを有する条件下で、hUPSG L-1へのhVISTAの結合を阻害する、および／または、hVISTAへの結合についてhUPSG L-1と競合する；

f. 抗体は、ヘパラン硫酸プロテオグリカンへのhVISTAの結合を阻害する；

g. 抗体は、pH7.0未満のpHを有する条件下でヘパラン硫酸プロテオグリカンへのhVISTAの結合を阻害する；

h. 抗体は、pH7.0未満のpHを有する条件下で、T細胞増殖を強化すること；T細胞からのIFN-γ産生を強化すること；および／またはT細胞受容体媒介のNF-κBシグナル伝達を刺激することによって証明されるように、T細胞の活性化を刺激する；

50

- i. 抗体は、V I S T A 媒介の細胞－細胞接着を低減させる；
 - j. 抗体は、カニクイザルにおいて少なくとも100時間の平均滞留時間（M R T）を有する；
 - k. 抗体は、p H 6. 0－6. 5の酸性条件におけるV I S T A 陽性細胞より低い親和性で、投与される対象の末梢血中のV I S T A 陽性細胞に結合する；
 - l. 抗体は、p H 6. 0－6. 5の酸性条件におけるV I S T A 陽性細胞より低い速度で、投与される対象の末梢血中のV I S T A 陽性細胞を枯渇させる；
 - m. 抗体は、h V I S T A のヒスチジンリッチ領域で結合する；および
 - n. 抗体は、p H 6. 0－6. 5を有する条件下で、h V I S T A のヒスチジンリッチ領域で結合する；
- の一以上を有する、請求項1から5のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項7】

抗体は、次のアミノ酸残基：T 3 5、Y 3 7、K 3 8、T 3 9、Y 4 1、R 5 4、T 6 1、F 6 2、Q 6 3、L 6 5、H 6 6、L 6 7、H 6 8、H 6 9、F 9 7、L 1 1 5、V 1 1 7、I 1 1 9、H 1 2 1、H 1 2 2、S 1 2 4、E 1 2 5、およびR 1 2 7のうちの1または複数において突然変異を含むh V I S T A に対してよりも、配列番号2のアミノ酸配列を含むh V I S T A に高い親和性で結合し、ここで、付番は成熟h V I S T A （配列番号2）のものである、
請求項1から6のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項8】

抗体は、次のアミノ酸残基：T 3 5、Y 3 7、K 3 8、T 3 9、Y 4 1、R 5 4、T 6 1、F 6 2、Q 6 3、L 6 5、H 6 6、L 6 7、H 6 8、H 6 9、F 9 7、L 1 1 5、V 1 1 7、I 1 1 9、H 1 2 1、H 1 2 2、S 1 2 4、E 1 2 5、R 1 2 7のうちの2、3、4、または5以上において突然変異を含むh V I S T A に対してよりも、配列番号2のアミノ酸配列を含むh V I S T A に高い親和性で結合し、ここで、付番は成熟h V I S T A （配列番号2）のものである、請求項1から7のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項9】

抗体は、次の残基：H 6 8、F 9 7、L 1 1 5、V 1 1 7、I 1 1 9、H 1 2 1、H 1 2 2、S 1 2 4、E 1 2 5、R 1 2 7の残基のうちの1または複数において突然変異を含むh V I S T A に対してよりも、配列番号2のアミノ酸配列を含むh V I S T A に高い親和性で結合し、ここで、付番は成熟h V I S T A （配列番号2）のものである、請求項7または8に記載の抗体。

【請求項10】

抗体は、h V I S T A と（a）T細胞および／または（b）P S G L－1との間の相互作用を阻害し、かつ、

抗体は、酵母表面ディスプレイを用いて決定される、以下のh V I S T A 残基の群：（i）V 3 4、T 3 5、Y 3 7、K 3 8、T 3 9、Y 4 1、S 5 2、R 5 4、T 6 1、F 6 2、Q 6 3、L 6 5、H 6 6、L 6 7、H 6 8、H 6 9、F 9 7、L 1 1 5、V 1 1 7、I 1 1 9、H 1 2 1、H 1 2 2、S 1 2 4、E 1 2 5、R 1 2 7；（i i）V 3 4、T 3 5、Y 3 7、T 3 9、Y 4 1、S 5 2、R 5 4、F 6 2、L 6 5、H 6 6、H 6 8、L 1 1 5、V 1 1 7、I 1 1 9、R 1 2 0、H 1 2 1、H 1 2 2、S 1 2 4、E 1 2 5；または（i i i）Y 3 7、T 3 9、R 5 4、F 6 2、H 6 6、L 1 1 5もしくはV 1 1 7のうちの1から選択される1または複数のアミノ酸でh V I S T A に結合し、

ここで、付番は成熟h V I S T A （配列番号2）のものである、請求項1から9のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項11】

抗体は、h V I S T A と（a）T細胞および／または（b）P S G L－1との間の相互作用を阻害し、かつ、

抗体は、酵母表面ディスプレイを用いて決定される、h V I S T A 残基Y 3 7、T 3 9、R 5 4、F 6 2、H 6 6、V 1 1 7、I 1 1 9またはS 1 2 4の1または複数でh V I

10

20

30

40

50

S T Aに接触し、

ここで付番は成熟h V I S T A（配列番号2）のものである、請求項1から10のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項12】

抗体は、

- a. h V I S T A（配列番号2）のF Gループに結合する；
- b. 結晶学によって決定される、h V I S T Aのヒスチジンリッチなβシート伸長部に結合する；
- c. 結晶学によって決定される、成熟h V I S T A（配列番号2）のH121、H122およびH123（ヒスチジン三連構造）に、4.0オームストロング（Å）以下の距離で接触する；
- d. V H C D R 1およびV H C D R 3を介してh V I S T Aに接触する；
- e. 結晶学によって決定される、h V I S T A（配列番号2）のH121およびH122と水素結合を形成する；
- f. V H C D R 1、C D R 2またはC D R 3にある、少なくとも1または複数のグルタミン酸、アスパラギン酸またはヒスチジン残基を介してh V I S T Aに接触する；かつ／あるいは、
- g. pH 6.0－6.5の酸性条件下で、pH 7.0の中性条件またはpH 7.35－7.45の生理的条件下でのh V I S T Aへの結合のそのK_Dおよび／またはk_{off}の少なくとも10倍低いK_D（またはk_{off}）でh V I S T Aに結合する；

請求項1から11のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項13】

抗体は、

- ・ h V I S T A（配列番号2）と（a）T細胞および／または（b）P S G L－1との間の相互作用を阻害する；
 - ・ T細胞増殖を強化すること；T細胞からのI F N－γ産生を強化すること；および／またはT細胞受容体媒介のN F－κ Bシグナル伝達を刺激することによって、T細胞活性化を強化する；
 - ・ 酵母表面ディスプレイを使用して決定される、1つ以上のh V I S T A残基Y37、T39、R54、F62、H66、V117、I119またはS124を介してh V I S T Aに接触し、ここで付番は成熟h V I S T A（配列番号2）のものである；
 - ・ 結晶学によって決定される、h V I S T A（配列番号2）のヒスチジンリッチなβシート伸長部に結合する；
 - ・ 結晶学によって決定される、成熟h V I S T A（配列番号2）のH121、H122および／またはH123に、4.0オングストローム（Å）以下の距離で接触する；
 - ・ M S－H D Xにより決定されるように、配列番号1を有するh V I S T Aの、領域1：57 L G P V D K G H D V T F 68；領域2：86 R R P I R N L T F Q D L 97；および領域3：148 V V E I R H H H S E H R V H G A M E 165へ結合する；
 - ・ それぞれ配列番号67および68のアミノ酸配列を含むV HおよびV L、それぞれ配列番号51および52のアミノ酸配列を含むV HおよびV L、またはそれぞれ配列番号55および56のアミノ酸配列を含むV HおよびV Lを含む1または複数の抗体と、h V I S T Aへの結合について競合する（双方向競合）；
 - ・ 結晶学によって決定される、V H C D R 1、C D R 2またはC D R 3にある、少なくとも1または複数のグルタミン酸、アスパラギン酸またはヒスチジン残基を介してh V I S T Aに接触する；かつ／あるいは
 - ・ カニクイザルにおいて、少なくとも100時間の平均滞留時間（M R T）を有する、
- 請求項1から12のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項14】

抗体は、pH 7.0の中性条件またはpH 7.35－7.45の生理的条件下でのh V I S T Aへの結合のそのK_Dまたはk_{off}より少なくとも10倍低い、pH 6.0－6.

10

20

30

40

50

5 の酸性条件下での K_D および／または k_{off} を有し、
抗体は、

- ・ h V I S T A と (a) T 細胞および／または (b) P S G L - 1 との間の相互作用を阻害する；

- ・ T 細胞増殖を強化すること；T 細胞からの I F N - γ 産生を強化すること；および／または T 細胞受容体媒介の N F - κ B シグナル伝達を刺激することによって、T 細胞活性化を強化する；

- ・ 酵母表面ディスプレイを使用して決定される、h V I S T A 残基 Y 3 7、T 3 9、R 5 4、F 6 2、H 6 6、V 1 1 7、I 1 1 9 または S 1 2 4 の 1 つ以上を介して h V I S T A に接触し、ここで付番は成熟 h V I S T A (配列番号 2) のものである；

- ・ 結晶学によって決定される、h V I S T A のヒスチジンリッチな β シート伸長部に結合する；

- ・ 結晶学によって決定される、成熟 h V I S T A の H 1 2 1、H 1 2 2 および／または H 1 2 3 に、4.0 オングストローム (Å) 以下の距離で接触する；

- ・ M S - H D X により決定されるように、配列番号 1 を有する h V I S T A の領域 1 : 5 7 L G P V D K G H D V T F 6 8 ; 領域 2 : 8 6 R R P I R N L T F Q D L 9 7 ; および領域 3 : 1 4 8 V V E I R H H S E H R V H G A M E 1 6 5 へ結合する；

- ・ それぞれ配列番号 6 7 および 6 8 のアミノ酸配列を含む V H および V L、それぞれ配列番号 5 1 および 5 2 のアミノ酸配列を含む V H および V L、またはそれぞれ配列番号 5 5 および 5 6 のアミノ酸配列を含む V H および V L を含む 1 または複数の抗体と、h V I S T A への結合について競合する (双方向競合) ；

- ・ 結晶学によって決定される、V H C D R 1、C D R 2 または C D R 3 にある、少なくとも 1 つ以上のグルタミン酸、アスパラギン酸またはヒスチジン残基を介して h V I S T A に接触する；かつ／あるいは

- ・ カニクイザルにおいて、少なくとも 1 0 0 時間の平均滞留時間 (M R T) を有する、請求項 1 から 1 3 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 1 5】

抗体は、

- a. i c I E F によって測定される、6.5 から 6.8 の間の等電点 (p I) を有する；

- b. それぞれ配列番号 6 7 および 6 8 のアミノ酸配列を含む V H および V L、それぞれ配列番号 5 1 および 5 2 のアミノ酸配列を含む V H および V L、またはそれぞれ配列番号 5 5 および 5 6 のアミノ酸配列を含む V H および V L を含む抗体よりも低い凝集度を示す；

- c. それぞれ配列番号 6 7 および 6 8 のアミノ酸配列を含む V H および V L、それぞれ配列番号 5 1 および 5 2 のアミノ酸配列を含む V H および V L、またはそれぞれ配列番号 5 5 および 5 6 のアミノ酸配列を含む V H および V L を含む抗体の粘度と同じかそれより低い粘度を示す；

- d. それぞれ配列番号 6 7 および 6 8 のアミノ酸配列を含む V H および V L、それぞれ配列番号 5 1 および 5 2 のアミノ酸配列を含む V H および V L、またはそれぞれ配列番号 5 5 および 5 6 のアミノ酸配列を含む V H および V L を含む抗体の流体力学的半径と同じかそれより少ない流体力学的半径を示す；

- e. それぞれ配列番号 6 7 および 6 8 のアミノ酸配列を含む V H および V L、それぞれ配列番号 5 1 および 5 2 のアミノ酸配列を含む V H および V L、またはそれぞれ配列番号 5 5 および 5 6 のアミノ酸配列を含む V H および V L を含む抗体の融解温度 (T_m1) と同じかそれより高い融解温度 (T_m1) を示す；かつ

- f. 分析用サイズ排除クロマトグラフィー (a S E C) によって測定されるように、それぞれ配列番号 6 7 および 6 8 のアミノ酸配列を含む V H および V L、それぞれ配列番号 5 1 および 5 2 のアミノ酸配列を含む V H および V L、またはそれぞれ配列番号 5 5 および 5 6 のアミノ酸配列を含む V H および V L を含む抗体の高分子量種の量と同じかそれより少ない高分子量種の量を示す；

請求項 1 から 1 4 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 16】

I g G 抗体である、請求項 1 から 15 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 17】

I g G 1、I g G 2 または I g G 4 抗体である、請求項 16 に記載の抗体。

【請求項 18】

S 2 2 8 P 変異を含む I g G 4 抗体である、請求項 17 に記載の抗体。

【請求項 19】

抗体は、完全長重鎖を含む、請求項 1 から 18 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 20】

重鎖は、C 末端リジン残基を欠く、請求項 19 に記載の抗体。

【請求項 21】

抗体は、完全長軽鎖を含む、請求項 1 から 20 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 22】

抗体は、抗体断片である、請求項 1 から 15 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 23】

抗体断片は、F v、単鎖 F v (s c F v)、F a b、F a b' または (F a b')₂ である、請求項 22 に記載の抗体。

【請求項 24】

抗体は、二重特異性抗体または多重特異性抗体である、請求項 1 から 23 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 25】

標識に連結されている、請求項 1 から 24 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 26】

抗体薬物コンジュゲート (A D C) である、請求項 1 から 25 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 27】

請求項 1 から 26 のいずれか一項に記載の抗体をコードする核酸。

【請求項 28】

請求項 1 から 26 のいずれか一項に記載の抗体の重鎖および／または軽鎖をコードする核酸。

【請求項 29】

請求項 1 から 26 のいずれか一項に記載の抗体の重鎖をコードする核酸と、前記抗体の軽鎖をコードする核酸とを含む組成物。

【請求項 30】

請求項 27 若しくは 28 に記載の核酸、または請求項 29 に記載の組成物を含む細胞。

【請求項 31】

抗体が発現される条件で請求項 30 に記載の細胞を培養することを含む、抗体を調製する方法。

【請求項 32】

請求項 1 から 30 のいずれか一項に記載の、抗体、核酸、組成物または細胞と、薬学的に許容される担体とを含む組成物。

【請求項 33】

対象におけるがんを治療するための、請求項 1 から 26 のいずれか一項に記載の抗体、または請求項 32 に記載の組成物であって、抗体は、免疫応答を刺激し、かつ／または V I S T A アンタゴニスト抗体である、抗体、または組成物。

【請求項 34】

対象における感染症を治療するための、請求項 1 から 26 のいずれか一項に記載の抗体、または請求項 32 に記載の組成物であって、抗体は、免疫応答を刺激し、かつ／または V I S T A アンタゴニストである、抗体、または組成物。

【発明の詳細な説明】

10

20

30

40

50

【技術分野】

【0001】

本出願は、酸性pHでVドメイン免疫グロブリン含有T細胞活性化抑制因子（VISTA）に特異的に結合する抗体と、がん治療におけるその使用に関する。

【発明の概要】

【0002】

VドメインIg含有T細胞活性化抑制因子（VISTA）は、骨髄単核細胞および他の白血球によって発現される免疫受容体のB7ファミリーの共抑制メンバーである。ただし、VISTAが免疫応答を抑制するメカニズムはよくわかっていない。

【0003】

本発明者らは、他の既知の免疫受容体とは異なり、VISTAはその対抗受容体に結合し、酸性pHで選択的に機能し、生理的pH（例えば7.3-7.4）ではほとんど活性がないことを発見した。したがって、VISTAは、腫瘍床または炎症部位などの酸性微小環境で、血液中を循環している細胞または炎症を起こしていない非酸性組織に常在する細胞を攪乱させることなく、免疫応答を抑制し得る。さらに発明者らは、抗VISTA抗体はVISTAに、VISTA自体の酸性pH選択性を反映して、生理的pHではほとんどまたは全く結合せず、酸性pHで選択的に結合するように操作することができることを発見した。これらの酸性pH選択的抗体は、生理的pHでVISTAに結合する抗体と比較して、がんなどの疾患の治療に望ましい特性を提供し得る。

【0004】

本開示は、ヒトVISTA（「hVISTA」または「huVISTA」）などのVISTAの細胞外ドメイン（ECD）に酸性pH（例えば酸性条件）で特異的に結合する抗体に関する。本開示はまた、hVISTAなどのVISTAの細胞外ドメイン（ECD）に酸性pHで特異的に結合し、中性または生理的pHではほとんどまたは全く結合しない抗体に関する。本発明者らは、hVISTA-ECDアミノ酸配列には多くの保存されたヒスチジン残基と保存されていないヒスチジン残基が含まれていることと、VISTAのECD内のヒスチジン残基の頻度が他のB7ファミリーメンバーおよび他の免疫グロブリンスーパーファミリーメンバーと比較して非常に高いことを本明細書で指摘した。（図1Aおよび1Bを参照。）溶液中では、アミノ酸ヒスチジンは、約6.5のpKaを有し、これはつまり、pH6.5以下ではタンパク質内のヒスチジン残基がプロトン化されて正に帯電することが多く、一方、pH6.5より高いpHでは次第に非プロトン化され、中性の電荷になることを意味する。腫瘍の微小環境と炎症を起こした組織は酸性であることが多いため、これらの微小環境で見つかるVISTAタンパク質は、ヒスチジン残基において少なくとも部分的にプロトン化されている可能性がある。本発明者らは、本明細書で論じられるように、ヒスチジンプロトン化が、VISTAのコンフォメーション、表面構造および／または電荷密度に影響を及ぼし、ひいては、受容体-リガンド相互作用と抗体結合両方のためのpH特異的またはpH選択的エピトープを生成する可能性があると仮定した。酸性pHで結合するが中性または生理的pHで結合しない抗体を用いてVISTAを標的にすると、循環している骨髄単球細胞およびリンパ系臓器に常在する骨髄単核細胞を介して標的介在性の薬物動態が妨げられ、腫瘍微小環境における抗体のPK、受容体占有率および活性を向上させることができる。酸性pH選択的抗体はまた、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）、抗体依存性細胞貪食（ADCP）、相補体依存性細胞傷害（CDC）、およびペイロード（抗体-薬物コンジュゲート）の送達等の治療モダリティの場合、循環している標的細胞ではなく、腫瘍内の標的細胞に対するVISTA抗体の特異性を向上させる可能性がある。

【0005】

本出願が利益を主張する優先権を有する米国仮出願には、カラーで描かれた少なくとも1点の図面が含まれている。当該仮出願が後に一般に公開されるようになった場合、カラー図面のコピーは、請求および必要な料金の支払いにより、米国特許商標庁から入手可能である。

【図面の簡単な説明】

【0006】

【図1A】図1A-Cは、VISTAの細胞外ドメインに非常に高い頻度のヒスチジン残基が含まれていること、これらのヒスチジン残基の多くが保存されていること、これらのヒスチジン残基の少なくともいくつかが受容体-リガンド結合に関与している可能性があることを示している。図1Aは、免疫グロブリンドメイン含有タンパク質のグラフであり、各タンパク質の細胞外ドメインのアミノ酸残基数をx軸にプロットし、各タンパク質の細胞外ドメイン内のヒスチジン残基の頻度をy軸にプロットしたものである。各データポイントのサイズは、各タンパク質の細胞外ドメイン内のヒスチジン残基の総数に対応している。

10

【図1B】ヒト、カニクイザルおよびマウスVISTAの細胞外ドメインのアライメントされたアミノ酸配列を示す。シグナルペプチド（Sig）と膜貫通ドメイン（TMD）の配列の位置がマークされている。3つの種全てで保存されたヒスチジン残基を太字で下線付きで示しており、ヒトとカニクイザルで保存されたヒスチジン残基は、太字のみで示している。

【図1C】ヒトVISTA免疫グロブリンドメインの3次元構造のモデルを示す。ヒスチジン残基は、球状と棒状の図形で描かれている。

【図2A】図2A-Bは、VISTAの細胞外ドメインのヒスチジン残基が生理的pHではなく酸性pHに対する対抗受容体選択性を与えるモデルを示している。図2Aは、ヒスチジン残基におけるピロールアンモニウム基（NH）のプロトン化の欠如と存在の間の平衡を示している。溶液中のヒスチジンのpKaは6.5であり、ヒスチジン残基がより高いpHよりもpH6.5以下でプロトン化される可能性が高く、したがって、正に帯電していることを示している。

20

【図2B】図2Bは、VISTAがP-セレクトリン糖タンパク質リガンド1（PSGL-1）または他の対抗受容体およびリガンド（「VISTA-R」）と酸性pHで選択的に結合するモデルを示す。したがって、生理的pHではなく酸性pHでVISTAの細胞外ドメインに結合する抗体が、VISTAの活性を阻害または調節するために重要であり得る。

【図3】腫瘍浸潤性マクロファージ、樹状細胞、好中球、CD4+エフェクターT細胞、CD4+制御性T細胞、CD8+T細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、およびB細胞におけるVISTA表面発現レベル（抗VISTA抗体染色の平均蛍光強度（MFI））を示す。VISTAは、多くの腫瘍浸潤白血球、特に骨髄細胞に発現している。腫瘍微小環境は酸性であることが多く、VISTAが対抗受容体およびリガンドに結合することを可能にしている。

30

【図4A】図4A-Gは、VISTAが酸性pHで白血球およびPSGL-1に選択的に結合し、中性pHではほとんどまたは全く結合しないこと、およびこの結合が抗VISTA抗体によって遮断されることを示している。図4Aの左側は、活性化されたヒトCD4+T細胞に結合する蛍光コンジュゲート（fluorescently-conjugated）組換えVISTA多量体の代表的なヒストグラムを示す。濃い灰色から薄い灰色まで、塗りつぶされたヒストグラムは、pH7.0、6.5、6.4、6.3、6.1、および6.0での結合を示している。一部のヒストグラムは、対応するpHでラベル付けされている。pH6.0での非VISTAコントロール多量体結合は、塗りつぶされていないヒストグラムとして表示されている。右側では、異なるpHでの2ドナーからの活性化ヒトCD4+T細胞に結合するVISTA（丸）およびコントロール（三角形）多量体の平均MFIをグラフ化している。

40

【図4B】pH6.0およびpH7.4における末梢血単核球（PBMC）への組換えVISTA多量体結合の代表的なヒストグラムを示す。濃い灰色から薄い灰色まで、塗りつぶされたヒストグラムは、pH6.0でのCD19+B細胞、CD4+T細胞、CD8+T細胞、CD56+NK細胞、およびCD14+単球への結合を示している。塗りつぶされていない、実線の境界線と点線の境界線のヒストグラムは、pH7.4での全PBMC

50

リンパ球と単球への結合をそれぞれ示している。

【図4C】抗VISTA遮断抗体（四角形または非VISTA特異的アイソタイプが一致するコントロール抗体抗体（丸）の存在下で活性化されたヒトCD4+ T細胞に結合する代表的な組換えVISTA多量体を示す。抗体濃度は対数スケールでプロットされている。非線形回帰も表示されている。三角形は、組換えVISTA多量体で染色されなかった活性化ヒトCD4+ T細胞からのバックグラウンドシグナルを示す。

【図4D】組換えVISTA多量体の、ヒトPSGL-1を発現するようにトランスフェクトされたヘパラン硫酸欠乏チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞（pGSD-677株、アメリカンタイプカルチャーコレクション）へのpH6.0での結合の代表的な2次元フローサイトメトリープロットを示す。図4Cに示した抗VISTA遮断抗体の存在下および非存在下で多量体結合を行った。組換えVISTA多量体によって染色されていないままの細胞は、コントロールとして表示されている。PSGL-1抗体染色をy軸にプロットし、VISTA多量体染色をx軸にプロットした。

【図4E】pH6.0およびpH7.4でマウス脾細胞に結合する組換えマウスVISTA-Fc融合タンパク質の代表的なヒストグラムを示す。濃い灰色から薄い灰色まで、塗りつぶされたヒストグラムは、pH6.0でのCD8+ T細胞、CD11b+骨髄細胞およびCD4+ T細胞への結合を示している。塗りつぶされていないヒストグラムは、全脾細胞へのpH7.4での結合を示している。

【図4F-G】図4Fと4Gは、VISTA多量体がそれぞれ単球、好中球に結合し、pH6.0ではpH7.4より強く結合することを示している。

【図5A-B】図5A-Dは、VISTAがT細胞抑制および細胞：細胞接着を酸性pHで優先的に媒介することと、両方の効果が抗VISTA遮断抗体で逆転され得ることを示す。図5Aは、pH6.0および7.0における、hVISTAまたはベクターコントロールを発現する293T細胞（y軸上にプロット）と細胞表面ヘパラン硫酸を内因的に発現するCHO細胞（x軸上）との間の代表的な細胞：細胞コンジュゲート形成を示す。図5Bは、抗VISTA遮断抗体、抗VISTA非遮断抗体、またはアイソタイプが一致する非VISTA特異的コントロール抗体の存在下で、同じ細胞間でpH6.0で形成された細胞コンジュゲートの頻度のグラフである。

【図5C-D】図5Cは、VISTAを発現する293T細胞および抗ヒトT細胞受容体アゴニスト抗体OKT3（「人工抗原提示細胞」）との様々なpHでの共培養後に、NFkBルシフェラーゼレポーターを発現するJurkat（ヒトT細胞株）細胞によって生成されたルシフェラーゼ活性の代表的なプロットを示す。抗VISTA遮断抗体（四角形）またはアイソタイプが一致する非VISTA特異的コントロール抗体（丸）を共培養細胞に加えた。図5Dでは、図5Aに示したデータを、コントロールと比較した、抗VISTA抗体処理によるルシフェラーゼシグナルの増加倍率としてプロットされている（「効果サイズ」）。

【図6A】図6A-Gは、VISTAが細胞内エンドソーム、特にRab11+リサイクリングエンドソーム内に見られ、エンドソーム輸送により細胞表面との間で再利用され得ることを示している。図6Aは、ヒトVISTAを発現する293T細胞内のVISTA、Rab5（初期エンドソームマーカー）、Rab7（後期エンドソームマーカー）、およびRab11（リサイクリングエンドソームマーカー）の共局在を示す。

【図6B】ヒト単球内のVISTAとRab11の共局在を示す。細胞内VISTAは、Rab11+リサイクリングエンドソームと共局在している。VISTA抗体と同じアイソタイプの非VISTA結合性コントロール抗体（「cAb」）は、単球に検出可能に結合しない。

【図6C】pH7.4（黒）、6.7（濃い灰色）、6.0（薄い灰色）での組換えVISTAに対する3つの抗VISTA抗体の結合を示す。

【図6D】同じ抗VISTA抗体1（逆三角形）、2（丸）、3（四角）、またはカテプシンB感受性リンカーおよび細胞傷害性ペイロードを有する非VISTA特異的コントロール抗体（三角形）による死滅に対するVISTA発現急性骨髄性白血病（AML）細胞

10

20

30

40

50

株の感受性を示す。細胞生存性 (Cell Titer - Glo LU) を y 軸にプロットされ、抗体濃度は x 軸にプロットされている。

【図 6 E】抗 VISTA 抗体 3 の hVISTA 結合を、酸性 pH で損なわれた結合を示さない、操作された変異体 (「VISTA mAb 3c」) のそれと比較している。

【図 6 F】抗 VISTA 抗体 3 (四角形) と 3c (菱形) の力価を比較した抗体薬物-コンジュゲートアッセイを示す。

【図 6 G】初期エンドソームおよびリサイクリングエンドソームを経由して VISTA が細胞表面との間で再利用されるエンドソーム輸送の模式図である。

【図 7 A】図 7 A-7 F は、酸性 pH 選択的な抗体を得るために、抗 VISTA 抗体変異体ライブラリーをどのように設計し、スクリーニングしたかを示す。図 7 A は、スクリーニング用の '029 ライブラリーを作製するために、抗ヒト抗体クローン P1-061029 (略称 '029) の VH CDR 3 中で行われたアミノ酸置換を示す。酸性 pH での VISTA のヒスチジンリッチ領域への結合を潜在的に改善するために、ライブラリーは、負に帯電したアミノ酸であるアスパラギン酸塩およびグルタミン酸塩、ならびに pH 応答性ヒスチジンの置換を可能にした。X = H、D または E。括弧の付いた配列は、傾向性の導入を避けるために合成から排除した。1-2 個の変異を有する P1-061029 HCDR 3 の合計 647 個のユニークな配列を合成した。

【図 7 B】'029 ライブラリーを反復的にスクリーニングし酸性 pH 選択的抗体変異体を選択する手順を示す。R は選択ラウンドを示す。

【図 7 C】9 ラウンドの選択後の変異体プールを示す代表的な二次元フローサイトメトリ-のプロットデータを示す。VISTA 結合は y 軸にプロットされ、変異体抗体の発現は x 軸にプロットされている。様々な抗体濃度と pH での結合データが示されている。

【図 7 D】pH 6.0 および 7.4 でのヒト VISTA への P1-061029 およびその子孫クローンの結合の図である。

【図 7 E】pH 6.0 でのヒト VISTA への P1-061029 およびその子孫クローンのオフ速度の図である。

【図 7 F】pH 6.0 および pH 7.4 でのヒト VISTA に対する抗体 P1-068761、P1-068767 および P1-061029 の SPR 結合データを示す。

【図 8 A-B】図 8 A-F は、VISTA 抗体 P1-068761 および P1-068767 の酸性 pH 選択的細胞結合、遮断、およびエフェクター活性を示す。図 8 A および図 8 B は、ヒト VISTA を異所的に発現する Raji 細胞に結合した酸性 pH 選択的抗体 P1-068761 (図 8 A) および P1-068767 (図 8 B) の平均蛍光強度を示す。細胞を、約 pH 6.0 (丸; 図 8 A の最も高い曲線)、6.1 (四角形; 3 番目に高い曲線)、6.2 (三角形; 2 番目に高い曲線)、6.4 (逆三角形; pH 6.1 の曲線に近い 4 番目に高い曲線)、6.6 (菱形; 下から 4 番目の曲線)、7.0 (丸; 下から 3 番目の曲線)、7.2 (四角形; 下から 2 番目の曲線)、および 8.1 (塗りつぶされていない三角形; 図 8 A の 1 番下の曲線) で染色した。結合は、蛍光コンジュゲート抗ヒト IgG 二次抗体で検出された。

【図 8 C】様々な pH で 3125 ng/mL で、ヒト VISTA を異所的に発現する Raji 細胞に結合する P1-068767 (丸) およびアイソタイプが一致する非特異的コントロール抗体 (三角形) を示す。P1-068767 の結合の 50% が失われる pH である「pH₅₀」は、約 6.6 である。

【図 8 D】ヒト単球に結合している、アイソタイプが一致する非特異的コントロール抗体 (pH 7.0 が塗りつぶされた円で、pH 6.0 が塗りつぶされていない円)、抗 VISTA mAb 2 (「コントロール」、図 6 C 参照、pH 7.0 が塗りつぶされた四角形で、pH 6.0 が塗りつぶされていない四角形)、P1-068761 (pH 7.0 が塗りつぶされた三角形で、pH 6.0 が塗りつぶされていない三角形) および P1-068767 (pH 7.0 が塗りつぶされた逆三角形で、pH 6.0 が塗りつぶされていない逆三角形) の平均蛍光強度を示す。結合は、蛍光コンジュゲート抗ヒト IgG 二次抗体により検出された。

10

20

30

40

50

【図 8 E】図 8 E は、P 1-0 6 1 0 2 9（四角形）、P 1-0 6 8 7 6 1（三角形）および P 1-0 6 8 7 6 7（逆三角形）による、組換え V I S T A 多量体の活性化ヒト C D 4 + T 細胞への p H 6 . 0 での結合の同等の遮断を示す一方、非 V I S T A 特異的コントロール抗体（丸）は V I S T A 結合を遮断しなかったことも示している。

【図 8 F】生理的 p H での抗体依存性細胞細胞傷害性（A D C C）の媒介における P 1-0 6 8 7 6 1（三角形）と P 1-0 6 8 7 6 7（逆三角形）の力価の低下を示す。P 1-0 6 1 0 2 9（四角形）、非 V I S T A 特異的ポジティブコントロール抗体（丸）および非 V I S T A 特異的ネガティブコントロール抗体（菱形）も示されている。全標的細胞に対する標的細胞をパーセンテージとして N K 細胞特異的溶解を y 軸にプロットし、抗体濃度を x 軸にプロットしている。非線形回帰も表示されている。

10

【図 9】カニクイザルにおける酸性 p H 選択的抗 V I S T A 抗体の強化された薬物動態（P K）を示す。この図は、V I S T A 抗体 2（「コントロール」、丸、図 6 C を参照）、V I S T A 抗体 3（「酸性 p H 感受性」、四角形、図 6 C を参照）、または P 1-0 6 8 7 6 7（三角形）で処理されたカニクイザルにおける経時的な血清抗体濃度を示す。

【図 1 0 A】図 1 0 A および図 1 0 B は、酸性 p H 選択的抗 V I S T A 抗体 ‘ 7 6 1 および ‘ 7 6 7 における突然変異体の結合効果を示す。図 1 0 A は、p H 7 . 4、p H 6 . 7 および p H 6 . 0 での P 1-0 6 8 7 6 1 復帰変異体の速度論的結合データと、P 1-0 6 8 7 6 1 と比較したそれらの復帰突然変異の位置を示す。

【図 1 0 B】p H 7 . 4、p H 6 . 7 および p H 6 . 0 での P 1-0 6 8 7 6 7 復帰変異体の速度論的結合データと、P 1-0 6 8 7 6 7 と比較したそれらの復帰突然変異の位置を示す。

20

【図 1 1 A】図 1 1 A - C は、様々な抗 V I S T A 抗体のエピトープビニングおよびマッピングを示す。図 1 1 A は、P 1-0 6 1 0 2 9 および V I S T A 抗体コントロールと比較した P 1-0 6 8 7 6 1 および P 1-0 6 8 7 6 7 の V I S T A エピトープ競合を示す。

【図 1 1 B - C】非遮断 h V I S T A 抗体（m A b 1；図 1 1 C）と比較した、表 1 4 に列挙されている遮断 h V I S T A 抗体（図 1 1 B）の全ての残基のエピトープの描写を示す。アミノ酸残基 6 6（H）および 1 6 2（A）は、分子の配向を示すために表示されている。ヒスチジン残基は灰色であり、エピトープ残基は黒色である。

【図 1 2 A - C】次の画像キャピラリー等電気泳動（i c I E F）データを示す：図 1 2 A：P 1-0 6 1 0 2 9、図 1 2 B：P 1-0 6 8 7 6 1、および図 1 2 C：P 1-0 6 8 7 6 7。主な種の等電点（p I メイン）と p I マーカーを表示している。

30

【図 1 3 A】図 1 3 A および B は、‘ 0 2 9 および ‘ 0 1 5 子孫クローンの可変領域のアライメントを示している。図 1 3 A は、‘ 0 2 9 とその子孫クローンの可変領域のアミノ酸配列のアライメントを示す。

【図 1 3 B】‘ 0 1 5 とその子孫クローンの可変領域のアミノ酸配列のアライメントを示す。

【図 1 4】P 1-0 6 8 7 6 1 の V H 配列のアライメントを、K 1 6 R および T 8 4 A 置換ありとなしで示す。二重下線付きの残基は、フレームワーク領域の位置 1 6 および 8 4 を示し、網掛け部分は C D R を示す。

【図 1 5 A - F】図 1 5 A - O：野生型 C 5 7 B L 6 マウスに M C 3 8 腫瘍を移植し、非結合性のアイソタイプ一致コントロール抗体（黒の四角形）、マウス V I S T A 遮断抗体 V I S T A . 1 0（上向きの三角形）、マウス P D - 1 遮断抗体（四角形）、または V I S T A と P D - 1 遮断抗体（下向きの三角形）との組み合わせで処理した。全ての抗体は、マウス I g G 1 - D 2 6 5 A（F c 不活性）アイソタイプであった。（図 1 5 A - D 参照）これらのデータは、3 つの独立した実験からの代表的なものである。図 1 5 A - D は、経時的な腫瘍体積を示す。グループあたり n = 1 0。「T F」は腫瘍を拒絶したマウスを表す。図 1 5 E および F は、治療開始 7 日後の腫瘍内 C D 8 + T 細胞および C D 4 + T 細胞の頻度を示す。グループあたり n = 5。ダネットの多重比較法を用いた一方向 A N O V A、P = 0 . 0 0 0 1。

40

【図 1 5 G - H】図 1 5 G および H は、図 1 5 A - D に示されている個々のマウスの結果

50

を示す。

【図15I】図15I：ノックアウトマウスと野生型VISTA同腹仔にMC38腫瘍を移植し、非結合性のアイソタイプ一致コントロール抗体（上の2本の曲線（0/7TFおよび0/5TF、丸と下向き三角形の印）またはマウスPD-1遮断抗体（下の2本の曲線0/5TFと5/8TF、四角形と下向き三角形の印）で処理した。腫瘍成長の中央値および試験の終了時に無腫瘍（TF）であったマウスの数対マウスの総数は、各曲線（例えば0/7TF）の隣に示されている。これらのデータは、2つの独立した実験からの代表的なものである。エラーバーは四分位範囲を表す。

【図15J-K】図15J-Kは、MC38腫瘍が移植され、非結合性のアイソタイプ一致コントロール抗体（図15J）、マウスPD-1遮断抗体（図15K）で処理されたヒトVISTAノックイン（KI）マウスの腫瘍体積を示す。

【図15L-M】図15L-Mは、MC38腫瘍が移植され、マウスPD-1遮断抗体と非pH選択的ヒトVISTA遮断抗体P1-061029との組み合わせ（図15L）またはマウスPD-1遮断抗体と酸性pH選択的ヒトVISTA遮断抗体P1-068767との組み合わせ（図15M）で処理されたヒトVISTAノックイン（KI）マウスの腫瘍体積を示す。全ての抗体は、マウスIgG1-D265Aアイソタイプであった。経時的な腫瘍体積が示されている。グループあたりn=5-8。これらのデータは、1つの独立した実験からの代表的なものである。

【図15N-O】図15Nは、5mg/kgのP1-061029（WT、下向き三角形；KI、四角形）またはP1-068767（WT、上向き三角形；KI、菱形）の静脈内注射後のヒトVISTA KIおよび野生型同腹仔（WT）マウス血清抗体濃度を示す。KIマウスにおけるP1-061029およびP1-068767の算出された血清平均滞留時間（MRT）は、それぞれ4.1時間、7.1時間と推定される。抗体あたりn=4頭のKIマウスおよび1-2頭のWTマウス。これらのデータは、単一の実験からの代表的なものである。図15Oは、5mg/kgのVISTA.4（丸）またはP1-068767（四角形）の静脈内注射後のカニクイザル血清抗体濃度を示す。VISTA.4およびP1-061029の算出された血清平均滞留時間（MRT）は、それぞれ7.6時間、7.17時間と推定される。抗体あたりn=1頭のサル。これらのデータは、単一の実験からの代表的なものである。エラーバーは、特に記載のない限り、平均値の標準誤差を表す。

【図16A-C】治療開始7日後のPD-1（図16A）、LAG-3（図16B）、およびTIM-3（図16C）の腫瘍内CD8+ T細胞発現の典型的なヒストグラムを示す。エラーバーは、平均値の標準誤差を表す。

【図17A】図17A-Cは、VISTAが酸性pHでPSGL-1に結合すること、およびこの相互作用がVISTA抗体P1-061029、P1-068761、P1-068767およびVISTA.4によって遮断されることを示す。図17Aは、pH6.0およびpH7.4で捕捉されたPSGL-1へのP-セレクチン-FcおよびVISTA-Fc結合のBLI結合センサーグラムを示す。

【図17B】抗体P1-061029、P1-068761、P1-068767およびVISTA.4が、PSGL-1のhVISTAへの結合を阻害することを示すヒストグラムである。

【図17C】VISTA.4（上向き三角形）および抗PSGL-1抗体KPL-1（丸）による、CHO-PSGL-1細胞に対するVISTA-Fc結合の抗体遮断を示す。これらのデータは、2つの独立した実験からの代表的なものである。エラーバーは、平均値の標準誤差を表す。

【図18A】図18A-Eは、P1-068767 FabおよびhVISTAまたは（図18Eでは）非遮断抗体VISTA.5およびhVISTAの共結晶構造の描写である。VISTA IgVドメインは、中央のβシートの、ヒスチジンリッチな異常な伸長部を特徴とする。VISTA IgVドメインは、P1-068767断片抗原結合（Fab）と共結晶化された。VISTA+P1-068767複合体の結晶構造分解能1.6 Åで決

10

20

30

40

50

定した。図18Aは、VISTA IgVドメイン：P1-068767 Fab共結晶構造を示す。図18Aは、P1-068767 Fabとの複合体におけるVISTA IgVドメインの全体構造を示す（重鎖、濃い灰色；軽鎖、薄い灰色）。

【図18B】図18Bは、VISTAおよびPD-L1 IgVドメインの重ね合わせを示す。VISTAのヒスチジン残基は、棒の形で描かれている。図18Bは、VISTAのIgVドメインがヒスチジンリッチな異常なβシート伸長部を有することを示す。

【図18C】図18Cは、VISTA+P1-068767結晶構造によって明らかにされたP1-068767エピトープの分子表面（薄い灰色の静電表面）を示している。図18Cは、遮断抗体がVISTAのヒスチジンリッチなβシート伸長部に結合することを示す。

【図18D】図18Dは、VISTA（灰色のリボンのイラスト、エピトープの残基H121、H122およびH123が棒の形で描かれている）とP1-068767（静電表面として描かれ、その残基E100とD102が棒の形）との間の界面の拡大図である。図18Dは、酸性pH選択的P1-068767がVISTAヒスチジンを酸性残基と結合させることを示す。

【図18E】図18Eは、非遮断抗体VISTA.5がP1-068767とは異なるhVISTAの領域に結合することを示す。

【図19】図19は、MS-HDX（MSトレース）によって決定されたVISTA.4のエピトープを示す。

【図20】図19のデータに基づいて、hVISTAのアミノ酸配列におけるVISTA.4のエピトープの位置を示す。残基57-68、86-97および148-165は図19でも強調されており、図20では、より薄い灰色のテキストと下線で示されている。

【図21A-B】図21Aおよび21Bは、VISTA.4（三角形）抗体、VISTA.5（四角形）抗体、および非VISTA結合性抗体（コントロール、丸）の存在下でpH6.0で活性化ヒトCD4+ T細胞に結合するVISTA多量体を示す。図21Bは、遮断されていないT細胞に対する各抗体の遮断効率を示す。ダネットの多重比較法を用いた一方向ANOVA、***, $P < 0.001$ 。これらのデータは、5つ以上（more than four）の独立した実験の代表的なものである。エラーバーは、平均値の標準誤差を表す。

【図22A-B】図22A-Bは、酸性pHでVISTA結合を遮断する抗体が機能することを示している。遮断抗体VISTA.4（四角形）、非遮断抗体VISTA.5（三角形、および非VISTA結合性（コントロール、丸）抗体の、VISTAを発現するように操作された293T細胞とTCRAゴニスト（293T-OKT3-VISTA）との共培養ヒトCD4+ T細胞の増殖（図22A）およびインターフェロンγ産生（図22B）に対する効果。ダネットの多重比較法を用いた一方向ANOVA、*, $P < 0.05$ 。これらのデータは、5つ以上の独立した実験の代表的なものである。

【図23】図23は、様々なpHでの293T-OKT3-VISTA細胞との共培養後のJurkat T細胞活性化（NF-κB阻害の測定による）に対するVISTA.4遮断の効果を示す。これらのデータは、3つの独立した実験からの代表的なものからなる。

【図24】図24は、ヒトCD4+ T細胞のVISTA抑制に対するpHの効果を示している。VISTA.4（上向き三角形）、VISTA.5（下向き三角形）、または非VISTA結合性抗体（抗体コントロール、四角形）の存在下で、プレートコーティングされたOKT3およびVISTA-Fcを使用して、示されたpHで細胞を刺激した。プレートコートされたOKT3とコントロールIgG（VISTAコントロール、黒の丸）、またはOKT3なし（OKT3なし、灰色の菱形）で刺激された細胞も示されている。これらのデータは、1つの独立した実験からの代表的なものである。

【図25A】図25A-Eは、VISTA:PSGL-1の結合特異性がヒスチジン残基およびスルホチロシン残基によって決定されることを示す。図25Aに示すように、シアリルルイスX修飾（decoration）の有無（それぞれSLX+、SLX-）にかかわらず、ヒトPSGL-1 19-mer-Fc組換えタンパク質が細胞内で作製された

10

20

30

40

50

。VISTA-FcおよびP-セレクトイン-Fcについて、pH 6.0（白）および7.4（黒）でのBLI結合の大きさを示す。データは、単一の独立した実験からの代表的なものである。

【図25B】図25Bに示すように、シアリルルイスX修飾で生成されたヒトPSGL-1 19-mer-Fc糖ペプチドは、90%を超えるチロシン硫酸化（高sY）と1%未満のチロシン硫酸化（低sY）のを有する画分に分離された。VISTA-FcおよびP-セレクトイン-Fcについて、pH 6.0（白）と7.4（黒）でのBLI結合の大きさを示す。これらのデータは、単一の独立した実験からの代表的なものである。

【図25C】図25C-25Dで提供されるように、ヒトVISTA-Fc組換えタンパク質は、153-155位のヒスチジン残基をそのまま残して（WT VISTA）、またはアラニン（H2A突然変異体）、アスパラギン酸（H2D突然変異体）もしくはアルギニン（H2R突然変異体）で置換した状態で生成された。図25Cは、pH 6.0および7.4で捕捉されたPSGL-1に結合する野生型および突然変異型VISTA-Fcタンパク質のBLI結合の大きさを示す。これらのデータは、単一の実験からの代表的なものである。

【図25D】図25Dは、WT VISTA（丸）、H2A突然変異体（四角形）、H2D突然変異体（下向き三角形）およびH2R突然変異体（灰色、上向き三角形）ならびにコントロール（菱形）のpH 6.0でのCHO-PSGL-1細胞へのISTA-Fcの結合を示す。これらのデータは、2つの独立した実験からの代表的なものである。

【図25E】図25Eは、VISTAのヒスチジンリッチなリガンド図25Eは、VISTAのヒスチジンリッチなリガンド界面（灰色のリボン、下）との複合体におけるPSGL-1 19-mer糖ペプチド（上）の計算モデルを示す。VISTA残基H98、H100、H153およびH154が示されている。PSGL-1残基Y46、Y48、E56、T57およびY58も示されている。

【発明を実施するための形態】

【0007】

定義

本明細書において、別途指定のない限り、「または（or）」の使用は、「および／または（and/or）」を意味する。多数項従属クレームの文脈において、「または」の使用は、択一的な形式によってのみ、複数の先行する独立または従属クレームを引用する。

「含む（comprising）」、「含む（including）」および「有する（having）」という用語は、本明細書では互換的に使用することができる。本発明によれば、「単離された」分子は、その自然環境から取り出された分子である。したがって、「単離された」という用語は、分子が精製されている程度を必ずしも反映するものではない。

【0008】

「ポリペプチド」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指し、最小の長さに限定されない。「タンパク質」は、1つ以上のポリペプチドを含み得る。そのようなアミノ酸残基のポリマーは、天然または非天然アミノ酸残基を含有し得、限定されないが、ペプチド、オリゴペプチド、アミノ酸残基の二量体、三量体、および多量体が含まれる。全長タンパク質およびその断片の両方がこの定義に包含される。この用語はまた、ポリペプチドの発現後修飾、例えばグリコシル化、シアリル化、アセチル化、リン酸化等を包含する。さらに、本発明において「ポリペプチド」または「タンパク質」とは、それぞれ、タンパク質が所望の活性を維持する限り、天然配列に対する欠失、付加および置換（一般的に保存的な性質）などの修飾が含むポリペプチドまたはタンパク質を指す。これらの修飾は、部位特異的突然変異誘発などによる意図的なものでも、タンパク質を産生する宿主の突然変異またはPCR増幅によるエラーなどによる偶発的なものでもよい。タンパク質は2つ以上のポリペプチドを含み得る。

【0009】

「VISTA」は、免疫チェックポイント制御因子のB7ファミリーのメンバーである、

T細胞活性化タンパク質のVドメイン免疫グロブリン含有抑制因子の略語である。VISTAは、PD-1ホモログ(PD1H)、B7-H5、C10orf54、ESC-1の分化(Dies-1)、血小板受容体Gi24前駆体、およびデスドメイン1α(DD1α)としても知られている。本明細書における「hVISTA」または「huVISTA」という用語は、ヒトVISTAタンパク質を指す。シグナルペプチドを含むhVISTAのアミノ酸配列は、配列番号1に提供されているが、シグナルペプチドを含まない配列は、配列番号2に提供されている。(以下の配列表を参照のこと。)VISTAの細胞外ドメインすなわち「ECD」または「VISTA-ECD」は、細胞外空間に位置するVISTAタンパク質の部分の指し、hVISTAの場合は、配列番号2の1-162のアミノ酸を含む。(図1Bも参照のこと。)hVISTAの「IgVドメイン」部分は、配列番号2の5-135の残基を含む。

10

【0010】

「リーダーペプチド」または「リーダー配列」という用語は、哺乳動物細胞からのポリペプチドの分泌を促進する、ポリペプチドのN末端に位置するアミノ酸残基の配列を指す。リーダー配列は、哺乳動物細胞からのポリペプチドの輸送の際に切断され、成熟タンパク質を形成し得る。リーダー配列は、天然でも合成でもよく、それらが結合するタンパク質に対して異種または相同でもよい。

【0011】

本明細書における用語「抗体」または「Ab」は最も広い意味で用いられ、種々の抗体構造を包含し、限定されるものではないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体(例えば二重特異性抗体)、および、所望の抗原結合活性を示す限り、抗体断片を含む。本明細書で使用される場合、この用語は、重鎖の少なくとも相補性決定領域(CDR)1、CDR2およびCDR3、ならびに軽鎖の少なくともCDR1、CDR2およびCDR3を含む分子を指し、ここで、分子は抗原へ結合することができる。また、抗体という用語には、抗原に結合することが可能な断片、例えばFv、単鎖Fv(scFv)、Fab、Fab'および(Fab')₂を含むが、これらに限定されない。また、抗体という用語には、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、およびマウス、カニクイザルなどの種々の種の抗体も含まれるが、これらに限定されるものではない。

20

【0012】

「重鎖」または「HC」という用語は、リーダー配列の有無を問わず、少なくとも重鎖可変領域を含むポリペプチドを指す。いくつかの実施態様では、重鎖は、重鎖定常領域の少なくとも一部を含む。「完全長重鎖」という用語は、リーダー配列の有無を問わず、およびC末端リジン(K)の有無を問わず、重鎖可変領域および重鎖定常領域を含むポリペプチドを指す。

30

【0013】

「重鎖可変領域」または「VH」という用語は、重鎖の相補鎖決定領域(CDR)1、フレームワーク領域(FR)2、CDR2、FR3およびCDR3を含む領域を指す。いくつかの実施態様では、重鎖可変領域はまた、FR1の少なくとも一部および／またはFR4の少なくとも一部を含む。以下に明記されるように、いくつかの実施態様では、重鎖CDR1は、本明細書中のVH配列番号の残基26-35を含み；重鎖CDR2は、本明細書中のVH配列番号の残基50-66を含み；重鎖CDR3は、本明細書中のVH配列番号の残基99-110を含む。他の実施態様では、指定する場合、重鎖CDR1はKabatat残基31-35に対応し；重鎖CDR2はKabatat残基50-65に対応し；重鎖CDR3はKabatat残基95-102に対応する。例えば、Kabatat Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987 and 1991, NIH, Bethesda, Md.)を参照のこと。いくつかの実施態様では、重鎖CDRは、以下の配列表または表2などにあるように、本明細書で指定されている通りである。

40

【0014】

「軽鎖」または「LC」という用語は、リーダー配列の有無を問わず、少なくとも軽鎖可

50

変領域を含むポリペプチドを指す。いくつかの実施態様では、軽鎖は、軽鎖定常領域の少なくとも一部を含む。「完全長軽鎖」という用語は、リーダー配列の有無を問わず、軽鎖可変領域および軽鎖定常領域を含むポリペプチドを指す。

【0015】

「軽鎖可変領域」または「VL」という用語は、軽鎖CDR1、FR2、HVR2、FR3およびHVR3を含む領域を指す。いくつかの実施態様では、軽鎖可変領域はまた、FR1および／またはFR4を含む。以下に明記されるように、いくつかの実施態様では、軽鎖CDR1は、本明細書中のVL配列番号の残基24-35を含み；軽鎖CDR2は、本明細書中のVL配列番号の残基51-57を含み；軽鎖CDR3は、本明細書中のVL配列番号の残基90-98を含む。他の実施態様では、指定する場合、軽鎖CDR1はKabat残基24-34に対応し；軽鎖CDR2はKabat残基50-56に対応し；軽鎖CDR3はKabat残基89-97に対応する。例えば、Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (1987 and 1991, NIH, Bethesda, Md.)を参照のこと。いくつかの実施態様では、軽鎖CDRは、配列表などにあるように、本明細書で指定されている通りである。

【0016】

「キメラ」抗体は、重鎖および／または軽鎖の一部が特定の起源または種に由来する一方、重鎖および／または軽鎖の残りは異なる起源または種に由来する抗体を指す。いくつかの実施態様では、キメラ抗体は、第1の種（マウス、ラット、カニクイザル等）からの少なくとも1つの可変領域と第2の種（ヒト、カニクイザルなど）からの少なくとも1つの定常領域とを含む抗体を指す。いくつかの実施態様では、キメラ抗体は、少なくとも1つのマウス可変領域と少なくとも1つのヒト定常領域とを含む。いくつかの実施態様では、キメラ抗体は、少なくとも1つのカニクイザル可変領域と少なくとも1つのヒト定常領域とを含む。いくつかの実施態様では、キメラ抗体の可変領域の全てが第1の種に由来し、キメラ抗体の定数領域の全てが第2の種に由来する。

【0017】

「ヒト化抗体」は、非ヒト可変領域のフレームワーク領域内の少なくとも1つのアミノ酸が、ヒト可変領域由来の対応するアミノ酸で置換されている抗体を指す。いくつかの実施態様では、ヒト化抗体は、少なくとも1つのヒト定常領域またはその断片を含む。いくつかの実施態様では、ヒト化抗体は、Fab、scFv、(Fab')₂等である。

【0018】

本明細書で使用される「ヒト抗体」は、ヒトで産生される抗体、Xenomouse（登録商標）などのヒト免疫グロブリン遺伝子を含む非ヒト動物で産生される抗体、およびファージディスプレイなどのin vitro法を使用して選択される抗体を指し、ここで、抗体レパートリーはヒト免疫グロブリン配列に基づく。

【0019】

本明細書で使用される「VISTA抗体」または「抗VISTA抗体」は、酸性pHなどの少なくともいくつかの条件下でVISTAに特異的に結合する抗体を指す。いくつかの実施態様では、抗体は、それが酸性pHなどの少なくともいくつかの条件下でヒトVISTAタンパク質に特異的に結合することを示す「huVISTA抗体」または「抗huVISTA抗体」であってもよい。例えば、VISTAの細胞外ドメイン（ECD）に特異的に結合するVISTA抗体は、「VISTA-ECD抗体」と呼ばれる場合がある。

【0020】

いくつかの実施態様では、本明細書の抗体は、特定の、指定された配列と比較して1つ以上の「保存的置換」を含み得る。本明細書における「保存的アミノ酸置換」とは、類似の側鎖を有するアミノ酸残基によるアミノ酸残基の置換を指す。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーには、塩基性側鎖（例えばリジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えばアスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えばグリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖（例アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラ

ニン、メチオニン）、ベータ分岐側鎖（例えばスレオニン、バリン、イソロイシン）、および芳香族側鎖（例えばチロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が含まれる。特定の実施態様では、本明細書の抗体中の予測される非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリー（例えば塩基性、酸性、ベータ分岐、芳香族、非荷電極性）からの別のアミノ酸残基で置き換えられる。抗原結合を排除しないヌクレオチドおよびアミノ酸の保存的置換を同定する方法は、例えば Brummell et al., Biochem. 32:1180-1187 (1993); Kobayashi et al. Protein Eng. 12(10):879-884 (1999); および Burks et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:412-417 (1997) に記載されている。

10

【0021】

いくつかの実施態様では、抗体は、中性および／または生理的 pH よりも酸性 pH でより高い親和性で VISTA に結合することができる。いくつかの実施態様では、抗体は、酸性 pH でより高い親和性で VISTA に結合することができ、中性および／または生理的 pH では無視できる程度か非特異的にしか結合できない。

【0022】

タンパク質、例えば、VISTA-ECD タンパク質への抗体の結合についての「 K_D 」または「解離定数」は、タンパク質、例えば VISTA-ECD タンパク質への抗体の親和性または特異的結合の尺度である。低い K_D は、高い K_D よりも改善された結合性または親和性を示す。 K_D は、抗体およびポリペプチドに対する「オフ速度」（または k_{off} または k_d ）と、「オン速度」（または k_{on} または k_a ）との間の比率である。オフ速度とオン速度は、2つの結合パートナーが系内で会合と解離を行う速度である。したがって、オン速度がほぼ一定のままである遅いオフ速度は、全体の親和性が高くなり、結果として K_D が低くなる。本明細書で使用されるように、特定の値「またはそれ以下」の k_{off} は、 k_{off} または「オフ速度」が指定された通りであるか、または指定された測度よりも遅いことを示す。

20

【0023】

用語「特異的結合」または「特異的に結合する」または同様の用語は、抗体とそのポリペプチド標的のような2つのポリペプチドの結合の K_D が、同じ条件下で存在する2つのランダムポリペプチド間の場合よりも低いことを意味する。言い換えると、その K_D の低さは、系内のポリペプチドの非特異的凝集の少なさによるものである。

30

【0024】

いくつかの実施態様において、抗体は、特定の pH または pH 範囲で VISTA-ECD タンパク質に特異的に結合する。本明細書において、「酸性」pH は 7.0 未満の pH を通常指し、「塩基性」pH は 7.0 より高い pH を通常指し、「中性」pH は約 7.0 の pH を通常指す。本明細書における「生理的 pH」は、正常な（すなわち非がん性）生理的条件、例えば 7.35 から 7.45、または 7.3 から 7.4、例えば約 7.4 の pH を指す。本明細書において、VISTA と VISTA 結合パートナーまたは VISTA と T 細胞などの2つの分子の結合の文脈で使用される「酸性条件での結合」または「生理的条件での結合」などの表現はそれぞれ、酸性 pH での結合、生理的 pH での結合を指す。

40

【0025】

単独または細胞上の受容体（またはリガンド）へのリガンド（または受容体）または競合抗体の「結合を遮断する」もしくは「結合を阻害する」抗体を指す場合、コントロールと比較して統計的に有意な全体的な減少、例えば 50% 以上の全体的な減少、例えば 75%、80%、85%、90%、または 95% 以上の全体的な減少があれば、結合は遮断されている。「抗 VISTA 遮断抗体」は、例えば、酸性 pH などの少なくともいくつかの条件下で、PSGL-1 または別の VISTA リガンドもしくは受容体またはヘパラン硫酸プロテオグリカンへの VISTA の結合を遮断することができる抗体である。

【0026】

本明細書で使用する「腫瘍モデル」は、VISTA-ECD 抗体の生物学的活性を研究す

50

るために使用することができる *in vivo* 前臨床アッセイを指し、異種移植または天然マウス腫瘍アッセイ系を含む。場合によっては、抗体が免疫応答を誘発または強化したかどうかを判定するために、腫瘍モデルによって、抗体での治療時の腫瘍の大きさまたは成長の追跡および／または腫瘍内の免疫細胞（特定のタイプのT細胞またはNK細胞など）の存在の追跡を可能にすることができる。

【0027】

本明細書で使用される「免疫刺激剤」という用語は、共刺激分子を含む免疫刺激分子のアゴニストとして作用するか、または共抑制分子を含む免疫抑制分子のアンタゴニストとして作用することにより、免疫系を刺激する分子を意味する。免疫刺激性分子または免疫抑制性分子は、VISTAなどの免疫チェックポイント調整剤、または別のB7ファミリーメンバー、または以下にさらに記載される別の分子であってもよい。免疫刺激剤は、抗体または抗体断片、他のタンパク質、またはワクチン等の生物学的製剤であってもよいし、低分子薬であってもよい。「免疫刺激分子」には、免疫応答を強化、刺激、誘導、またはその他の方法で「オン」にするように作用する受容体またはリガンドが含まれる。本明細書で定義される免疫刺激分子には、共刺激分子が含まれる。「免疫抑制分子」には、免疫応答を減少させ、抑制し、阻止し、またはその他の方法で「オフ」にするように作用する受容体またはリガンドが含まれる。本明細書で定義される免疫抑制分子には、共抑制分子が含まれる。そのような免疫刺激分子および免疫抑制分子は、例えば、T細胞などの免疫細胞に見られる、またはNK細胞などの自然免疫に関与する細胞に見られる受容体またはリガンドであり得る。

【0028】

ペプチド、ポリペプチドまたは抗体配列に対する「アミノ酸配列同一性パーセント (%)」および「相同性」は、最大の配列同一性パーセントを得るように配列のアライメントを行い、必要に応じてギャップを導入した後の、いかなる保存的置換も配列同一性の一部とみなさない、特定のペプチドまたはポリペプチド配列のアミノ酸残基と同一である候補配列のアミノ酸残基の百分率と定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するためのアライメントは、当分野の技術の範囲内にある様々な方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGNまたはMEGALIGNTM (DNASTAR) ソフトウェア等の一般に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して得ることができる。当業者であれば、比較する配列の全長にわたって最大のアライメントを得るのに必要な任意のアルゴリズムを含めた、アライメントを測定するための適切なパラメーターを決定することができる。

【0029】

「誘発する」または「強化する」という用語は、任意の事象（タンパク質リガンド結合など）の開始もしくは増加、または任意の生物学的活性（免疫応答など）もしくは表現型特性の開始もしくは増加、またはその活性もしくは特性の発生率、程度もしくは尤度の開始もしくは上昇を指す。「誘発する」または「強化する」とは、参照と比較して、ある活性、機能および／または量を開始または増加させることである。誘発または強化が完全である必要はない。例えば、特定の実施態様において、「強化する」とは、20%以上の全体的な増加を引き起こす能力を意味する。別の実施態様では、「強化する」とは、50%以上の全体的な増加を引き起こす能力を意味する。さらに別の実施態様では、「強化する」とは、75%、85%、90%、または95%以上の全体的な増加を引き起こす能力を意味する。

【0030】

「抑制」または「抑制する」という用語は、より一般的には、任意の事象（タンパク質リガンド結合）の減少もしくは停止、または任意の表現型特性の減少もしくは停止、またはその特性の発生率、程度もしくは尤度の低下もしくは停止を指す。「減少させる」または「抑制する」とは、参照と比較して、ある活性、機能および／または量を減少、低減または停止させることである。抑制または減少が完全である必要はない。例えば、特定の実施態様において、「減少させる」または「抑制する」とは、20%以上の全体的な減少を引

き起こす能力を意味する。別の実施態様では、「減少させる」または「抑制する」とは、50%以上の全体的な減少を引き起こす能力を意味する。さらに別の実施態様では、「減少させる」または「抑制する」とは、75%、85%、90%、または95%以上の全体的な増加を引き起こす能力を意味する。

【0031】

本明細書で使用される「治療」は、ヒトにおける疾患の治療薬の任意の投与または適用を含み、疾患または疾患の進行または1つ以上の疾患症状を抑制すること、疾患または疾患の進行または1つ以上の疾患症状を抑制または遅らせること、疾患の発症を阻止すること、疾患または疾患の1つ以上の症状を部分的または完全に緩和すること、あるいは疾患の1つ以上の症状の再発を防止することを含む。

10

【0032】

用語「対象」及び「患者」は、本明細書では互換的に使用され、ヒトを指す。

【0033】

「有効量」または「治療有効量」という用語は、1つ以上の症状を部分的または完全に緩和するなどの、対象の疾患または障害の治療に有効な薬物の量を指す。いくつかの実施態様では、有効量とは、所望の治療的または予防的結果を達成するために必要な投薬量および期間での有効な量を指す。

【0034】

「がん」という用語は、本明細書では、異常に高レベルの増殖および成長を示す細胞のグループを指すのに使用される。がんは、良性（良性腫瘍とも呼ばれる）、前悪性または悪性であってもよい。がん細胞は、固形がん細胞または白血病がん細胞であり得る。「腫瘍成長」という用語は、本明細書では、がんの大きさまたは程度の相当する増加をもたらす、がんを含む細胞による増殖または成長を指すために使用される。

20

【0035】

本明細書の治療方法に適用可能がんの例には、限定されないが、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫および白血病が含まれる。このようながんのより具体的な非限定的な例には、扁平上皮がん、小細胞肺癌、下垂体がん、食道がん、星細胞腫、軟部組織肉腫、非小細胞肺癌（扁平上皮非小細胞肺癌を含む）、肺腺癌、肺扁平上皮癌、腹膜がん、肝細胞がん、消化器がん、膵臓がん、膠芽腫、子宮頸がん、卵巣がん、肝臓がん、膀胱がん、肝がん、乳がん、大腸がん、大腸直腸がん、子宮内膜癌または子宮体癌、唾液腺がん、腎臓がん、腎細胞癌、肝臓がん、前立腺がん、外陰部がん、甲状腺がん。肝癌、脳がん、子宮内膜がん、精巣がん、胆管癌、胆嚢癌、胃がん、メラノーマ、および各種頭頸部がん（頭頸部扁平上皮癌など）が含まれる。

30

【0036】

1または複数のさらなる治療剤「と併用した」投与には、任意の順序での同時（"simultaneous"または"concurrent"）および連続（"consecutive"）（逐次（"sequential"））投与が含まれる。

【0037】

「薬学的に許容される担体」とは、対象に投与するための「薬学的組成物」と一緒に構成する治療剤と共に使用するために当技術分野で慣用されている、非毒性の固体、半固体もしくは液体の充填剤、希釈剤、封入材料、製剤補助剤または担体を指す。薬学的に許容される担体は、使用される用量および濃度でレシピエントに無毒であり、製剤の他の成分と相溶性である。薬学的に許容される担体は、使用される製剤に適している。例えば、治療剤が経口投与される場合、担体はゲルカプセルとすることができる。治療剤が皮下投与される場合、担体は、理想的には、皮膚に対して刺激性がなく、注射部位反応を起こさない。

40

【0038】

「化学療法剤」は、がんの治療に有用な化学物質である。本明細書の方法で投与可能な化学療法剤の例には、限定されないが、アルキル化剤、例えばチオテパおよびサイトキサン（登録商標）シクロホスファミド；アルキルスルホン酸エステル、例えばブスルファン、インプロスルファンおよびピボスルファンなど；ベンゾドパ、カルボコン、メトレドパお

50

よびウレドパなどのアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレン
ホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミドおよびトリメチルオロメラミンを含むエチ
レンイミン類およびメチルアメラミン類；アセトゲニン類（特にブラタシンとブラタシノ
ン）；カンプトテシン（合成アナログトポテカンを含む）；プリオスタチン；カリスタチ
ン；CC-1065（そのアドゼレシン、カルゼレシンおよびビゼレシン合成アナログを含
む）；クリプトフィシン類（特にクリプトフィシン1とクリプトフィシン8）；ドラス
タチン；デュオカルマイシン（合成アナログのKW-2189およびCB1-TM1を含
む）；エレウテロビン；パンクラチスタチン；サルコジクチン；スポンギスタチン；ナイ
トロジェンマスタード、例えばクロラムブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド
、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩
(mechlorethamine oxide hydrochloride)、メルフ
ァラン、ノベムビチン(novembichin)、フェネステリン、プレドニムスチン
、トロホスファミド、ウラシルマスタード等；ニトロソ尿素、例えばカルムスチン、クロ
ロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、およびラニムスチン等；抗生物
質、例えばエンジイン抗生物質〔例：カリケアマイシン、特にカリケアマイシガンマ1
IおよびカリケアマイシンオメガI1（例えばAgnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-
186 (1994)参照）；ジネマイシンAなどのジネマイシン；ビスホスホネート製剤、例え
ばクロドロネート；エスペラマイシン；ならびにネオカルジノスタチン発色団および関連
する色素タンパク質エンジイン抗生物質発色団〕、アクラシノマイシン類、アクチノマイ
シン、アントラマイシン(authramycin)、アザセリン、ブレオマイシン類、
カクチノマイシン、カルピシン(carabycin)、カルミノマイシン、カルジノフ
ィリン、クロモマイシン類(chromomycinis)、ダクチノマイシン、ダウノ
ルピシン、デトルピシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、アドリアマイシ
ン（登録商標）、ドキシソルピシン（モルホリノードキシソルピシン、シアノモルホリノード
キシソルピシン、2-ピロリノードキシソルピシンおよびデオキシドキシソルピシンを含む）、
エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、例えばマイトマイシン
などのCマイトマイシン類、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン類、ペ
プロマイシン、ポルフィロマイシン(potfiromycin)、ピューロマイシン、
ケラマイシン(quelamycin)、ロドルピシン(rodorubicin)、ス
トレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾ
ルピシン；代謝拮抗剤、例えばメトトレキサートおよび5-フルオロウラシル(5-FU)
；葉酸アナログ、例えばデノブテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメト
レキサート；プリンアナログ、例えばフルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリ
ン、チオグアニン；ピリミジンアナログ、例えばアンシタビン、アザシチジン、6-アザ
ウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシ
タビン、フロクスウリジン；アンドロゲン、例えばカルステロン、プロピオン酸ドロモス
タノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン；抗副腎剤、例えばア
ミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン；葉酸(frolinic acid)などの
葉酸補液；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウ
ラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ビスアントレン；エダトラキサート(edat
raxate)；デフォファミン(defofamine)；デメコルシン；ジアジクオ
ン；エルフォルニチン(elfornithine)；エリブチニウムアセテート；エポ
チロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシウレア；レンチナン；ロニダイニン(
lonidainine)；メイタンシノイド類、例えばメイタンシンおよびアンサマイ
トシン類；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール(mopidanmol)
；ニトラエリン(nitraerine)；ペントスタチン；フェナメット(phenamet)
；ピラルピシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸(podophyllinic acid)；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK（登録商標）多糖類複
合体（オレゴン州ユージーンのJHS Natural Products）；ラゾキサン
；リゾキシン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；2

10

20

30

40

50

、2'、2''-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン類（特にT-2トキシン、ベラキュリン（verracurin）A、ロリジンAおよびアングイジン）；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン（gacytosine）；アラビノシド（「Ara-C」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド類、例えばタキソール（登録商標）パクリタキセル（ニュージャージー州プリンストンのBristol-Myers Squibb Oncology）、アブラキサン（登録商標）ヒマシ油フリー、アルブミン結合型のパクリタキセルのナノ粒子製剤（イリノイ州ショウンバーグのAmerican Pharmaceutical Partners）およびタキソテール（登録商標）ドセタキセル（フランス、アントニーのローヌ・プーラン・ローラー）；クロラムブシル（chlorambucil）；ジェムザール（登録商標）ゲムシタビン；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；白金アナログ、例えばシスプラチン、オキサリプラチンおよびカルボプラチン；ビンブラスチン；白金；エトポシド（VP-16）；イホスファミド；ミトキサントロン；ピンクリスチン；ナベルビン（登録商標）ビノレルビン；ノバントロン；テニポシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；ゼローダ；イバンドロネート；イリノテカン（カンプトサル、CPT-11）（イリノテカンと5-FUおよびロイコボリンの治療レジメンを含む）；トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000；ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；例えばレチノイン酸などのレチノイド；カペシタビン；コンプレスタチン；ロイコボリン（LV）；オキサリプラチン（オキサリプラチン治療レジメン（FOLFOX）を含む）；カペシタビン：細胞増殖を減少させる、PKC-アルファ、Raf、H-Ras、EGFR（例：エルロチニブ（タルセバ（登録商標））およびVEGF-Aの阻害剤、ならびに上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸または誘導体が含まれる。

【0039】

本明細書の方法で投与可能なさらなる非限定的かつ例示的な化学療法剤には、(i) がんに対するホルモン作用を調節または阻害するように作用する抗ホルモン剤、例えば抗エストロゲン類および選択的エストロゲン受容体モジュレーター（SERM）（例えば、タモキシフェン（ノルバデックス（登録商標）タモキシフェンを含む）、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストンおよびフェアストン（登録商標）トレミフェンを含む）；副腎においてエストロゲン産生を調節する酵素であるアロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤、例えば4（5）-イミダゾール、アミノグルテチミド、メゲース（Megase）（登録商標）酢酸メゲストロール、アロマシン（登録商標）エキセメスタン、ホルメスタン（formestane）、ファドロゾール、Rivisor（登録商標）ボロゾール、フェマラ（登録商標）レトロゾールおよびアリミデックス（登録商標）アナストロゾール；ならびに抗アンドロゲン、例えばフルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリドおよびゴセレリン；ならびにトロキサシタビン（1，3-ジオキサランニクレオシドシトシンアナログ）；アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に異常な細胞増殖に関与しているシグナル伝達経路における遺伝子（例えばPKC-アルファ、RafおよびH-Ras）の発現を阻害するもの；リボザイム、例えばVEGF発現阻害剤（例：アンギオザイム（登録商標）リボザイム）およびHER2発現阻害剤；遺伝子療法ワクチンなどのワクチン、例えばアロベクチン（登録商標）ワクチン、ロイベクチン（登録商標）ワクチンおよびVaxid（登録商標）ワクチン；プロロイキン（登録商標）rIL-2；ラルトテカン（登録商標）トポイソメラーゼ1阻害剤；アバレリックス（登録商標）rmRH；ならびに上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸または誘導体が含まれる。

【0040】

「抗血管新生剤」または「血管新生阻害剤とは、直接的または間接的に血管新生、脈管形成または望ましくない血管透過性を抑制する低分子量物質、ポリヌクレオチド（例えば抑制RNA（RNAiまたはsiRNA）を含む）、ポリペプチド、単離されたタンパク質

10

20

30

40

50

、組換えタンパク質、抗体、またはこれらのコンジュゲートもしくは融合タンパク質を指す。抗血管新生剤には、血管新生因子またはその受容体に結合して血管新生活性を遮断する薬剤が含まれることが理解されるべきである。例えば、本明細書の方法で投与可能な抗血管新生剤には、血管新生剤に対する抗体または他のアンタゴニスト、例えば、VEGF-Aに対する抗体（例：ベバシズマブ（アバスチン（登録商標）））またはVEGF-A受容体（例えばKDR受容体またはFlt-1受容体）に対する抗体、グリベック（登録商標）（イマチニブメシル酸塩）などの抗PDGFR阻害剤、VEGF受容体シグナル伝達を遮断する低分子（例えばPTK787/ZK2284、SU6668、スーテント（登録商標）/SU11248（スニチニブリンゴ酸塩）、AMG706、または、例えば国際公開第2004/113304号に記載されているもの）が含まれ得る。また、抗血管新生剤には、天然の血管新生阻害剤、例えばアンジオスタチン、エンドスタチンなどが含まれる。例えばKlagsbrun and D'Amore (1991) Annu. Rev. Physiol. 53:217-39; Streit and Detmar (2003) Oncogene 22:3172-3179（例えば、悪性メラノーマにおける抗血管新生療法の一覧を示す表3）; Ferrara & Alitalo (1999) Nature Medicine 5(12):1359-1364; Tonini et al. (2003) Oncogene 22:6549-6556（例えば、既知の抗血管新生因子の一覧を示す表2）; およびSato (2003) Int. J. Clin. Oncol. 8:200-206（例えば、臨床試験において使用される抗血管新生剤の一覧を示す表1）を参照のこと。

10

20

【0041】

本明細書において使用される「増殖抑制剤」は、細胞（例えばVEGFを発現している細胞）の増殖をin vitroまたはin vivoで抑制する化合物または組成物を指す。したがって、本明細書の方法で投与可能な増殖抑制剤は、S期の細胞（VEGFを発現する細胞など）の割合を有意に低下させるものであり得る。増殖抑制剤の例には、限定されないが、細胞周期の進行を（S期以外の所で）遮断する薬剤、例えばG1停止およびM期停止を誘発する薬剤を含む。古典的なM期ブロッカーには、ピンカス（ピンクリスチンおよびピンブラスチン）、タキサン類およびトポイソメラーゼII阻害剤、例えばドキソルビシン、エビルビシン、ダウノルビシン、エトポシドおよびブレオマイシンが含まれる。G1期を停止させS期停止にも波及する薬剤は、例えば、タモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキサート、5-フルオロウラシルおよびAra-C等のDNAアルキル化剤である。MendelsohnとIsrael編のThe Molecular Basis of Cancerの第1章に、Murakamiらによる「Cell cycle regulation, oncogene, and antineoplastic drugs」という表題の詳細情報が記載されている（WB Saunders: Philadelphia, 1995、例えば13頁）。タキサン類（パクリタキセルおよびドセタキセル）は、いずれもイチイに由来する抗がん薬である。ヨーロッパイチイに由来するドセタキセル（タキソテール（登録商標）、ローヌ・プーラン・ローラー）は、パクリタキセル（タキソール（登録商標）、プリストル・マイヤーズスクイブ）の半合成アナログである。パクリタキセルとドセタキセルは、チューブリン二量体からの微小管のアセンブリを促進し、細胞内の有糸分裂を阻害する結果を招く脱重合を防ぐことによって微小管を安定化する。

30

40

【0042】

「抗腫瘍性組成物」という用語は、少なくとも1つの活性治療剤を含む、がんの治療に有用な組成物を指す。治療剤の例には、限定されないが、例えば化学療法剤、増殖抑制剤、細胞傷害性剤、放射線療法で使用される薬剤、抗血管新生剤、がん免疫療法剤、アポトーシス剤、抗チューブリン剤、および他のがん治療剤、例えば抗HER-2抗体、抗CD20抗体、上皮成長因子受容体（EGFR）アンタゴニスト（例：チロシンキナーゼ阻害剤）、HER1/EGFR阻害剤（例：エルロチニブ（タルセバ（登録商標））、血小板由来成長因子阻害剤（例：グリベック（登録商標）（イマチニブメシル酸塩））、COX-

50

2 阻害剤（例：セレコキシブ）、インターフェロン、CTLA4 阻害剤（例：抗 CTLA 抗体イピリムマブ（ヤーボイ（登録商標）））、PD-1 または PD-L1 阻害剤（例：オプジーボ（登録商標）、キイトルーダ（登録商標）、テセントリク（登録商標）、バベンチオ（登録商標）、イミフィンジ（登録商標））、TIM3 阻害剤（例：抗 TIM3 抗体）、サイトカイン、次の標的：Erbb2、Erbb3、Erbb4、PDGFR-β、BlyS、APRIL、BCMA、CTLA4、TIM3 または VEGF 受容体の 1 つ以上に結合するアンタゴニスト（例：中和抗体）、TRAIL/Apo2、ならびに他の生理活性および有機化学剤等が含まれる。これらの併用もまた、本開示に含まれる。

【0043】

酸性 pH で VISTA-ECD に特異的に結合する抗体

VISTA は、その細胞外ドメイン（ECD）に多数のヒスチジン残基を有するため、そのフォールディングおよび全体構造、ならびに抗体などのリガンドの結合に利用可能な表面は、酸性 pH では、中性 pH と比較して、特にヒスチジンの pK_a である pH 6.5 付近では異なる場合がある。

腫瘍の微小環境は一般に酸性であるため、これらの微小環境で VISTA に結合するためには、抗体は、表面ヒスチジン残基の少なくともいくつかがプロトン化される可能性が高い酸性 pH で VISTA に特異的に結合する必要がある場合がある。

【0044】

以下の配列表は、ヒト VISTA（hVISTA）のアミノ酸配列であって、シグナルペプチドを有するもの（配列番号 1）またはシグナルペプチドを有しないもの（配列番号 2（成熟 hVISTA））を提供する。シグナルペプチドは、配列番号 1 のアミノ酸残基 1-32 に相当する。細胞外ドメイン（ECD）は、配列番号 2 のアミノ酸残基 1-162 から構成される。IgV ドメインは、配列番号 1 のアミノ酸残基 37-167 および配列番号 2 のアミノ酸残基 5-135 に相当する。ストーク領域は、配列番号 1 のアミノ酸残基 172-194 および配列番号 2 のアミノ酸残基 136-162 にあり、膜貫通ドメインは、配列番号 1 のアミノ酸残基 195-216 および配列番号 2 のアミノ酸残基 163-184 にある。配列番号 1 のアミノ酸残基 187 および配列番号 2 の 155（太字および下線）は、hVISTA における多型を表す D または E のいずれかであり得る。その残基は太字で示され、下線が引かれている。したがって、配列番号 1 および配列番号 2 は、その残基における両方のヒト多型を包含する。VISTA の ECD におけるヒスチジン残基は灰色の網掛けで示されている。

【0045】

抗 VISTA 抗体（Ab）は、例えば VISTA の IgV ドメインまたは hVISTA からの領域（例えば配列番号 2 のアミノ酸 20-95、20-70、35-70、35-95、35-127 または 37-125 を含む領域）を含む VISTA-ECD またはその断片に酸性 pH で特異的に結合することができる。特定の実施態様では、Ab は、pH 7.0 未満の pH で VISTA-ECD タンパク質に特異的に結合する。特定の実施態様では、Ab は、pH 6.8 未満の pH で VISTA-ECD タンパク質に特異的に結合する。特定の実施態様では、Ab は、pH 6.5 未満の pH で VISTA-ECD タンパク質に特異的に結合する。特定の実施態様では、Ab は、pH 6.3 未満の pH で VISTA-ECD タンパク質に特異的に結合する。特定の実施態様では、Ab は、pH 6.0 未満の pH で VISTA-ECD タンパク質に特異的に結合する。特定の実施態様では、Ab は、pH 5.8 未満の pH で VISTA-ECD タンパク質に特異的に結合する。特定の実施態様では、Ab は、pH 5.5 未満の pH で VISTA-ECD タンパク質に特異的に結合する。特定の実施態様では、Ab は、pH 5.3 未満の pH で VISTA-ECD タンパク質に特異的に結合する。特定の実施態様では、Ab は、pH 5.0 未満の pH で VISTA-ECD タンパク質に特異的に結合する。

【0046】

特定の Ab は、pH 5.0 - pH 7.0 の範囲内の pH で VISTA-ECD タンパク質に特異的に結合する。特定の Ab は、pH 5.0 - pH 6.5 の範囲内の pH で VIST

10

20

30

40

50

A-ECDタンパク質に特異的に結合する。特定のAbは、pH 5.0-pH 6.0の範囲内のpHでVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合する。特定のAbは、pH 5.5-pH 7.0の範囲内のpHでVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合する。特定のAbは、pH 5.5-pH 6.5の範囲内のpHでVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合する。特定のAbは、pH 6.0-pH 6.5の範囲内のpHでVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合する。

【0047】

また、本明細書で提供されるのは、6.5以下のpHにおいて、 10^{-6} M以下の K_D でVISTAのIgVドメインまたはhVISTAからの領域（例えば配列番号2のアミノ酸20-95、20-70、35-70、35-95、35-127または37-125を含む領域）を含むhVISTA-ECDまたはその断片などのVISTA-ECDタンパク質に結合するAbである。いくつかの実施態様では、Abは、 10^{-7} M以下の K_D で結合する。いくつかの実施態様では、Abは、 10^{-8} M以下の K_D で結合する。いくつかの実施態様では、Abは、 10^{-9} Mの K_D で結合する。いくつかの実施態様では、Abは、 10^{-10} M以下の K_D で結合する。例えば、Abは、6.5以下のpHでは、 10^{-8} M以下の K_D でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。

【0048】

また、本明細書で提供されるのは、6.0-6.5の範囲内のpHにおいて、 10^{-6} M以下の K_D でVISTA-ECDタンパク質に結合するAbである。いくつかの実施態様では、Abは、 10^{-7} M以下の K_D で結合する。いくつかの実施態様では、Abは、 10^{-8} M以下の K_D で結合する。いくつかの実施態様では、Abは、 10^{-9} Mの K_D で結合する。いくつかの実施態様では、Abは、 10^{-10} M以下の K_D で結合する。例えば、Abは、6.5以下のpH、例えば6.0-6.5の範囲内のpHでは、 10^{-7} M以下の K_D でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。さらに、Abは、6.5以下のpH、例えば6.0-6.5の範囲内のpHでは、 10^{-8} M以下の K_D でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。Abは、6.5以下のpH、例えば6.0-6.5の範囲内のpHでは、 10^{-9} M以下の K_D でhVISTA-ECDに結合し得る。

【0049】

また、本明細書で提供されるのは、例えば6.5以下のpHにおいて、25℃か37℃で 10^{-5} s^{-1} 以下の k_{off} で、VISTAのIgVドメインまたはhVISTAからの領域（例えば配列番号2のアミノ酸20-95、20-70、35-70、35-95、35-127または37-125を含む領域）を含むhVISTA-ECDまたはその断片などのVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合するAbである。いくつかの実施態様では、Abは、25℃か37℃で 10^{-4} s^{-1} 以下の k_{off} を有する。いくつかの実施態様では、Abは、25℃か37℃で $2 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} を有する。いくつかの実施態様では、Abは、25℃か37℃で $5 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} を有する。いくつかの実施態様では、Abは、25℃か37℃で $7 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} を有する。いくつかの実施態様では、Abは、25℃か37℃で 10^{-3} s^{-1} 以下の k_{off} を有する。いくつかの実施態様では、Abは、25℃か37℃で $2 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} を有する。いくつかの実施態様では、Abは、25℃か37℃で $5 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} を有する。いくつかの実施態様では、Abは、25℃か37℃で $7 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} を有する。いくつかの実施態様では、Abは、25℃か37℃で 10^{-2} s^{-1} 以下の k_{off} を有する。いくつかの実施態様では、Abは、25℃か37℃で 10^{-1} s^{-1} 以下の k_{off} を有する。例えば、Abは、6.5以下のpHにおいては、25℃か37℃で 10^{-3} s^{-1} 以下の k_{off} でVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合し得る。Abは、6.5以下のpHにおいては、25℃か37℃での 10^{-3} s^{-1} 以下の k_{off} でhVISTA-ECDに特異的に結合し得る。さらに、Abは、6.5以下のpHにおいては、25℃か37℃で 10^{-2} s^{-1} 以下の k_{off} でVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合し得る。

【0050】

本明細書で提供されるのは、例えば6.5以下のpHにおいて、例えば25℃か37℃で測定して(i) 10^{-6} M以下、 10^{-7} M以下、 10^{-8} M以下、 10^{-9} M以下または 10^{-10} M以下の K_D および(ii) 10^{-5} s⁻¹以下、 10^{-4} (または2、5もしくは7 10^{-4}) s⁻¹以下、 10^{-3} (または2、5もしくは7 10^{-4}) s⁻¹以下、 10^{-2} s⁻¹以下、または 10^{-1} s⁻¹以下の k_{off} 速度で、VISTAのIgVドメインまたはhVISTAからの領域(例えば配列番号2のアミノ酸20-95、20-70、35-70または35-95、35-95、35-127または37-125を含む領域)を含むhVISTA-ECDまたはその断片などのVISTA-ECDタンパク質に結合するAbである。例えば、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-7} M以下の K_D および 10^{-3} s⁻¹以下の k_{off} 速度でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-8} M以下の K_D および 10^{-3} s⁻¹以下の k_{off} 速度でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-8} M以下の K_D および 10^{-2} s⁻¹以下の k_{off} 速度でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。例えば、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-7} M以下の K_D および 10^{-3} s⁻¹以下の k_{off} 速度でhVISTA-ECDに結合し得る。Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-9} M以下の K_D および 10^{-3} s⁻¹以下の k_{off} 速度でhVISTA-ECDに結合し得る。Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-9} M以下の K_D および 10^{-2} s⁻¹以下の k_{off} 速度でhVISTA-ECDに結合し得る。Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-8} M以下の K_D および 10^{-4} (または2、5もしくは7 10^{-4}) s⁻¹以下の k_{off} 速度でhVISTA-ECDに結合し得る。Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-8} M以下の K_D および 10^{-5} (または2、5もしくは7 10^{-5}) s⁻¹以下の k_{off} 速度でhVISTA-ECDに結合し得る。Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-9} M以下の K_D および 10^{-4} (または2、5もしくは7 10^{-4}) s⁻¹以下の k_{off} 速度でhVISTA-ECDに結合し得る。Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-9} M以下の K_D および 10^{-5} (または2、5もしくは7 10^{-5}) s⁻¹以下の k_{off} 速度でhVISTA-ECDに結合し得る。

【0051】

本明細書で提供されるのは、例えば6.5以下のpHにおいて、25℃か37℃で 10^4 M⁻¹ s⁻¹以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合するAbである。いくつかのこのような実施態様では、Abは、 10^5 M⁻¹ s⁻¹以上の k_{on} で結合し得る。いくつかのこのような実施態様では、Abは、 10^6 M⁻¹ s⁻¹以上の k_{on} で結合し得る。いくつかのこのような実施態様では、Abは、 10^7 M⁻¹ s⁻¹以上の k_{on} で結合し得る。例えば、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^6 M⁻¹ s⁻¹以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。例えば、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^6 M⁻¹ s⁻¹以上の k_{on} でhVISTA-ECDに結合し得る。

【0052】

本明細書で提供されるのは、例えば6.5以下のpHにおいて、例えば25℃か37℃で測定して(i) 10^{-6} M以下、 10^{-7} M以下、 10^{-8} M以下、 10^{-9} M以下または 10^{-10} M以下の K_D および(ii) 10^4 M⁻¹ s⁻¹以上、 10^5 M⁻¹ s⁻¹以上、 10^6 M⁻¹ s⁻¹以上、 10^7 M⁻¹ s⁻¹以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合するAbである。例えば、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-7} M以下の K_D および 10^6 M⁻¹ s⁻¹以上の k_{on} 速度でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。例えば、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-8} M以下の K_D および 10^6 M⁻¹

s^{-1} 以上の k_{on} 速度でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。例えば、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-7} M以下の K_D および 10^6 M^{-1} s^{-1} 以上の k_{on} 速度でhVISTA-ECDに結合し得る。例えば、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-8} M以下の K_D および 10^6 M^{-1} s^{-1} 以上の k_{on} 速度でhVISTA-ECDに結合し得る。

【0053】

いくつかの実施態様では、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-7} M以下の K_D および 10^{-5} s^{-1} 以下、 $2 \cdot 10^{-5}$ s^{-1} 以下、 $5 \cdot 10^{-5}$ s^{-1} 以下、 $7 \cdot 10^{-5}$ s^{-1} 以下、 10^{-4} s^{-1} 以下、 $2 \cdot 10^{-4}$ s^{-1} 以下、 $5 \cdot 10^{-4}$ s^{-1} 以下、 $7 \cdot 10^{-4}$ s^{-1} 以下、 10^{-3} s^{-1} 以下、 $2 \cdot 10^{-3}$ s^{-1} 以下、 $5 \cdot 10^{-3}$ s^{-1} 以下、 $7 \cdot 10^{-3}$ s^{-1} 以下、 10^{-2} s^{-1} 以下または 10^{-1} s^{-1} 以下の k_{off} でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。いくつかの実施態様では、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-9} M以下の K_D および 10^{-5} s^{-1} 以下、 10^{-4} s^{-1} 以下、 10^{-3} s^{-1} 以下、 10^{-2} s^{-1} 以下または 10^{-1} s^{-1} 以下の k_{off} でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。いくつかのこのような実施態様では、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-10} M以下の K_D および 10^{-5} s^{-1} 以下、 10^{-4} s^{-1} 以下、 10^{-3} s^{-1} 以下、 10^{-2} s^{-1} 以下または 10^{-1} s^{-1} 以下の k_{off} でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。

【0054】

いくつかの実施態様では、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-7} M以下の K_D および 10^4 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^5 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^6 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^7 M^{-1} s^{-1} 以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。いくつかの実施態様では、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-8} M以下の K_D および 10^4 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^5 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^6 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^7 M^{-1} s^{-1} 以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。いくつかのこのような実施態様では、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-10} M以下の K_D および 10^4 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^5 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^6 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^7 M^{-1} s^{-1} 以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。いくつかのこのような実施態様では、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-10} M以下の K_D および 10^4 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^5 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^6 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^7 M^{-1} s^{-1} 以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。

【0055】

いくつかの実施態様では、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-7} M以下の K_D および 10^{-5} s^{-1} 以下、 10^{-4} s^{-1} 以下、 10^{-3} s^{-1} 以下、 10^{-2} s^{-1} 以下または 10^{-1} s^{-1} 以下の k_{off} で、ならびに例えば25℃か37℃で測定して 10^4 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^5 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^6 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^7 M^{-1} s^{-1} 以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。いくつかの実施態様では、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-8} M以下および k_{off} が 10^{-5} s^{-1} 以下、 10^{-4} s^{-1} 以下、 10^{-3} s^{-1} 以下、 10^{-2} s^{-1} 以下または 10^{-1} s^{-1} 以下の K_D で、ならびに例えば25℃か37℃で測定して 10^4 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^5 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^6 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^7 M^{-1} s^{-1} 以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。いくつかの実施態様では、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して 10^{-9} M以下および k_{off} が 10^{-5} s^{-1} 以下、 10^{-4} s^{-1} 以下、 10^{-3} s^{-1} 以下、 10^{-2} s^{-1} 以下、または 10^{-1} s^{-1} 以下の K_D で、ならびに例えば25℃か37℃で測定して 10^4 M^{-1} s^{-1} 以上、 10^5

$M^{-1} s^{-1}$ 以上、 $10^6 M^{-1} s^{-1}$ 以上、 $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。いくつかのこのような実施態様では、Abは、6.5以下のpHにおいては、例えば25℃か37℃で測定して $10^{-10} M$ 以下の K_D 、および $10^{-5} s^{-1}$ 以下、 $10^{-4} s^{-1}$ 以下、 $10^{-3} s^{-1}$ 以下、 $10^{-2} s^{-1}$ 以下または $10^{-1} s^{-1}$ 以下の k_{off} で、ならびに例えば25℃か37℃で測定して $10^4 M^{-1} s^{-1}$ 以上、 $10^5 M^{-1} s^{-1}$ 以上、 $10^6 M^{-1} s^{-1}$ 以上、 $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合し得る。

【0056】

また上記のように、上記の実施態様のいくつかでは、VISTA-ECDタンパク質はhVISTA-ECDであるか、または、例えばIgVドメインなどのようなhVISTA-ECDの一部である。上記の実施態様のいくつかでは、Abは、配列番号2のアミノ酸20-95を含むエピトープに特異的に結合し得る。上記の実施態様のいくつかでは、Abは、配列番号2のアミノ酸20-70を含むエピトープに特異的に結合し得る。上記の実施態様のいくつかでは、Abは、配列番号2のアミノ酸35-95を含むエピトープに特異的に結合し得る。上記の実施態様のいくつかでは、Abは、配列番号2のアミノ酸35-70を含むエピトープに特異的に結合し得る。上記のいくつかの実施態様では、エピトープは、残基20-95、20-70、35-95または35-70からの、配列番号2の上記の部分のうちの1つだけではなく、配列番号2の別の部分、例えば配列番号2の残基95-105を含む3次元のエピトープである。特定の実施態様では、Abは、国際公開第2015/097536号に記載のAbが結合するhVISTAのエピトープに結合する。例えば、Abは、国際公開第2015/097536号に開示されたAbと、hVISTAへの結合について競合または交差競合してもよい。特定の実施態様では、Abは、ヒトVISTAのコンフォメーションエピトープに結合する。特定の実施態様では、Abは、ヒトVISTAの配列番号2の残基103-111および配列番号2の残基136-146を含むか、またはその中に存在するコンフォメーションエピトープに結合する。特定の実施態様では、Abは、ヒトVISTAの場合、配列番号2の残基24-36、54-65および100-102を含むか、またはその中に存在するコンフォメーションエピトープに結合する。特定の実施態様では、Abは、ヒトVISTAのFGループ内のアミノ酸残基を含むコンフォメーションエピトープに結合する。いくつかの実施態様では、Abは、配列番号2のアミノ酸残基35-127および／または37-125を含むポリペプチドに結合する。いくつかの実施態様では、Abは、配列番号2のアミノ酸残基350-127を含むVISTA-ECDポリペプチドまたはその部分に結合するが、抗体は、アミノ酸置換を含むVISTA-ECDポリペプチドまたはその部分に結合しないか、または親和性が低下した状態で結合し、ここで置換は、(1)次のアミノ酸残基：T35、Y37、K38、T39、Y41、R54、T61、F62、Q63、L65、H66、L67、H68、H69、F97、L115、V117、I119、H121、H122、S124、E125、R127と配列番号2のうちの1つの置換であるか、または(2)次のアミノ酸残基：Y37、T39、R54、F62、Q63、H66、L115、V117、I119、S124またはE125のうちの1つの置換である。いくつかの実施態様では、抗VISTA抗体は、例えば、実施例および／または特許請求の範囲に記載されるように、本明細書に記載の抗体と同じ結合特性（または著しく似ている結合特性）を有する。

【0057】

上記の抗体の中には、pHによってVISTA-ECDタンパク質に対する差別的な結合親和性を示すものもある。酸性条件下、例えばpH6.5以下でVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合する特定のAbは、中性および／またはアルカリ性pHでも、同様の親和性でVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合する（すなわち、それらは「panバインダー」である）。例えば、いくつかのこのようなAbの中には、pH6.5での K_D がpH7.0での K_D の1.5倍以内であるような、（例えば25℃または37℃の一定温度で）pH6.5およびpH7.0の両方で $10^{-7} M$ 以下の K_D でVISTA

－E C Dタンパク質に結合するものもある。いくつかのこのようなA bの中には、p H 6 . 5での K_D がp H 7 . 0での K_D の1 . 5倍以内であるような、（例えば2 5℃または3 7℃の一定温度で）p H 6 . 5およびp H 7 . 0の両方で 10^{-8} M以下の K_D でV I S T A－E C Dタンパク質に結合するものもある。いくつかのこのようなA bの中には、p H 6 . 5での K_D がp H 7 . 0での K_D の1 . 5倍以内であるような、（例えば2 5℃または3 7℃の一定温度で）p H 6 . 5およびp H 7 . 0の両方で 10^{-8} M以下の K_D でh V I S T A－E C Dに結合するものもある。

【0058】

酸性条件下、例えばp H 6 . 5以下でV I S T A－E C Dタンパク質に特異的に結合する特定のA bは、中性、生理的および／またはアルカリ性条件では、より低い親和性でV I S T A－E C Dタンパク質に結合し得る（「p H感受性バインダー」または「p H感受性A b」）。酸性条件下、例えばp H 6 . 5以下でV I S T A－E C Dタンパク質に特異的に結合する特定のA bは、中性、生理的および／またはアルカリ性条件では、V I S T A－E C Dタンパク質に有意でない、例えばほぼ検出不可能な結合を有することがある。例えば、いくつかの実施態様では、A bは、p H 6 . 5では 10^{-8} M以下の K_D で、かつ、p H 7 . 0および／またはp H 7 . 4では 10^{-8} Mを上回る K_D で、V I S T A－E C Dタンパク質に結合し得る。いくつかのこのような実施態様では、A bは、p H 6 . 5においては 10^{-8} M以下の K_D で、かつ、p H 7 . 0および／またはp H 7 . 4においては、p H 6 . 5での K_D の1 . 5倍を超える K_D でV I S T A－E C Dタンパク質に結合し得る。特定の実施態様では、（例えば2 5℃または3 7℃の一定温度で）p H 6 . 5において、p H 7 . 0における K_D の3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下、100分の1以下、300分の1以下、500分の1以下、1000分の1以下、または5000分の1以下の K_D でV I S T A－E C Dタンパク質に特異的に結合するp H感受性A bが提供される。例えば、場合によってA bは、（例えば2 5℃または3 7℃の一定温度で）p H 6 . 0において、p H 7 . 0および／またはp H 7 . 4以上における K_D と比較して、3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下、100分の1以下、300分の1以下、500分の1以下、1000分の1以下、または5000分の1以下の K_D でV I S T A－E C Dタンパク質に結合する。

【0059】

特定の実施態様では、A bは、中性、生理的またはアルカリ性条件におけるよりも酸性条件においてより低い k_{off} でV I S T A－E C Dタンパク質に特異的に結合する。特定の実施態様では、例えば2 5℃か3 7℃で測定して、酸性条件下、p H 6 . 5において、p H 7 . 0および／またはp H 7 . 4における k_{off} の3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下、100分の1以下、または1000分の1以下の k_{off} でV I S T A－E C Dタンパク質に結合するA bが提供される。言い換えると、オフ速度は、中性p Hよりも酸性p Hにおいて、より遅い。例えば、いくつかの実施態様では、A bは、例えば2 5℃か3 7℃で測定して、p H 6 . 0においては、p H 7 . 0および／またはp H 7 . 4における k_{off} 速度の3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下、100分の1以下、200分の1以下または1000分の1以下の k_{off} 速度でV I S T A－E C Dタンパク質に特異的に結合する。特定の実施態様では、例えば2 5℃か3 7℃で測定して、p H 6 . 0－6 . 5において、p H 7 . 0－7 . 4にお

ける K_{off} の3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下、100分の1以下または1000分の1以下の K_{off} でVISTA-ECDタンパク質に結合するAbが提供される。

【0060】

特定の実施態様では、Abは、中性、生理的またはアルカリ性条件におけるよりも酸性条件においてより高い k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合する。特定の実施態様では、例えば25℃か37℃で測定して、酸性条件下、pH6.5において、pH7.0および／またはpH7.4における k_{on} の2倍以上、5倍以上、10倍以上、20倍以上、50倍以上、100倍以上または1000倍以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合するAbが提供される。例えば、いくつかの実施態様では、Abは、例えば25℃か37℃で測定して、pH6.0においては、pH7.0および／またはpH7.4における k_{on} の2倍以上、5倍以上、10倍以上、20倍以上、50倍以上、100倍以上または1000倍以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合する。

10

【0061】

特定の実施態様では、Abは、少なくとも1つのヒスチジン残基、例えば、配列番号1のHis98がプロトン化されるpHでVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合する。特定の実施態様では、Abは、ECD中のほとんどのヒスチジン残基がプロトン化されるpH（これはpH6.5以下、例えばpH6.0からpH6.5の間であると予想される）でVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合する。

20

【0062】

また、本明細書に包含されるのは、酸性pHでの結合の親和性が高いままであるという条件で、中性、生理的またはアルカリ性pHにおいて酸性pHにおけるよりも高い親和性でVISTA-ECDタンパク質に特異的に結合するAbである。例えば、Abは、pH7.0ではpH6.5での3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下、100分の1以下、300分の1以下、500分の1以下、1000分の1以下の K_D で結合するにもかかわらず、pH6.5とpH7.0の両方において 10^{-8} M以下の K_D でVISTA-ECDタンパク質に結合する。

【0063】

また、本明細書に包含されるのは、本セクションの上記特性のうちの1つ以上を共有するAbである。特定の K_D 、 k_{off} 、 k_{on} 、特定のエピトープなどの上記の特性は、単独では扱われない。したがって、Abは、上述した配列番号2の領域のいずれかの領域を含むエピトープに結合してもよく、また、異なるpHでのその K_D 、 k_{off} または k_{on} の1または複数の挙動によって示されているように、上述したpan結合性またはpH感受性またはpH選択的結合特性を有してもよい。

30

【0064】

上記のいずれかの実施態様において、Abは、例えば、全長抗体（すなわち全長重鎖（C末端リジンを有するか否かにかかわらず）および全長軽鎖を含む）、またはFab断片、Fab'断片、(Fab')₂断片、scFv断片、Fv断片等の抗原結合断片であってもよく、またはAbは、キメラ、ヒト化またはヒト抗体であってもよく、またはAbは、二重特異性抗体または多重特異性抗体であってもよい。

40

【0065】

所与のpHにおいて、あるAbがVISTA-ECDタンパク質にどの程度よく結合するかの判定は、複数の異なる方法を用いて実施することができる。例えば、BIAcore（登録商標）アッセイなどの表面プラズモン共鳴（SPR）による方法がある。例示的なSPRアッセイは、固定化されたキャプチャー用試薬を用いてCM4センサーチップ上の1または複数の抗体を捕捉すること（例えばBiacore（登録商標）抗ヒトFcキャプチャー用キット、GEヘルスケア カタログ#BR-1008-39、またはBiacore（登録商標）抗マウスキャプチャー用キット、GEヘルスケア カタログ#BR-1008-39を使用）と、濃度シリーズのアナライトとしてVISTA抗原を流して、所望

50

のpHを持つランニング緩衝液中の結合速度と親和性を決定することを含む。一実施態様では、VISTAは、0.1 nMから500 nMの範囲内の2 - 5の濃度（例：0.1 nM、1 nM、10 nM、100 nM、500 nM）で、30 μ L/minの流量で、最大4分間の結合時間および最大10分間の解離時間で注入される。結合サイクルの合間に、それぞれのキャプチャーキットのメーカーの指示書に従って、キャプチャー表面を再生させる。全てのデータは、参照フローセルとブランク注入を使用して二重参照される。Biacore（登録商標）T200評価ソフトウェアを使用して、単純な1：1のカイネティクスを持つデータを質量移動を伴うLangmuir結合モデルに当てはめる。実施例に記載されているSPR法も使用することができる。

【0066】

VISTA ECDポリペプチドに対するAbの親和性は、VISTA ECDポリペプチド、PSGL-1またはヘパラン硫酸を発現する細胞をその表面に使用して決定でき、この方法は、フローサイトメトリーを含み、細胞結合VISTA-ECDへのAbの結合は所与のpH、例えばpH6.5以下で決定される。例示的なフローサイトメトリーアッセイは、次のように構成される：293T細胞、またはhVISTA ECDを異所的に発現する他の細胞を、望ましいpHに調整したHBSS + 1% BSAからなる緩衝液、例えば、MESを用いたpH6.0またはHEPESを用いたpH7.4に再懸濁する。hVISTAに対するAb（例えばヒトIgG）を約20 g/mLから連続的に希釈し、再懸濁した細胞と一緒に4℃で30分間インキュベートする。その後、細胞を同じ緩衝液で2回洗浄して、所望のpH、例えば6.0または7.4のpHを維持し、一次抗体（例えばヒトIgG）を認識し、かつ、低いpHで安定なフルオロフォアコンジュゲート二次抗体とインキュベートする。その後、細胞を前と同様に洗浄し、固定せずに直ちにBD Fortessaまたは他のフローサイトメーター上で取得する。VISTA ECDポリペプチドに対するAbの親和性は、実施例に記載されているように決定することができる。

【0067】

特定の実施態様では、hVISTA ECDに結合するAbは、例えば細胞上のその結合パートナー（例えばVISTA受容体）へのhVISTAの結合を遮断する。阻害または遮断は、100%または少なくとも99%、95%、90%、85%、80%、75%または50%であり得る。特定の実施態様では、Abは、酸性pH、例えばpH6.5以下でVISTA-ECDタンパク質に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%、例えば少なくとも75%、80%、85%、90%、95%または100%阻害する。特定の実施態様では、Abは、pH7.0未満のpHで、VISTA-ECDタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。特定の実施態様では、Abは、pH6.8未満のpHで、VISTA-ECDタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。特定の実施態様では、Abは、pH6.5未満のpHで、VISTA-ECDタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。特定の実施態様では、Abは、pH6.3未満のpHで、VISTA-ECDタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。特定の実施態様では、Abは、pH6.0未満のpHで、VISTA-ECDタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。特定の実施態様では、Abは、pH5.8未満のpHで、VISTA-ECDタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。特定の実施態様では、Abは、pH5.5未満のpHで、VISTA-ECDタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。特定の実施態様では、Abは、pH5.3未満のpHで、VISTA-ECDタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。特定の実施態様では、Abは、pH5.0未満のpHで、VISTA-ECDタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。

10

20

30

40

50

【0068】

特定のAbは、pH5.0-pH7.0の範囲内のpHで、VISTA-ECDTタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。特定のAbは、pH5.0-pH6.5の範囲内のpHで、VISTA-ECDTタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。特定のAbは、pH5.0-pH6.0の範囲内のpHで、VISTA-ECDTタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。特定のAbは、pH5.0-pH7.0の範囲内のpHで、VISTA-ECDTタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。特定のAbは、pH5.5-pH6.5の範囲内のpHで、VISTA-ECDTタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。特定のAbは、pH6.0-6.5の範囲内のpHで、VISTA-ECDTタンパク質に特異的に結合し、VISTAのその結合パートナーへの結合を少なくとも50%阻害する。結合の阻害は、実施例に記載のように決定され得る。

【0069】

VISTA結合パートナーは、PSGL-1（ヒトPSGL-1など）でもよい。ヒトPSGL-1アイソフォームの配列は、本明細書において配列番号3-10として提供される。VISTAはシアリルルイスXの有無にかかわらずPSGL-1に結合する。また、結合パートナーは、例えば特定の細胞に存在するヘパラン硫酸プロテオグリカンであってもよい。

【0070】

VISTA結合パートナーへの結合の阻害は、抗体の存在下および非存在下で、VISTAが結合する細胞、例えばT細胞（例えば、活性化されているか否かにかかわらずCD4+T細胞、CD8+T細胞）、NK細胞またはVISTAが結合する他の細胞へのVISTA（またはVISTA ECDまたはVISTA IgVドメインまたはVISTA陽性細胞）の結合の阻害を測定することにより決定できる。抗体がその結合パートナーまたは結合パートナーを発現するT細胞へのVISTAの結合を阻害するかどうかを判定するために使用できる例示的な実験は、フローサイトメトリーアッセイ、例えば次を含むアッセイである：ドナー血液、バフィーコートまたはロイコパックからのヒト末梢血単核球、バフィーコート、またはロイコパックを、HBSS+1%BSAからなる緩衝液に再懸濁させ、例えば、MESを用いてpH6.0またはHEPESを用いてpH7.4などの望ましいpHに調整する。その後、細胞を4℃で30分間、ヒトIgG1Fc（VISTA-Fc）に融合したhVISTA ECDからなる20μg/mL組換えキメラタンパク質と、様々な濃度の候補VISTA遮断抗体またはコントロール抗体と共にインキュベートする。その後、細胞を同じ緩衝液で2回洗浄して、所望のpH、例えば6.0または7.4のpHを維持し、VISTA-Fcを認識するが候補遮断抗体またはコントロール抗体は認識せず、かつ、低いpHで安定なフルオロフォアコンジュゲート二次抗体と共にさらに30分間、4℃でインキュベートする。その後、細胞を前と同様に洗浄し、固定せずに直ちにBD Fortessaまたは他のフローサイトメーター上で取得する。結合の阻害は、例えば実施例に記載のように決定され得る。

【0071】

特定の実施態様では、本明細書に記載されるAbは、抗原特異的免疫応答などの免疫応答を誘発または強化することができる。特定の実施態様では、Abは、特に腫瘍微小環境で見られるような酸性pHで、T細胞活性を刺激する。T細胞活性の刺激は、例えば、混合リンパ球反応（MLR）において、または抗原提示細胞（天然または合成）およびT細胞を用いたin vitroアッセイで測定することができる。T細胞活性の刺激はまた、例えば、実施例に記載のJurkatアッセイを使用しても測定することができる。T細胞活性の刺激はまた、T細胞からのIFN-γ分泌を決定することによっても測定することができ、ここで、強化されたIFN-γ分泌がT細胞刺激を示す。活性化T細胞からの他のサイトカインの分泌も測定することができる。特定の実施態様では、活性化されたT細胞

胞のシグナル伝達、例えばNF- κ Bレベルが測定される。特定の実施態様では、本明細書に記載されているAbは細胞接着を阻害し、これは、実施例に記載されているように測定することができる。

【0072】

特に腫瘍微小環境で見られるような酸性pHにおける抗VISTA Abの活性は、単球アッセイ、ADCCアッセイおよびADCPアッセイでも示すことができる。

【0073】

特定の実施態様では、抗VISTA Abは、腫瘍モデル、例えばヒトVISTAノックイン腫瘍モデルにおける腫瘍成長を阻害する。

【0074】

本明細書の実施例に示されるように、抗体の薬物動態(PK)特性(すなわち半減期)を増大させるなどのエンドソーム内での抗VISTA Abのリサイクルには、抗VISTA抗体が酸性条件下でVISTAに結合する必要がある。したがって、本明細書で詳述されているように、低pHでVISTAに結合する抗VISTA Abは、酸性pHでVISTAに結合しないVISTA抗体と比較して、より長い許容可能な半減期を有することが期待される。

【0075】

例示的なhVISTA-ECD結合Ab

本明細書で提供されるのは、生理的pHまたは中性pHと比較して酸性pH(例えば酸性条件)でhVISTA(ECD)に優先的に結合するAbである。

【0076】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVH CDR1、CDR2および/またはCDR3を含む重鎖可変領域(「VH」)を含む。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVH CDR1、CDR2およびCDR3を含むVHを含む。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、P1-061029もしくはP1-061015またはその子孫、例えばP1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761_E55A、P1-068761_H100G、P1-068761_E56N、P1-068761_E55A_E56N、P1-068761_E30D、P1-068761_E30D_E55A、P1-068761_E56N_H100G、P1-068761_E30D_H100G、P1-068761_E30D_E56N、P1-068761_E100fF、P1-068761_E55A_E100fF、P1-068761_H100G_E100fF、P1-068761_E30D_E100fF、P1-068761_E56N_E100fF、P1-068761_E32Y、P1-068761_E32Y_E55A、P1-068761_E32Y_E56N、P1-068761_E30D_E32Y、P1-068761_E32Y_H100G、P1-068761_E32Y_E100fF、P1-068767_D52N_D102V、P1-068767_D52N、P1-068767_D52N_E55A、P1-068767_E55A_D102V、P1-068767_D102V、P1-068767_E55A、P1-068767_E30D_D52N、P1-068767_E30D_D102V、P1-068767_E30D、P1-068767_E30D_E55A、P1-068767_E100fF_D102V、P1-068767_E55A_E100fF、P1-068767_D

10

20

30

40

50

52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEのVH CDR1、CDR2および／またはCDR3を含むVHを含む。これらの各種のVH CDR1、CDR2およびCDR3は、下記の配列表に示す上記抗体種のそれぞれのVH配列のアミノ酸位置26-35（VH CDR1）、50-66（VH CDR2）および99-110（VH CDR3）を含む。また、これらのCDRは、下記の配列表に記載されている上記抗体種のVHの各配列に下線が引かれ、太字で記載されている。

【0077】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVLを含む。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、P1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761__E55A、P1-068761__H100G、P1-068761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEのうちの1つのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVLを含む。これらの各種のVL CDR1、CDR2およびCDR3は、下記の配列表に示す上記抗体種のそれぞれのVL配列のアミノ酸位置24-35（VL CDR1）、51-57（VL CDR2）および90-98（VHL CDR3）を含む。また、これらのCDRは、それらの配列のそれぞれに下線が引かれ、太字で記載されている。

【0078】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVH CDR1、CDR2および／またはCDR3を含むVHと、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのCDR1、CDR2および／またはCDR3を含むVLとを含む。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任

10

20

30

40

50

意の抗hVISTA AbのVH CDR1、CDR2およびCDR3を含むVHと、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのCDR1、CDR2およびCDR3を含むVLとを含む。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、P1-061029もしくはP1-061015またはその子孫、例えばP1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761_E55A、P1-068761_H100G、P1-068761_E56N、P1-068761_E55A_E56N、P1-068761_E30D、P1-068761_E30D_E55A、P1-068761_E56N_H100G、P1-068761_E30D_H100G、P1-068761_E30D_E56N、P1-068761_E100fF、P1-068761_E55A_E100fF、P1-068761_H100G_E100fF、P1-068761_E30D_E100fF、P1-068761_E56N_E100fF、P1-068761_E32Y、P1-068761_E32Y_E55A、P1-068761_E32Y_E56N、P1-068761_E30D_E32Y、P1-068761_E32Y_H100G、P1-068761_E32Y_E100fF、P1-068767_D52N_D102V、P1-068767_D52N、P1-068767_D52N_E55A、P1-068767_E55A_D102V、P1-068767_D102V、P1-068767_E55A、P1-068767_E30D_D52N、P1-068767_E30D_D102V、P1-068767_E30D、P1-068767_E30D_E55A、P1-068767_E100fF_D102V、P1-068767_E55A_E100fF、P1-068767_D52N_E100fF、P1-068767_E100fF、P1-068767_E30D_E100fF、P1-061029_F100fE_V102D、P1-061029_F100fE、P1-061029_V102D、P1-061029_Y32EまたはP1-061029_Y32E_F100fEのVH CDR1、CDR2および／またはCDR3を含むVHと、P1-061029もしくはP1-061015またはその子孫、例えばP1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761_E55A、P1-068761_H100G、P1-068761_E56N、P1-068761_E55A_E56N、P1-068761_E30D、P1-068761_E30D_E55A、P1-068761_E56N_H100G、P1-068761_E30D_H100G、P1-068761_E30D_E56N、P1-068761_E100fF、P1-068761_E55A_E100fF、P1-068761_H100G_E100fF、P1-068761_E30D_E100fF、P1-068761_E56N_E100fF、P1-068761_E32Y、P1-068761_E32Y_E55A、P1-068761_E32Y_E56N、P1-068761_E30D_E32Y、P1-068761_E32Y_H100G、P1-068761_E32Y_E100f

10

20

30

40

50

F、P1-068767_D52N_D102V、P1-068767_D52N、P1-068767_D52N_E55A、P1-068767_E55A_D102V、P1-068767_D102V、P1-068767_E55A、P1-068767_E30D_D52N、P1-068767_E30D_D102V、P1-068767_E30D、P1-068767_E30D_E55A、P1-068767_E100fF_D102V、P1-068767_E55A_E100fF、P1-068767_D52N_E100fF、P1-068767_E100fF、P1-068767_E30D_E100fF、P1-061029_F100fE_V102D、P1-061029_F100fE、P1-061029_V102D、P1-061029_Y32EまたはP1-061029_Y32E_F100fEのVL CDR1、CDR2および／またはCDR3を含むVLとを含む。

10

【0079】

いくつかの実施態様では、抗hVISTA Abは、以下を含み得る。

- (a) P1-061029のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-061029のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (b) P1-061015のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-061015のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (c) P1-068757のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068757のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (d) P1-068759のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068759のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (e) P1-068761のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (f) P1-068763のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068763のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (g) P1-068765のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068765のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (h) P1-068767のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (i) P1-068769のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068769のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (j) P1-068771のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068771のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (k) P1-068773のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068773のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (l) P1-068775のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068775のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (m) P1-069059のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-069059のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (n) P1-069061のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-069061のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (o) P1-069063のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-069063のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (p) P1-069065のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-069065のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (q) P1-069067のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-069067のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (r) P1-069069のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-069069のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
- (s) P1-069071のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を

20

30

40

50

含むVHと、P1-069071のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
(t) P1-069073のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を
含むVHと、P1-069073のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
(u) P1-069075のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を
含むVHと、P1-069075のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
(v) P1-069077のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を
含むVHと、P1-069077のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
(w) P1-068736のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を
含むVHと、P1-068736のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
(x) P1-068738のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を
含むVHと、P1-068738のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
(y) P1-068740のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を
含むVHと、P1-068740のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
(z) P1-068742のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を
含むVHと、P1-068742のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
(aa) P1-068744のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列
を含むVHと、P1-068744のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL
；
(bb) P1-068746のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列
を含むVHと、P1-068746のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL
；
(cc) P1-068748のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列
を含むVHと、P1-068748のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL
；
(dd) P1-068750のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列
を含むVHと、P1-068750のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL
；
(ee) P1-068752のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列
を含むVHと、P1-068752のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL
；
(ff) P1-068754のVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列
を含むVHと、P1-068754のVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL
；
(gg) P1-068761__E55AのVH CDR1、CDR2およびCDR3のア
ミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E55AのVL CDR1、CDR2およ
びCDR3を含むVL；
(hh) P1-068761__H100GのVH CDR1、CDR2およびCDR3の
アミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__H100GのVL CDR1、CDR2
およびCDR3を含むVL；
(ii) P1-068761__E56NのVH CDR1、CDR2およびCDR3のア
ミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E56NのVL CDR1、CDR2およ
びCDR3を含むVL；
(jj) P1-068761__E55A__E56NのVH CDR1、CDR2およびC
DR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E55A__E56NのVL C
DR1、CDR2およびCDR3を含むVL；
(kk) P1-068761__E30DのVH CDR1、CDR2およびCDR3のア
ミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E30DのVL CDR1、CDR2およ
びCDR3を含むVL；
(ll) P1-068761__E30D__E55AのVH CDR1、CDR2およびC
DR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E30D__E55AのVL C

10

20

30

40

50

DR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(mm) P1-068761_E56N_H100GのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_E56N_H100GのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(nn) P1-068761_E30D_H100GのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_E30D_H100GのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(oo) P1-068761_E30D_E56NのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_E30D_E56NのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(pp) P1-068761_E100fFのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_E100fFのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(qq) P1-068761_E55A_E100fFのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_E55A_E100fFのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(rr) P1-068761_H100G_E100fFのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_H100G_E100fFのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(ss) P1-068761_E30D_E100fFのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_E30D_E100fFのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(tt) P1-068761_E56N_E100fFのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_E56N_E100fFのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(uu) P1-068761_E32YのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_E32YのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(vv) P1-068761_E32Y_E55AのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_E32Y_E55AのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(ww) P1-068761_E32Y_E56NのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_E32Y_E56NのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(xx) P1-068761_E30D_E32YのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_E30D_E32YのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(yy) P1-068761_E32Y_H100GのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_E32Y_H100GのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(zz) P1-068761_E32Y_E100fFのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761_E32Y_E100fFのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(aaa) P1-068767_D52N_D102VのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767_D52N_D102VのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(bbb) P1-068767_D52NのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767_D52NのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(ccc) P1-068767_D52N_E55AのVH CDR1、CDR2および

10

20

30

40

50

CDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__D52N__E55AのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(ddd) P1-068767__E55A__D102VのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E55A__D102VのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(eee) P1-068767__D102VのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__D102VのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(fff) P1-068767__E55AのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E55AのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

10

(ggg) P1-068767__E30D__D52NのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E30D__D52NのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(hhh) P1-068767__E30D__D102VのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E30D__D102VのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(iii) P1-068767__E30DのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E30DのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

20

(jjj) P1-068767__E30D__E55AのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E30D__E55AのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(kkk) P1-068767__E100fF__D102VのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E100fF__D102VのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(lll) P1-068767__E55A__E100fFのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E55A__E100fFのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(mmm) P1-068767__D52N__E100fFのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__D52N__E100fFのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

30

(nnn) P1-068767__E100fFのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E100fFのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(ooo) P1-068767__E30D__E100fFのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E30D__E100fFのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(ppp) P1-061029__F100fE__V102DのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-061029__F100fE__V102DのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

40

(qqq) P1-061029__F100fEのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-061029__F100fEのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(rrr) P1-061029__V102DのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-061029__V102DのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；

(sss) P1-061029__Y32EのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-061029__Y32EのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL；または

50

(t t t) P1-061029_Y32E_F100fEのVH CDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列を含むVHと、P1-061029_Y32E_F100fEのVL CDR1、CDR2およびCDR3を含むVL。

【0080】

繰り返しになるが、以下の配列表は、上で列挙したIgG1、3重鎖定常領域を有する抗体の重鎖および軽鎖可変領域配列と完全長重鎖および軽鎖配列を提供し（表中に別のHC定常領域が記載されていない限り）、それらのVH CDR1、CDR2およびCDR3とVL CDR1、CDR2およびCDR3の位置をアミノ酸残基別に注記し、各VHおよびVL配列中のCDRを太字および下線で示したものである。したがって、配列表に示す配列番号67のアミノ酸の太字と下線で示されているように、例えばP1-061029のVH CDR1は配列番号67のアミノ酸26-35を含む一方、VH CDR2は配列番号67のアミノ酸50-66を含み、VH CDR3は配列番号67のアミノ酸99-110を含む等、以下同様である。

【0081】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVHのアミノ酸配列を含むVHを含む。本明細書で提供される特定の抗体種に対する個々のVH配列は配列表に列挙されている。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、P1-061029もしくはP1-061015またはその子孫、例えばP1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761_E55A、P1-068761_H100G、P1-068761_E56N、P1-068761_E55A_E56N、P1-068761_E30D、P1-068761_E30D_E55A、P1-068761_E56N_H100G、P1-068761_E30D_H100G、P1-068761_E30D_E56N、P1-068761_E100fF、P1-068761_E55A_E100fF、P1-068761_H100G_E100fF、P1-068761_E30D_E100fF、P1-068761_E56N_E100fF、P1-068761_E32Y、P1-068761_E32Y_E55A、P1-068761_E32Y_E56N、P1-068761_E30D_E32Y、P1-068761_E32Y_H100G、P1-068761_E32Y_E100fF、P1-068767_D52N_D102V、P1-068767_D52N、P1-068767_D52N_E55A、P1-068767_E55A_D102V、P1-068767_D102V、P1-068767_E55A、P1-068767_E30D_D52N、P1-068767_E30D_D102V、P1-068767_E30D、P1-068767_E30D_E55A、P1-068767_E100fF_D102V、P1-068767_E55A_E100fF、P1-068767_D52N_E100fF、P1-068767_E100fF、P1-068767_E30D_E100fF、P1-061029_F100fE_V102D、P1-061029_F100fE、P1-061029_V102D、P1-061029_Y32EまたはP1-061029_Y32E_F100fEのVHのアミノ酸配列を含むVHを含む。

【0082】

いくつかの実施態様では、抗hVISTA Abは、抗体P1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-0

10

20

30

40

50

68773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761__E55A、P1-068761__H100G、P1-068761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEのうちのいずれかのVHを含むが、VH配列のフレームワーク領域に1、2、3、4または5つのアミノ酸置換、例えば1、2、3、4または5つの保存的置換を有する。いくつかの実施態様では、抗hVISTA Abは、抗体P1-061029もしくはその子孫、例えばP1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-068766、P1-068761__E55A、P1-068761__H100G、P1-068761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__

10

20

30

40

50

E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEのいずれかのVHを含むが、配列表に示すVH配列のフレームワーク領域に1つ以上の生殖系列復帰置換、例えばK16Rおよび／またはT84A置換の一方または両方を有する。そのようなアミノ酸置換を有する例示的なVH配列は、配列表に提供され、残基16および84が太字および下線で強調されている。P1-061015は、そのVHフレームワーク領域の16位にRを含み、84位にAを含むことに注意されたい。

【0083】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVH CDRのアミノ酸配列を含むVH CDR1、CDR2およびCDR3を含み、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVHと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHを含む。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、P1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761__E55A、P1-068761__H100G、P1-068761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEのVHのアミノ酸配列と少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含むVHを含む。特定の実施態様では、抗体のVHは、VH配列のフレームワーク領域における1、2、3、4または5個のアミノ酸置換、例えば1、2、3、4もしくは5個の保存的置換、またはP1-061029もしくはその子孫におけるK16Rおよび／もしくはT84A置換の一方もしくは両方などの置換のために、配列表に示されたVH配列のものと異なる。

10

20

30

40

50

【0084】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVHのアミノ酸配列からなるVHを含む。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、P1-061029もしくはP1-061015またはその子孫、例えばP1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761_E55A、P1-068761_H100G、P1-068761_E56N、P1-068761_E55A_E56N、P1-068761_E30D、P1-068761_E30D_E55A、P1-068761_E56N_H100G、P1-068761_E30D_H100G、P1-068761_E30D_E56N、P1-068761_E100fF、P1-068761_E55A_E100fF、P1-068761_H100G_E100fF、P1-068761_E30D_E100fF、P1-068761_E56N_E100fF、P1-068761_E32Y、P1-068761_E32Y_E55A、P1-068761_E32Y_E56N、P1-068761_E30D_E32Y、P1-068761_E32Y_H100G、P1-068761_E32Y_E100fF、P1-068767_D52N_D102V、P1-068767_D52N、P1-068767_D52N_E55A、P1-068767_E55A_D102V、P1-068767_D102V、P1-068767_E55A、P1-068767_E30D_D52N、P1-068767_E30D_D102V、P1-068767_E30D、P1-068767_E30D_E55A、P1-068767_E100fF_D102V、P1-068767_E55A_E100fF、P1-068767_D52N_E100fF、P1-068767_E100fF、P1-068767_E30D_E100fF、P1-061029_F100fE_V102D、P1-061029_F100fE、P1-061029_V102D、P1-061029_Y32EまたはP1-061029_Y32E_F100fEのVHのアミノ酸配列からなるVHを含み、場合によってK16Rおよび／またはT84A置換の一方または両方を有する。

【0085】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVLのアミノ酸配列を含むVLを含む。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、P1-061029もしくはP1-061015またはその子孫、例えばP1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761_E55A、P1-068761_H100G、P1-068761_E56N、P1-068761_E55A_E56N、P1-068761_E30D、P1-068761_E30D_E55A、P1-068761_E56N_H100G、P1-068761_E30D_H100G、P1-068761_E30D_E56N、P1-068761_E100fF、P1-068761_E55A_E100fF、P

1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEのVLのアミノ酸配列を含むVLを含む。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVL CDRのアミノ酸配列を含むVL CDR1、CDR2およびCDR3を含み、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVLを含む。特定の
実施態様では、抗hVISTA Abは、P1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761__E55A、P1-068761__H100G、P1-068761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEのVLのアミノ酸配列と少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%

10

20

30

40

50

または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。特定の実施態様では、抗体のVLは、VL配列のフレームワーク領域における1、2、3、4または5個のアミノ酸置換、例えば1、2、3、4もしくは5個の保存的置換のために、配列表に示されたVL配列のものとは異なる。

【0086】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVLのアミノ酸配列からなるVLを含む。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、P1-061029もしくはP1-061015またはその子孫、例えばP1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761_E55A、P1-068761_H100G、P1-068761_E56N、P1-068761_E55A_E56N、P1-068761_E30D、P1-068761_E30D_E55A、P1-068761_E56N_H100G、P1-068761_E30D_H100G、P1-068761_E30D_E56N、P1-068761_E100fF、P1-068761_E55A_E100fF、P1-068761_H100G_E100fF、P1-068761_E30D_E100fF、P1-068761_E56N_E100fF、P1-068761_E32Y、P1-068761_E32Y_E55A、P1-068761_E32Y_E56N、P1-068761_E30D_E32Y、P1-068761_E32Y_H100G、P1-068761_E32Y_E100fF、P1-068767_D52N_D102V、P1-068767_D52N、P1-068767_D52N_E55A、P1-068767_E55A_D102V、P1-068767_D102V、P1-068767_E55A、P1-068767_E30D_D52N、P1-068767_E30D_D102V、P1-068767_E30D、P1-068767_E30D_E55A、P1-068767_E100fF_D102V、P1-068767_E55A_E100fF、P1-068767_D52N_E100fF、P1-068767_E100fF、P1-068767_E30D_E100fF、P1-061029_F100fE_V102D、P1-061029_F100fE、P1-061029_V102D、P1-061029_Y32EまたはP1-061029_Y32E_F100fEのVLのアミノ酸配列からなるVLを含む。

【0087】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVHのアミノ酸配列を含むVHを含み、かつ、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVLのアミノ酸配列を含むVLを含む。これらの特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、P1-061029もしくはP1-061015またはその子孫、例えばP1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761_E55A、P1-068761_H100G、P1-0

68761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-061029またはP1-061015のVLのアミノ酸配列を含むVLとを含む。

【0088】

ただし、特定の実施態様では、抗体のVHは、P1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761__E55A、P1-068761__H100G、P1-068761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EのVHであるが、VH配列のフレームワーク領域に1、2、3、4または5つのアミノ酸置換、例えば1、2、3、4または5つの保存的置換を有し、VLは、

10

20

30

40

50

P1-061029またはP1-061015のVLである。特定の実施態様では、抗体のVHは、P1-061029またはその子孫、例えばP1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-068766、P1-068761__E55A、P1-068761__H100G、P1-068761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEのVHであるが、K16RまたはT84A置換の一方または両方を有し、VLはP1-061029またはP1-061015のVLである。

【0089】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、P1-061029もしくはP1-061015またはその子孫、例えばP1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761__E55A、P1-068761__H100G、P1-068761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P

10

20

30

40

50

1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEのVHおよびVLのアミノ酸配列を含むVHおよびVLを含み、場合によってVHはK16Rおよび／またはT84A置換の一方または両方を含む。

【0090】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVH CDRのアミノ酸配列を含むVH CDR1、CDR2およびCDR3、ならびに本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVL CDRのアミノ酸配列を含むVL CDR1、CDR2およびCDR3を含み、また、本明細書で提供される任意の抗hVISTA Abの対応するVHおよびVLとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLも含む。特定の実施態様では、抗体のVHおよびVLは、配列のフレームワーク領域における1、2、3、4または5個のアミノ酸置換、例えば1、2、3、4もしくは5個の保存的置換、またはVH配列におけるK16Rおよび／またはT84A置換の一方もしくは両方などの置換のために、配列表に示されたVHおよびVL配列とは異なる。

【0091】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA AbのVHおよびVLのアミノ酸配列からなるVHおよびVLを含む。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、P1-061029もしくはP1-061015またはその子孫、例えばP1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761__E55A、P1-068761__H100G、P1-068761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102

10

20

30

40

50

V、P1-068767_E55A_E100fF、P1-068767_D52N_E100fF、P1-068767_E100fF、P1-068767_E30D_E100fF、P1-061029_F100fE_V102D、P1-061029_F100fE、P1-061029_V102D、P1-061029_Y32EまたはP1-061029_Y32E_F100fEのVHおよびVLのアミノ酸配列からそれぞれなるVHおよびVLを含み、場合によってVHはK16Rおよび／またはT84A置換の一方または両方を含む。

【0092】

抗hVISTA Abは、以下を含み得る。

(a) P1-061029のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-061029のVLのアミノ酸配列を含むVL；

10

(b) P1-061015のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-061015のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(c) P1-068757のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068757のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(d) P1-068759のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068759のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(e) P1-068761のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(f) P1-068763のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068763のVLのアミノ酸配列を含むVL；

20

(g) P1-068765のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068765のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(h) P1-068767のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(i) P1-068769のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068769のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(j) P1-068771のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068771のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(k) P1-068773のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068773のVLのアミノ酸配列を含むVL；

30

(l) P1-068775のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068775のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(m) P1-069059のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-069059のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(n) P1-069061のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-069061のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(o) P1-069063のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-069063のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(p) P1-069065のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-069065のVLのアミノ酸配列を含むVL；

40

(q) P1-069067のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-069067のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(r) P1-069069のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-069069のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(s) P1-069071のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-069071のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(t) P1-069073のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-069073のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(u) P1-069075のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-069075のV

50

Lのアミノ酸配列を含むVL；

(v) P1-069077のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-069077のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(w) P1-068736のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068736のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(x) P1-068738のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068738のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(y) P1-068740のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068740のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(z) P1-068742のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068742のVLのアミノ酸配列を含むVL；

10

(aa) P1-068744のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068744のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(bb) P1-068746のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068746のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(cc) P1-068748のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068748のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(dd) P1-068750のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068750のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ee) P1-068752のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068752のVLのアミノ酸配列を含むVL；

20

(ff) P1-068754のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068754のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(gg) P1-068761_E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(hh) P1-068761_H100GのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_H100GのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ii) P1-068761_E56NのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E56NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(jj) P1-068761_E55A_E56NのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E55A_E56NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

30

(kk) P1-068761のVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ll) P1-068761_E30D_E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E30D_E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(mm) P1-068761_E56N_H100GのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E56N_H100GのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(nn) P1-068761_E30D_H100GのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E30D_H100GのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(oo) P1-068761_E30D_E56NのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E30D_E56NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

40

(pp) P1-068761_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(qq) P1-068761_E55A_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E55A_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(rr) P1-068761_H100G_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_H100G_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ss) P1-068761_E30D_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E30D_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(tt) P1-068761_E56N_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むV

50

HとP1-068761__E56N__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (uu) P1-068761__E32YのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761__E32YのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (vv) P1-068761__E32Y__E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761__E32Y__E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (ww) P1-068761__E32Y__E56NのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761__E32Y__E56NのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (xx) P1-068761__E30D__E32YのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761__E30D__E32YのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (yy) P1-068761__E32Y__H100GのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761__E32Y__H100GのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (zz) P1-068761__E32Y__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761__E32Y__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (aaa) P1-068767__D52N__D102VのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__D52N__D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (bbb) P1-068767__D52NのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__D52NのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (ccc) P1-068767__D52N__E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__D52N__E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (ddd) P1-068767__E55A__D102VのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__E55A__D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (eee) P1-068767__D102VのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (fff) P1-068767__E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (ggg) P1-068767__E30D__D52NのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__E30D__D52NのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (hhh) P1-068767__E30D__D102VのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__E30D__D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (iii) P1-068767__E30DのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__E30DのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (jjj) P1-068767__E30D__E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__E30D__E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (kkk) P1-068767__E100fF__D102VのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__E100fF__D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (lll) P1-068767__E55A__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__E55A__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (mmm) P1-068767__D52N__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__D52N__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (nnn) P1-068767__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (ooo) P1-068767__E30D__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767__E30D__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (ppp) P1-061029__F100fE__V102DのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-061029__F100fE__V102DのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (qqq) P1-061029__F100fEのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-061029__F100fEのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (rrr) P1-061029__V102DのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-

10

20

30

40

50

061029__V102DのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(sss) P1-061029__Y32EのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-061029__Y32EのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ttt) P1-061029__Y32E__F100fEのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-061029__Y32E__F100fEのVLのアミノ酸配列を含むVL。
【0093】

抗hVISTA Abは、以下を含み得る。

(a) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-061029のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-061029のVLのアミノ酸配列を含むVL；

10

(b) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068757のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068757のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(c) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068759のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068759のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(d) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(e) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068763のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068763のVLのアミノ酸配列を含むVL；

20

(f) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068765のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068765のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(g) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(h) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068769のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068769のVLのアミノ酸配列を含むVL；

30

(i) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068771のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068771のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(j) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068773のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068773のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(k) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068775のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068775のVLのアミノ酸配列を含むVL；

40

(l) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-069059のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-069059のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(m) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-069061のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-069061のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(n) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-069063のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-069063のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(o) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-069065

50

のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-069065のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(p) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-069067のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-069067のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(q) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-069069のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-069069のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(r) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-069071のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-069071のVLのアミノ酸配列を含むVL；

10

(s) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-069073のVHのアミノ酸配列を含むVH、P1-069073のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(t) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-069075のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-069075のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(u) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-069077のVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-069077のVLのアミノ酸配列を含むVL；

(v) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；

20

(w) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__H100GのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__H100GのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(x) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E56NのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E56NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(y) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E55A__E56NのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E55A__E56NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

30

(z) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E30DのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E30DのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(aa) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E30D__E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E30D__E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(bb) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E56N__H100GのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E56N__H100GのVLのアミノ酸配列を含むVL；

40

(cc) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E30D__H100GのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E30D__H100GのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(dd) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E30D__E56NのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E30D__E56NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ee) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ff) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-06876

50

1__E55A__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E55A__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(g g) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__H100G__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__H100G__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(h h) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E30D__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E30D__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(i i) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E56N__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E56N__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

10

(j j) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E32YのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E32YのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(k k) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E32Y__E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E32Y__E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(l l) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E32Y__E56NのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E32Y__E56NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

20

(m m) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E30D__E32YのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E30D__E32YのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(n n) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E32Y__H100GのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E32Y__H100GのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(o o) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068761__E32Y__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068761__E32Y__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(p p) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__D52N__D102VのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__D52N__D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；

30

(q q) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__D52NのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__D52NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(r r) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__D52N__E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__D52N__E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(s s) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__E55A__D102VのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E55A__D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；

40

(t t) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__D102VのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(u u) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(v v) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__E30D__D52NのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E30D__D52NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

50

(ww) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__E30D__D102Vのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E30D__D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(xx) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__E30DのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E30DのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(yy) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__E30D__E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E30D__E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(zz) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__E100fF__D102VのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E100fF__D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(aaa) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__E55A__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E55A__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(bbb) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__D52N__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__D52N__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ccc) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ddd) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-068767__E30D__E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-068767__E30D__E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(eee) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-061029__F100fE__V102DのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-061029__F100fE__V102DのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(fff) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-061029__F100fEのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-061029__F100fEのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ggg) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-061029__V102DのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-061029__V102DのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(hhh) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-061029__Y32EのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-061029__Y32EのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(iii) K16Rおよび／またはT84A置換によって修飾された、P1-061029__Y32E__F100fEのVHのアミノ酸配列を含むVHと、P1-061029__Y32E__F100fEのVLのアミノ酸配列を含むVL；

【0094】

抗hVISTA Abは、以下を含み得る。

(a) P1-061029のVHのVH CDRを含むVHと、P1-061029のVL CDRを含むVLと、P1-061029のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(b) P1-061015のVHのVH CDRを含むVHと、P1-061015のVL CDRを含むVLと、P1-061015のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%

10

20

30

40

50

(c) P1-068757のVHのVH CDRを含むVHと、P1-068757のVL CDRを含むVLと、P1-068757のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

10

(f) P1-068763のVHのVH CDRを含むVHと、P1-068763のVL CDRを含むVLと、P1-068763のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(g) P1-068765のVHのVH CDRを含むVHと、P1-068765のVL CDRを含むVLと、P1-068765のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(h) P1-068767のVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767のVL CDRを含むVLと、P1-068767のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(i) P1-068769のVHのVH CDRを含むVHと、P1-068769のVL CDRを含むVLと、P1-068769のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(j) P1-068771のVHのVH CDRを含むVHと、P1-068771のVL CDRを含むVLと、P1-068771のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(k) P1-068773のVHのVH CDRを含むVHと、P1-068773のVL CDRを含むVLと、P1-068773のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(l) P1-068775のVHのVH CDRを含むVHと、P1-068775のVL CDRを含むVLと、P1-068775のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%

(m) P1-069059のVHのVH CDRを含むVHと、P1-069059のVL CDRを含むVLと、P1-069059のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

10

(p) P1-069065のVHのVH CDRを含むVHと、P1-069065のVL CDRを含むVLと、P1-069065のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(q) P1-069067のVHのVH CDRを含むVHと、P1-069067のVL CDRを含むVLと、P1-069067のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

30

(s) P1-069071のVHのVH CDRを含むVHと、P1-069071のVL CDRを含むVLと、P1-069071のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(t) P1-069073のVHのVH CDRを含むVHと、P1-069073のVL CDRを含むVLと、P1-069073のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(u) P1-069075のVHのVH CDRを含むVHと、P1-069075のVL CDRを含むVLと、P1-069075のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(v) P1-069077のVHのVH CDRを含むVHと、P1-069077のVL CDRを含むVLと、P1-069077のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%

(w) P1-068736のVHのVH CDRを含むVHと、P1-068736のVL CDRを含むVLと、P1-068736のVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

10

20

30

40

50

%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(g g) P1-068761__E55AのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068761__E55AのVL CDRを含むVLと、P1-068761__E55AのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(h h) P1-068761__H100GのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068761__H100GのVL CDRを含むVLと、P1-068761__H100GのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

10

(i i) P1-068761__E56NのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068761__E56NのVL CDRを含むVLと、P1-068761__E56NのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(j j) P1-068761__E55A__E56NのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068761__E55A__E56NのVL CDRを含むVLと、P1-068761__E55A__E56NのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

20

(k k) P1-068761__E30DのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068761__E30DのVL CDRを含むVLと、P1-068761__E30DのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(l l) P1-068761__E30D__E55AのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068761__E30D__E55AのVL CDRを含むVLと、P1-068761__E30D__E55AのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

30

(m m) P1-068761__E56N__H100GのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068761__E56N__H100GのVL CDRを含むVLと、P1-068761__E56N__H100GのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(n n) P1-068761__E30D__H100GのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068761__E30D__H100GのVL CDRを含むVLと、P1-068761__E30D__H100GのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

40

(o o) P1-068761__E30D__E56NのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068761__E30D__E56NのVL CDRを含むVLと、P1-068761__E30D__E56NのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHお

50

よびV Lのアミノ酸配列；

(p p) P1-068761__E100fFのV HのV H C D Rを含むV Hと、P1-068761__E100fFのV L C D Rを含むV Lと、P1-068761__E100fFのV HおよびV Lと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるV HおよびV Lのアミノ酸配列；

(q q) P1-068761__E55A__E100fFのV HのV H C D Rを含むV Hと、P1-068761__E55A__E100fFのV L C D Rを含むV Lと、P1-068761__E55A__E100fFのV HおよびV Lと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるV HおよびV Lのアミノ酸配列；

10

(r r) P1-068761__H100G__E100fFのV HのV H C D Rを含むV Hと、P1-068761__H100G__E100fFのV L C D Rを含むV Lと、P1-068761__H100G__E100fFのV HおよびV Lと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるV HおよびV Lのアミノ酸配列；

(s s) P1-068761__E30D__E100fFのV HのV H C D Rを含むV Hと、P1-068761__E30D__E100fFのV L C D Rを含むV Lと、P1-068761__E30D__E100fFのV HおよびV Lと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるV HおよびV Lのアミノ酸配列；

20

(t t) P1-068761__E56N__E100fFのV HのV H C D Rを含むV Hと、P1-068761__E56N__E100fFのV L C D Rを含むV Lと、P1-068761__E56N__E100fFのV HおよびV Lと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるV HおよびV Lのアミノ酸配列；

30

(u u) P1-068761__E32YのV HのV H C D Rを含むV Hと、P1-068761__E32YのV L C D Rを含むV Lと、P1-068761__E32YのV HおよびV Lと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるV HおよびV Lのアミノ酸配列；

(v v) P1-068761__E32Y__E55AのV HのV H C D Rを含むV Hと、P1-068761__E32Y__E55AのV L C D Rを含むV Lと、P1-068761__E32Y__E55AのV HおよびV Lと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるV HおよびV Lのアミノ酸配列；

40

(w w) P1-068761__E32Y__E56NのV HのV H C D Rを含むV Hと、P1-068761__E32Y__E56NのV L C D Rを含むV Lと、P1-068761__E32Y__E56NのV HおよびV Lと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるV HおよびV Lのアミノ酸配列；

(x x) P1-068761__E30D__E32YのV HのV H C D Rを含むV Hと、P1-068761__E30D__E32YのV L C D Rを含むV Lと、P1-06876

50

1 __E30D__E32YのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(yy) P1-068761__E32Y__H100GのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068761__E32Y__H100GのVL CDRを含むVLと、P1-068761__E32Y__H100GのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

10

(zz) P1-068761__E32Y__E100fFのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068761__E32Y__E100fFのVL CDRを含むVLと、P1-068761__E32Y__E100fFのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(aaa) P1-068767__D52N__D102VのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__D52N__D102VのVL CDRを含むVLと、P1-068767__D52N__D102VのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

20

(bbb) P1-068767__D52NのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__D52NのVL CDRを含むVLと、P1-068767__D52NのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(ccc) P1-068767__D52N__E55AのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__D52N__E55AのVL CDRを含むVLと、P1-068767__D52N__E55AのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

30

(ddd) P1-068767__E55A__D102VのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__E55A__D102VのVL CDRを含むVLと、P1-068767__E55A__D102VのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(eee) P1-068767__D102VのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__D102VのVL CDRを含むVLと、P1-068767__D102VのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

40

(fff) P1-068767__E55AのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__E55AのVL CDRを含むVLと、P1-068767__E55AのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(ggg) P1-068767__E30D__D52NのVHのVH CDRを含むVHと

50

、P1-068767__E30D__D52NのVL CDRを含むVLと、P1-068767__E30D__D52NのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(hhh) P1-068767__E30D__D102VのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__E30D__D102VのVL CDRを含むVLと、P1-068767__E30D__D102VのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

10

(iii) P1-068767__E30DのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__E30DのVL CDRを含むVLと、P1-068767__E30DのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(jjj) P1-068767__E30D__E55AのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__E30D__E55AのVL CDRを含むVLと、P1-068767__E30D__E55AのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

20

(kkk) P1-068767__E100fF__D102VのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__E100fF__D102VのVL CDRを含むVLと、P1-068767__E100fF__D102VのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(lll) P1-068767__E55A__E100fFのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__E55A__E100fFのVL CDRを含むVLと、P1-068767__E55A__E100fFのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

30

(mmm) P1-068767__D52N__E100fFのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__D52N__E100fFのVL CDRを含むVLと、P1-068767__D52N__E100fFのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

40

(nnn) P1-068767__E100fFのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__E100fFのVL CDRを含むVLと、P1-068767__E100fFのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(ooo) P1-068767__E30D__E100fFのVHのVH CDRを含むVHと、P1-068767__E30D__E100fFのVL CDRを含むVLと、P1-068767__E30D__E100fFのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%

50

、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(p p p) P1-061029__F100fE__V102DのVHのVH CDRを含むVHと、P1-061029__F100fE__V102DのVL CDRを含むVLと、P1-061029__F100fE__V102DのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(q q q) P1-061029__F100fEのVHのVH CDRを含むVHと、P1-061029__F100fEのVL CDRを含むVLと、P1-061029__F100fEのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(r r r) P1-061029__V102DのVHのVH CDRを含むVHと、P1-061029__V102DのVL CDRを含むVLと、P1-061029__V102DのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(s s s) P1-061029__Y32EのVHのVH CDRを含むVHと、P1-061029__Y32EのVL CDRを含むVLと、P1-061029__Y32EのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

(t t t) P1-061029__Y32E__F100fEのVHのVH CDRを含むVHと、P1-061029__Y32E__F100fEのVL CDRを含むVLと、P1-061029__Y32E__F100fEのVHおよびVLと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるVHおよびVLのアミノ酸配列；

場合によって、ここで、(a)から(t t t)のいずれかのVHは、K16RおよびT84A置換の一方または両方を含む。

【0095】

上記のいくつかの実施態様において、VHおよび／またはVLは、1、2、3、4または5個のアミノ酸置換、例えば1、2、3、4または5個の保存的置換の存在によって、種(a)から(t t t)のそれぞれの配列と異なってもよい。いくつかの実施態様では、VHは、K16RおよびT84A置換の一方または両方を含んでもよい。

【0096】

抗hVISTA Abは、以下を含み得る。

(a) P1-061029のVHのアミノ酸配列からなるVHとP1-061029のVLからなるVL；

(b) P1-061015のVHのアミノ酸配列からなるVHとP1-061015のVLからなるVL；

(c) P1-068757のVHのアミノ酸配列からなるVHとP1-068757のVLからなるVL；

(d) P1-068759のVHのアミノ酸配列からなるVHとP1-068759のVLからなるVL；

(e) P1-068761のVHのアミノ酸配列からなるVHとP1-068761のVLからなるVL；

(f) P1-068763のVHのアミノ酸配列からなるVHとP1-068763の

V L かなる V L ;

(g) P 1 - 0 6 8 7 6 5 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 6 5 の V L かなる V L ;

(h) P 1 - 0 6 8 7 6 7 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 6 7 の V L かなる V L ;

(i) P 1 - 0 6 8 7 6 9 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 6 9 の V L かなる V L ;

(j) P 1 - 0 6 8 7 7 1 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 7 1 の V L かなる V L ;

(k) P 1 - 0 6 8 7 7 3 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 7 3 の V L かなる V L ;

10

(l) P 1 - 0 6 8 7 7 5 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 7 5 の V L かなる V L ;

(m) P 1 - 0 6 9 0 5 9 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 9 0 5 9 の V L かなる V L ;

(n) P 1 - 0 6 9 0 6 1 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 9 0 6 1 の V L かなる V L ;

(o) P 1 - 0 6 9 0 6 3 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 9 0 6 3 の V L かなる V L ;

(p) P 1 - 0 6 9 0 6 5 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 9 0 6 5 の V L かなる V L ;

20

(q) P 1 - 0 6 9 0 6 7 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 9 0 6 7 の V L かなる V L ;

(r) P 1 - 0 6 9 0 6 9 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 9 0 6 9 の V L かなる V L ;

(s) P 1 - 0 6 9 0 7 1 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 9 0 7 1 の V L かなる V L ;

(t) P 1 - 0 6 9 0 7 3 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 9 0 7 3 の V L かなる V L ;

(u) P 1 - 0 6 9 0 7 5 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 9 0 7 5 の V L かなる V L ;

30

(v) P 1 - 0 6 9 0 7 7 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 9 0 7 7 の V L かなる V L ;

(w) P 1 - 0 6 8 7 3 6 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 3 6 の V L かなる V L ;

(x) P 1 - 0 6 8 7 3 8 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 3 8 の V L かなる V L ;

(y) P 1 - 0 6 8 7 4 0 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 4 0 の V L かなる V L ;

(z) P 1 - 0 6 8 7 4 2 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 4 2 の V L かなる V L ;

40

(a a) P 1 - 0 6 8 7 4 4 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 4 4 の V L かなる V L ;

(b b) P 1 - 0 6 8 7 4 6 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 4 6 の V L かなる V L ;

(c c) P 1 - 0 6 8 7 4 8 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 4 8 の V L かなる V L ;

(d d) P 1 - 0 6 8 7 5 0 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 5 0 の V L かなる V L ;

(e e) P 1 - 0 6 8 7 5 2 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る V H と P 1 - 0 6 8 7 5 2

50

のVLからなるVL；

(ff) P1-068754のVHのアミノ酸配列からなるVHとP1-068754のVLからなるVL；

(gg) P1-068761_E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(hh) P1-068761_H100GのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_H100GのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ii) P1-068761_E56NのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E56NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(jj) P1-068761_E55A_E56NのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E55A_E56NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(kk) P1-068761_E30DのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E30DのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ll) P1-068761_E30D_E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E30D_E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(mm) P1-068761_E56N_H100GのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E56N_H100GのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(nn) P1-068761_E30D_H100GのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E30D_H100GのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(oo) P1-068761_E30D_E56NのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E30D_E56NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(pp) P1-068761_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(qq) P1-068761_E55A_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E55A_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(rr) P1-068761_H100G_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_H100G_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ss) P1-068761_E30D_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E30D_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(tt) P1-068761_E56N_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E56N_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(uu) P1-068761_E32YのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E32YのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(vv) P1-068761_E32Y_E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E32Y_E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ww) P1-068761_E32Y_E56NのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E32Y_E56NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(xx) P1-068761_E30D_E32YのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E30D_E32YのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(yy) P1-068761_E32Y_H100GのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E32Y_H100GのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(zz) P1-068761_E32Y_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068761_E32Y_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(aaa) P1-068767_D52N_D102VのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_D52N_D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(bbb) P1-068767_D52NのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_D52NのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ccc) P1-068767_D52N_E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_D52N_E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；

(ddd) P1-068767_E55A_D102VのVHのアミノ酸配列を含むV

10

20

30

40

50

HとP1-068767_E55A_D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (eee) P1-068767_D102VのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (fff) P1-068767_E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (ggg) P1-068767_E30D_D52NのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_E30D_D52NのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (hhh) P1-068767_E30D_D102VのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_E30D_D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (iii) P1-068767_E30DのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_E30DのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (jjj) P1-068767_E30D_E55AのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_E30D_E55AのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (kkk) P1-068767_E100fF_D102VのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_E100fF_D102VのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (lll) P1-068767_E55A_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_E55A_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (mmm) P1-068767_D52N_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_D52N_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (nnn) P1-068767_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (ooo) P1-068767_E30D_E100fFのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-068767_E30D_E100fFのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (ppp) P1-061029_F100fE_V102DのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-061029_F100fE_V102DのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (qqq) P1-061029_F100fEのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-061029_F100fEのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (rrr) P1-061029_V102DのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-061029_V102DのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (sss) P1-061029_Y32EのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-061029_Y32EのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 (ttt) P1-061029_Y32E_F100fEのVHのアミノ酸配列を含むVHとP1-061029_Y32E_F100fEのVLのアミノ酸配列を含むVL；
 場合によって、ここで、(a)から(ttt)のいずれかのVHは、K16RおよびT84A置換の一方または両方を含む。

【0097】

特定の実施態様では、抗VISTA Abは、上記および本明細書の他の場所に記載されている抗体の可変領域および／または可変領域CDR1-3、例えば：P1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761_E55A、P1-068761_H100G、P1-068761_E56N、P1-068761_E55A_E56N、P1-068761_E30D、P1-0687

61__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEの

- (1) VH CDR1、CDR2およびCDR3の1つ以上、
 - (2) VH CDR1、CDR2およびCDR3、
 - (3) VH、
 - (4) VH CDR1、CDR2およびCDR3の1つ以上、ならびにVL CDR1、CDR2およびCDR3の1つ以上、
 - (5) VH CDR1、CDR2およびCDR3、ならびにVL CDR1、CDR2およびCDR3、
 - (6) VHとVL（複数）、
- または

(7) (P1-061029またはその子孫の場合) VH内のK16RおよびT84A置換の一方もしくは両方を除いて、VLおよびVHのいずれかを含み；抗VISTA Abはまた、IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4抗体等のIgG抗体、または以下のセクションに記載されているようなそれらの改変された形態でもある。いくつかの実施態様では、定常領域はエフェクター機能を有し、いくつかの実施態様では、定常領域はエフェクターがない。特定の実施態様では、定常領域はIgG1.3のものである。

【0098】

特定の実施態様では、抗VISTA Abは、上記および本明細書の他の場所に記載されている抗体の可変領域および／または可変領域CDR1-3、例えば：P1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752P1-068754、P1-068761__E55A、P1-068761__H100G、P1-068761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-06876

1__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEの

10

- (1) VH CDR1、CDR2およびCDR3の1つ以上、
 - (2) VH CDR1、CDR2およびCDR3、
 - (3) VH、
 - (4) VH CDR1、CDR2およびCDR3の1つ以上、ならびにVL CDR1、CDR2およびCDR3の1つ以上、
 - (5) VH CDR1、CDR2およびCDR3、ならびにVL CDR1、CDR2およびCDR3、
 - (6) VHとVL（複数）、
- または

20

- (7) (P1-061029およびその子孫の場合) VH内のK16RおよびT84A置換の一方もしくは両方を除いて、VLおよびVHのいずれかを含み、
- かつ、以下の特性のうちの1つ以上をさらに含む。

－ 酸性pH、例えばpH6.0またはpH6.5で、hVISTA、例えばECDのヒスチジンリッチ領域または配列番号2のアミノ酸残基35-127を含むポリペプチドに特異的に結合すること；

30

－ 生理的pHまたは中性pH、例えばpH7.4またはpH7.0で、hVISTA、例えばECDのヒスチジンリッチ領域または配列番号2のアミノ酸残基35-127を含むポリペプチドへの有意な結合を欠くこと；

－ 酸性pH、例えばpH6.0またはpH6.5で、cyno VISTA、例えばECDのヒスチジンリッチ領域に特異的に結合すること；

－ 生理的pHまたは中性pH、例えばpH7.4またはpH7.0で、cyno VISTA、例えばECDのヒスチジンリッチ領域への有意な結合を欠くこと；

－ 配列番号2を有するhVISTA ECDと比較して、アミノ酸T35、Y37、K38、T39、Y41、R54、T61、F62、Q63、L65、H66、L67、H68、H69、F97、L115、V117、I119、H121、H122、S124、E125、R127の1つ以上に置換を有するhVISTA-ECDへの結合が減少していること；

40

－ hVISTAへの結合に関し、P1-061029、P1-068761、P1-068767および／またはP1-061015と交差競合すること；

－ 酸性pH、例えばpH6.0またはpH6.5で、VISTAを発現するヒトT細胞（例えばナイーブまたは活性化T細胞）へのhVISTAの結合を阻害すること；

－ 酸性pH、例えばpH6.0またはpH6.5で、hVISTAのPSGL-1への結合を阻害すること（例えば、配列番号1を有するhVISTAのH153およびH154とPSGL-1チロシンY46およびY48との間の相互作用を阻害すること）であって

50

、P S G L-1はシアリルルイスXを有していてもいなくてもよく、チロシンは好ましくはスルホチロシンである、阻害すること；

－例えば実施例に記載のように測定した、カニクイザルにおける少なくとも100、200、300、350、400、450、500、600または700時間（例：少なくとも350時間）の平均滞留時間（MRT）；

－例えば、T細胞増殖を強化すること；T細胞からのIFN- γ 産生を強化すること；および／またはT細胞受容体媒介のNF- κ Bシグナル伝達を刺激することによる、T細胞活性化を刺激すること；

－VISTA媒介の細胞：細胞接着を阻害すること；

－VISTAを発現する、ヒト腫瘍細胞の試料または炎症を起こしたヒト組織の試料において、hVISTAに特異的に結合すること；

－例えば実施例15に記載の酵母表面ディスプレイおよびNGSアッセイを使用して決定され、付番は成熟したhVISTAのものである1つ以上（例えば、少なくとも1-3、1-5、1-10、5-10、5-15個、または全て）のエネルギー的に重要な接触残基Y37、T39、R54、F62、H66、V117、I119またはS124を介してhVISTAに接触すること；

－配列番号1を有するhVISTAの領域1：57LGPVDKGHDVTF68（配列番号：566）；領域2：86RRPIRNLTFQDL97（配列番号：567）；および領域3：148VVEIRHHSEHRVHGAME165（配列番号：568）へ結合することであって、場合によってその結合が、実施例21に記載されるようにMS-HDXで決定して、領域2に対して最も強い、結合すること；

－例えば実施例に記載されているように、例えば結晶学によって決定される、hVISTAのヒスチジンリッチな β シート伸長部に結合すること；

－例えば実施例に記載されているように、例えば結晶学によって決定される、成熟hVISTAのH121、H122および／またはH123に、例えば水素結合を介して接触すること（4.0オングストローム（Å）以下の距離）；

－VHCDR1、CDR2またはCDR3にある、少なくとも1つ以上のグルタミン酸、アスパラギン酸またはヒスチジン残基を介してhVISTAに接触すること；および請求項および／または実施例に記載されている追加の特性。

【0099】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書で提供される任意の抗hVISTA Abの重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖（HC）を含む。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、IgG1.3重鎖定常領域を含む、以下の配列表に示されるようなP1-061029もしくはP1-061015またはその子孫の重鎖のアミノ酸配列、例えば：P1-061029、IgG1.3（配列番号69）、P1-068757、IgG1.3、P1-068759、IgG1.3、P1-068761、IgG1.3、P1-068763、IgG1.3、P1-068765、IgG1.3、P1-068767、IgG1.3、P1-068769、IgG1.3、P1-068771、IgG1.3、P1-068773、IgG1.3、P1-068775、IgG1.3、P1-069059、IgG1.3、P1-069061、IgG1.3、P1-069063、IgG1.3、P1-069065、IgG1.3、P1-069067、IgG1.3、P1-069069、IgG1.3、P1-069071、IgG1.3、P1-069073、IgG1.3、P1-069075、IgG1.3、P1-069077、IgG1.3、P1-061015、IgG1.3、P1-068736、IgG1.3、P1-068738、IgG1.3、P1-068740、IgG1.3、P1-068742、IgG1.3、P1-068744、IgG1.3、P1-068766、IgG1.3、P1-068748、IgG1.3、P1-068750、IgG1.3、P1-068752、IgG1.3、P1-068754、IgG1.3、P1-068761_E55A、IgG1.3、P1-068761_H100G、IgG1.3、P1-068761_E56N、IgG1.3、P1-068761_E55A_E56N

10

20

30

40

50

. IgG1. 3、P1-068761__E30D. IgG1. 3、P1-068761__E30D__E55A. IgG1. 3、P1-068761__E56N__H100G. IgG1. 3、P1-068761__E30D__H100G. IgG1. 3、P1-068761__E30D__E56N. IgG1. 3、P1-068761__E100fF. IgG1. 3、P1-068761__E55A__E100fF. IgG1. 3、P1-068761__H100G__E100fF. IgG1. 3、P1-068761__E30D__E100fF. IgG1. 3、P1-068761__E56N__E100fF. IgG1. 3、P1-068761__E32Y. IgG1. 3、P1-068761__E32Y__E55A. IgG1. 3、P1-068761__E32Y__E56N. IgG1. 3、P1-068761__E30D__E32Y. IgG1. 3、P1-068761__E32Y__H100G. IgG1. 3、P1-068761__E32Y__E100fF. IgG1. 3、P1-068767__D52N__D102V. IgG1. 3、P1-068767__D52N. IgG1. 3、P1-068767__D52N__E55A. IgG1. 3、P1-068767__E55A__D102V. IgG1. 3、P1-068767__D102V. IgG1. 3、P1-068767__E55A. IgG1. 3、P1-068767__E30D__D52N. IgG1. 3、P1-068767__E30D__D102V. IgG1. 3、P1-068767__E30D. IgG1. 3、P1-068767__E30D__E55A. IgG1. 3、P1-068767__E100fF__D102V. IgG1. 3、P1-068767__E55A__E100fF. IgG1. 3、P1-068767__D52N__E100fF. IgG1. 3、P1-068767__E100fF. IgG1. 3、P1-068767__E30D__E100fF. IgG1. 3、P1-061029__F100fE__V102D. IgG1. 3、P1-061029__F100fE. IgG1. 3、P1-061029__V102D. IgG1. 3、P1-061029__Y32E. IgG1. 3またはP1-061029__Y32E__F100fE. IgG1. 3を含む重鎖を含み、場合によって、ここで、VHはK16RおよびT84A置換の一方または両方を含む。

【0100】

特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、IgG1. 3重鎖定常領域を含む、本明細書で提供される任意の抗hVISTA Abの重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、本明細書で提供される任意の抗hVISTA Abの軽鎖のアミノ酸配列とを含む。特定の実施態様では、抗hVISTA Abは、IgG1. 3 H C定常領域を含む、P1-061029もしくはP1-061015またはその子孫のVHのアミノ酸配列、例えば：P1-061029. IgG1. 3（配列番号69）、P1-068757. IgG1. 3、P1-068759. IgG1. 3、P1-068761. IgG1. 3、P1-068763. IgG1. 3、P1-068765. IgG1. 3、P1-068767. IgG1. 3、P1-068769. IgG1. 3、P1-068771. IgG1. 3、P1-068773. IgG1. 3、P1-068775. IgG1. 3、P1-069059. IgG1. 3、P1-069061. IgG1. 3、P1-069063. IgG1. 3、P1-069065. IgG1. 3、P1-069067. IgG1. 3、P1-069069. IgG1. 3、P1-069071. IgG1. 3、P1-069073. IgG1. 3、P1-069075. IgG1. 3、P1-069077. IgG1. 3、P1-061015. IgG1. 3、P1-068736. IgG1. 3、P1-068738. IgG1. 3、P1-068740. IgG1. 3、P1-068742. IgG1. 3、P1-068744. IgG1. 3、P1-068766. IgG1. 3、P1-068748. IgG1. 3、P1-068750. IgG1. 3、P1-068752. IgG1. 3、P1-068754. IgG1. 3、P1-068761__E55A. IgG1. 3、P1-068761__H100G. IgG1. 3、P1-068761__E56N. IgG1. 3、P1-068761__E55A__E56N. IgG1. 3、P1-068761__E30D. IgG1. 3、P1-068761__E30D__E55A. IgG1. 3、P1-068761__E56N__H100G. IgG1. 3、P

10

20

30

40

50

1-068761__E30D__H100G. IgG1. 3、P1-068761__E30D__E56N. IgG1. 3、P1-068761__E100fF. IgG1. 3、P1-068761__E55A__E100fF. IgG1. 3、P1-068761__H100G__E100fF. IgG1. 3、P1-068761__E30D__E100fF. IgG1. 3、P1-068761__E56N__E100fF. IgG1. 3、P1-068761__E32Y. IgG1. 3、P1-068761__E32Y__E55A. IgG1. 3、P1-068761__E32Y__E56N. IgG1. 3、P1-068761__E30D__E32Y. IgG1. 3、P1-068761__E32Y__H100G. IgG1. 3、P1-068761__E32Y__E100fF. IgG1. 3、P1-068767__D52N__D102V. IgG1. 3、P1-068767__D52N. IgG1. 3、P1-068767__D52N__E55A. IgG1. 3、P1-068767__E55A__D102V. IgG1. 3、P1-068767__D102V. IgG1. 3、P1-068767__E55A. IgG1. 3、P1-068767__E30D__D52N. IgG1. 3、P1-068767__E30D__D102V. IgG1. 3、P1-068767__E30D. IgG1. 3、P1-068767__E30D__E55A. IgG1. 3、P1-068767__E100fF__D102V. IgG1. 3、P1-068767__E55A__E100fF. IgG1. 3、P1-068767__D52N__E100fF. IgG1. 3、P1-068767__E100fF. IgG1. 3、P1-068767__E30D__E100fF. IgG1. 3、P1-061029__F100fE__V102D. IgG1. 3、P1-061029__F100fE. IgG1. 3、P1-061029__V102D. IgG1. 3、P1-061029__Y32E. IgG1. 3またはP1-061029__Y32E__F100fE. IgG1. 3を含む重鎖を含み、場合によって、ここで、VHはK16RおよびT84A置換の一方または両方を含み、かつ、抗hVISTA Abは、P1-061029またはP1-061015の軽鎖のアミノ酸配列を含む軽鎖も含む。

【0101】

抗hVISTA Abは、以下を含み得る。

- (a) P1-061029. IgG1. 3 (配列番号69) の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029 (配列番号70) の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；
- (b) P1-061015. IgG1. 3 の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061015の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；
- (c) P1-068757. IgG1. 3 の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068757の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；
- (d) P1-068759. IgG1. 3 の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068759の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；
- (e) P1-068761. IgG1. 3 の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；
- (f) P1-068763. IgG1. 3 の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068763の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；
- (g) P1-068765. IgG1. 3 の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068765の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；
- (h) P1-068767. IgG1. 3 の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；
- (i) P1-068769. IgG1. 3 の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068769の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；
- (j) P1-068771. IgG1. 3 の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068771の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；
- (k) P1-068773. IgG1. 3 の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068773の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；
- (l) P1-068775. IgG1. 3 の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-

10

20

30

40

50

068775の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(m) P1-069059. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-069059の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(n) P1-069061. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-069061の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(o) P1-069063. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-069063の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(p) P1-069065. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-069065の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(q) P1-069067. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-069067の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

10

(r) P1-069069. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-069069の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(s) P1-069071. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-069071の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(t) P1-069073. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-069073の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(u) P1-069075. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-069075の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(v) P1-069077. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-069077の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

20

(w) P1-068736. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068736の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(x) P1-068738. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068738の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(y) P1-068740. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068740の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(z) P1-068742. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068742の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(aa) P1-068744. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068744の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

30

(bb) P1-068746. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068746の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(cc) P1-068748. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068748の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(dd) P1-068750. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068750の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(ee) P1-068752. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068752の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(ff) P1-068754. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068754の軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

40

(gg) P1-068761__E55A. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E55Aの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(hh) P1-068761__H100G. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__H100Gの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(ii) P1-068761__E56N. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E56Nの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(jj) P1-068761__E55A__E56N. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E55A__E56Nの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

50

(k k) P1-068761__E30D. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30Dの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(l l) P1-068761__E30D__E55A. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E55Aの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(m m) P1-068761__E56N__H100G. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E56N__H100Gの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(n n) P1-068761__E30D__H100G. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__H100Gの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

10

(o o) P1-068761__E30D__E56N. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E56Nの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(p p) P1-068761__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E100fFの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(q q) P1-068761__E55A__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E55A__E100fFの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(r r) P1-068761__H100G__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__H100G__E100fFの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

20

(s s) P1-068761__E30D__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E100fFの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(t t) P1-068761__E56N__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E56N__E100fFの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(u u) P1-068761__E32Y. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Yの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

30

(v v) P1-068761__E32Y__E55A. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__E55Aの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(w w) P1-068761__E32Y__E56N. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__E56Nの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(x x) P1-068761__E30D__E32Y. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E32Yの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(y y) P1-068761__E32Y__H100G. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__H100Gの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

40

(z z) P1-068761__E32Y__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__E100fFの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(a a a) P1-068767__D52N__D102V. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__D102Vの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(b b b) P1-068767__D52N. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52Nの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

50

(c c c) P1-068767__D52N__E55A. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__E55Aの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(d d d) P1-068767__E55A__D102V. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E55A__D102Vの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(e e e) P1-068767__D102V. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D102Vの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(f f f) P1-068767__E55A. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E55Aの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(g g g) P1-068767__E30D__D52N. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__D52Nの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(h h h) P1-068767__E30D__D102V. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__D102Vの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(i i i) P1-068767__E30D. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30Dの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(j j j) P1-068767__E30D__E55A. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__E55Aの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(k k k) P1-068767__E100fF__D102V. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E100fF__D102Vの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(l l l) P1-068767__E55A__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E55A__E100fFの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(m m m) P1-068767__D52N__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__E100fFの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(n n n) P1-068767__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E100fFの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(o o o) P1-068767__E30D__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__E100fFの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

【0102】

(p p p) P1-061029__F100fE__V102D. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__F100fE__V102Dの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(q q q) P1-061029__F100fE. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__F100fEの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(r r r) P1-061029__V102D. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__V102Dの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(s s s) P1-061029__Y32E. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__Y32Eの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

(t t t) P1-061029__Y32E__F100fE. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__Y32E__F100fEの軽鎖アミノ酸配列とを含む軽鎖；

場合によって、ここで、(a)から(t t t)のいずれかのVHは、K16RおよびT84A置換の一方または両方を含む。

10

20

30

40

50

【0103】

抗hVISTA Abは、以下を含み得る。

(a) P1-061029のHCのHC CDRを含む重鎖(HC)と、P1-061029のLC CDRを含む軽鎖(LC)と、P1-061029・IgG1.3のHCおよびLCとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(b) P1-061015のHCのHC CDRを含むHCと、P1-061015のLC CDRを含むLCと、P1-061015・IgG1.3のHCおよびLCとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(c) P1-068757のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068757のLC CDRを含むLCと、P1-068757・IgG1.3のHCおよびLCとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(d) P1-068759のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068759のLC CDRを含むLCと、P1-068759・IgG1.3のHCおよびLCとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(e) P1-068761のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761のLC CDRを含むLCと、P1-068761・IgG1.3のHCおよびLCとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(f) P1-068763のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068763のLC CDRを含むLCと、P1-068763・IgG1.3のHCおよびLCとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(g) P1-068765のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068765のLC CDRを含むLCと、P1-068765・IgG1.3のHCおよびLCとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(h) P1-068767のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767のLC CDRを含むLCと、P1-068767・IgG1.3のHCおよびLCとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(i) P1-068769のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068769のLC CDRを含むLCと、P1-068769・IgG1.3のHCおよびLCとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(j) P1-068771のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068771のLC CDRを含むLCと、P1-068771・IgG1.3のHCおよびLCとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくと

10

20

30

40

50

(t) P1-069073のHCのHC CDRを含むHCと、P1-069073のLC CDRを含むLCと、P1-069073. IgG1.3のHCおよびLCとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくと

50

(d d) P 1 - 0 6 8 7 5 0 の H C の H C C D R を 含 む H C と、 P 1 - 0 6 8 7 5 0 の L C C D R を 含 む L C と、 P 1 - 0 6 8 7 5 0 . I g G 1 . 3 の H C お よ び L C と それ ぞ れ 少 な く と も 9 0 %、少 な く と も 9 1 %、少 な く と も 9 2 %、少 な く と も 9 3 %、少 な く

50

とも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(e e) P1-068752のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068752のLC CDRを含むLCと、P1-068752. IgG1. 3のHCおよびLCとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(f f) P1-068754のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068754のLC CDRを含むLCと、P1-068754. IgG1. 3のHCおよびLCとそれぞれ少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(g g) P1-068761__E55A. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E55AのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E55A. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(h h) P1-068761__H100G. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__H100GのLC CDRを含むLCと、P1-068761__H100G. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(i i) P1-068761__E56N. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E56NのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E56N. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(j j) P1-068761__E55A__E56N. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E55A__E56NのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E55A__E56N. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(k k) P1-068761__E30D. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E30DのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E30D. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(l l) P1-068761__E30D__E55A. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E30D__E55AのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E30D__E55A. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(m m) P1-068761__E56N__H100G. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E56N__H100GのLC CDRを含むLCと

10

20

30

40

50

、P1-068761__E56N__H100G。IgG1.3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(nn) P1-068761__E30D__H100G。IgG1.3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E30D__H100GのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E30D__H100G。IgG1.3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

10

(oo) P1-068761__E30D__E56N。IgG1.3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E30D__E56NのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E30D__E56N。IgG1.3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(pp) P1-068761__E100fF。IgG1.3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E100fFのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E100fF。IgG1.3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

20

(qq) P1-068761__E55A__E100fF。IgG1.3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E55A__E100fFのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E55A__E100fF。IgG1.3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(rr) P1-068761__H100G__E100fF。IgG1.3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__H100G__E100fFのLC CDRを含むLCと、P1-068761__H100G__E100fF。IgG1.3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

30

(ss) P1-068761__E30D__E100fF。IgG1.3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E30D__E100fFのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E30D__E100fF。IgG1.3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

40

(tt) P1-068761__E56N__E100fF。IgG1.3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E56N__E100fFのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E56N__E100fF。IgG1.3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(uu) P1-068761__E32Y。IgG1.3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E32YのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E32Y。IgG1.3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96

50

%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(vv) P1-068761__E32Y__E55A. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E32Y__E55AのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E32Y__E55A. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(ww) P1-068761__E32Y__E56N. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E32Y__E56NのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E32Y__E56N. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(xx) P1-068761__E30D__E32Y. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E30D__E32YのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E30D__E32Y. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(yy) P1-068761__E32Y__H100G. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E32Y__H100GのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E32Y__H100G. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(zz) P1-068761__E32Y__E100fF. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068761__E32Y__E100fFのLC CDRを含むLCと、P1-068761__E32Y__E100fF. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(aaa) P1-068767__D52N__D102V. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767__D52N__D102VのLC CDRを含むLCと、P1-068767__D52N__D102V. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(bbb) P1-068767__D52N. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767__D52NのLC CDRを含むLCと、P1-068767__D52N. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(ccc) P1-068767__D52N__E55A. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767__D52N__E55AのLC CDRを含むLCと、P1-068767__D52N__E55A. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

10

20

30

40

50

(d d d) P1-068767__E55A__D102V. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767__E55A__D102VのLC CDRを含むLCと、P1-068767__E55A__D102V. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(e e e) P1-068767__D102V. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767__D102VのLC CDRを含むLCと、P1-068767__D102V. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

10

(f f f) P1-068767__E55A. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767__E55AのLC CDRを含むLCと、P1-068767__E55A. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(g g g) P1-068767__E30D__D52N. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767__E30D__D52NのLC CDRを含むLCと、P1-068767__E30D__D52N. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

20

(h h h) P1-068767__E30D__D102V. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767__E30D__D102VのLC CDRを含むLCと、P1-068767__E30D__D102V. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

30

(i i i) P1-068767__E30D. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767__E30DのLC CDRを含むLCと、P1-068767__E30D. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(j j j) P1-068767__E30D__E55A. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767__E30D__E55AのLC CDRを含むLCと、P1-068767__E30D__E55A. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

40

(k k k) P1-068767__E100fF__D102V. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767__E100fF__D102VのLC CDRを含むLCと、P1-068767__E100fF__D102V. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(l l l) P1-068767__E55A__E100fF. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767__E55A__E100fFのLC CDRを含む

50

LCと、P1-068767_E55A_E100fF. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(mmm) P1-068767_D52N_E100fF. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767_D52N_E100fFのLC CDRを含むLCと、P1-068767_D52N_E100fF. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

10

(nnn) P1-068767_E100fF. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767_E100fFのLC CDRを含むLCと、P1-068767_E100fF. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(ooo) P1-068767_E30D_E100fF. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-068767_E30D_E100fFのLC CDRを含むLCと、P1-068767_E30D_E100fF. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

20

(ppp) P1-061029_F100fE_V102D. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-061029_F100fE_V102DのLC CDRを含むLCと、P1-061029_F100fE_V102D. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(qqq) P1-061029_F100fE. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-061029_F100fEのLC CDRを含むLCと、P1-061029_F100fE. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

30

(rrr) P1-061029_V102D. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-061029_V102DのLC CDRを含むLCと、P1-061029_V102D. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

40

(sss) P1-061029_Y32E. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-061029_Y32EのLC CDRを含むLCと、P1-061029_Y32E. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

(ttt) P1-061029_Y32E_F100fE. IgG1. 3のHCのHC CDRを含むHCと、P1-061029_Y32E_F100fEのLC CDRを含むLCと、P1-061029_Y32E_F100fE. IgG1. 3のHCおよびLCと少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なく

50

とも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるHCおよびLCのアミノ酸配列；

【0104】

上記のいくつかの実施態様において、HCおよび／またはLCは、1、2、3、4または5個のアミノ酸置換、例えば1、2、3、4または5個の保存的置換の存在によって、種(a)から(ttt)のそれぞれの配列と異なってもよい。いくつかの実施態様では、例えば、P1-061029またはその子孫の1つのHCは、HCのVH領域にK16RおよびT84A置換の1つまたは両方を含んでいてもよい(P1-061015およびその子孫は、それらの位置にそれぞれRおよびAを既に有している)。

【0105】

いくつかの実施態様では、抗hVISTA Abは、以下を含み得る。

(a) P1-061029. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-061029の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(b) P1-061015. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-061015の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(c) P1-068757. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068757の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(d) P1-068759. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068759の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(e) P1-068761. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(f) P1-068763. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068763の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(g) P1-068765. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068765の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(h) P1-068767. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(i) P1-068769. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068769の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(j) P1-068771. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068771の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(k) P1-068773. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068773の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(l) P1-068775. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068775の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(m) P1-069059. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-069059の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(n) P1-069061. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-069061の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(o) P1-069063. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-069063の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(p) P1-069065. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-069065の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(q) P1-069067. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-069067の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(r) P1-069069. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-069069の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(s) P1-069071. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-069071の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(t) P1-069073. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP

10

20

30

40

50

1-069073の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(u) P1-069075. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-069075の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(v) P1-069077. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-069077の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(w) P1-068736の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068736の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(x) P1-068738. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068738の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(y) P1-068740. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068740の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(z) P1-068742. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068742の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(aa) P1-068744. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068744の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(bb) P1-068746. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068746の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(cc) P1-068748. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068748の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(dd) P1-068750. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068750の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(ee) P1-068752. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068752の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(ff) P1-068754の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068754の軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(gg) P1-068761__E55A. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E55Aの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(hh) P1-068761__H100G. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__H100Gの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(ii) P1-068761__E56N. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E56Nの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(jj) P1-068761__E55A__E56N. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E55A__E56Nの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(kk) P1-068761__E30D. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E30Dの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(ll) P1-068761__E30D__E55A. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E30D__E55Aの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(mm) P1-068761__E56N__H100G. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E56N__H100Gの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(nn) P1-068761__E30D__H100G. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E30D__H100Gの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(oo) P1-068761__E30D__E56N. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E30D__E56Nの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(pp) P1-068761__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E100fFの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

10

20

30

40

50

(q q) P1-068761__E55A__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E55A__E100fFの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(r r) P1-068761__H100G__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__H100G__E100fFの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(s s) P1-068761__E30D__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E30D__E100fFの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(t t) P1-068761__E56N__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E56N__E100fFの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

10

(u u) P1-068761__E32Y. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E32Yの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(v v) P1-068761__E32Y__E55A. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E32Y__E55Aの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(w w) P1-068761__E32Y__E56N. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E32Y__E56Nの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

20

(x x) P1-068761__E30D__E32Y. IgG1. の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E30D__E32Yの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(y y) P1-068761__E32Y__H100G. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E32Y__H100Gの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(z z) P1-068761__E32Y__E100fF. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068761__E32Y__E100fFの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(a a a) P1-068767__D52N__D102V. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__D52N__D102Vの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

30

(b b b) P1-068767__D52N. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__D52Nの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(c c c) P1-068767__D52N__E55A. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__D52N__E55Aの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(d d d) P1-068767__E55A__D102V. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__E55A__D102Vの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

40

(e e e) P1-068767__D102V. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__D102Vの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(f f f) P1-068767__E55A. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__E55Aの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(g g g) P1-068767__E30D__D52N. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__E30D__D52Nの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(h h h) P1-068767__E30D__D102V. IgG1. 3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__E30D__D102Vの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

50

(i i i) P1-068767__E30D. IgG1.3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__E30Dの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(j j j) P1-068767__E30D__E55A. IgG1.3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__E30D__E55Aの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(k k k) P1-068767__E100fF__D102V. IgG1.3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__E100fF__D102Vの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(l l l) P1-068767__E55A__E100fF. IgG1.3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__E55A__E100fFの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

10

(m m m) P1-068767__D52N__E100fF. IgG1.3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__D52N__E100fFの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(n n n) P1-068767__E100fF. IgG1.3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__E100fFの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(o o o) P1-068767__E30D__E100fF. IgG1.3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-068767__E30D__E100fFの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(p p p) P1-061029__F100fE__V102D. IgG1.3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-061029__F100fE__V102Dの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

20

(q q q) P1-061029__F100fE. IgG1.3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-061029__F100fEの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(r r r) P1-061029__V102D. IgG1.3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-061029__V102Dの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(s s s) P1-061029__Y32E. IgG1.3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-061029__Y32Eの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖；

(t t t) P1-061029__Y32E__F100fE. IgG1.3の重鎖のアミノ酸配列からなる重鎖およびP1-061029__Y32E__F100fEの軽鎖のアミノ酸配列からなる軽鎖。

30

場合によって、ここで、(a)から(t t t)のいずれかのVHは、K16RおよびT84A置換の一方または両方を含む。

【0106】

いくつかの実施態様では、本開示は、抗VISTA mAbであって、

上記(a)から(t t t)の重鎖のアミノ酸配列と、それに続くLys残基からなる重鎖；および

上記(a)から(t t t)の軽鎖アミノ酸配列

を含む抗VISTA mAbを企図しており、

ここで、重鎖および軽鎖アミノ酸配列が上記(a)から(t t t)の中の同じ抗体種から選択される。

40

【0107】

いくつかの実施態様では、抗hVISTA Abは、本明細書に記載の抗体種のVHアミノ酸を含む重鎖アミノ酸配列を含むが、本明細書の配列表のHC配列で提供されるようなIgG1.3重鎖定常領域は含まず(配列番号163を参照)；該抗体は例えば、ヒトIgG1アロタイプf(IgG1f)(配列番号182)などのヒト野生型IgG1定常領域、またはIgG1.1f(配列番号183)などの修飾されたヒトIgG1定常領域、またはIgG1.P238K(配列番号(184)などの修飾されたヒトIgG1定常領域といった定常領域などといった異なる重鎖定常領域配列を含んでもよい。したがって、本開示の実施態様には、以下を含む抗VISTA Absが含まれる。

50

- 50

のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068740の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(z) (i) P1-068742のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068742の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(aa) (i) P1-068744のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068744の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(bb) (i) P1-068746のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068746の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(cc) (i) P1-068748のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068748の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(dd) (i) P1-068750のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068750の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ee) (i) P1-068752のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068752の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ff) (i) P1-068754のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068754の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(gg) (i) P1-068761__E55AのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E55Aの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(hh) (i) P1-068761__H100GのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__H100Gの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ii) (i) P1-068761__E56NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E56Nの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(jj) (i) P1-068761__E55A__E56NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E55A__E56Nの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(kk) (i) P1-068761__E30DのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30Dの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ll) (i) P1-068761__E30D__E55AのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E55Aの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(mm) (i) P1-068761__E56N__H100GのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E56N__H100Gの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(nn) (i) P1-068761__E30D__H100GのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__H100Gの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(oo) (i) P1-068761__E30D__E56NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E56Nの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(pp) (i) P1-068761__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(qq) (i) P1-068761__E55A__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E55A__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(rr) (i) P1-068761__H100G__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__H1

10

20

30

40

50

00G__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ss) (i) P1-068761__E30D__E100fのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E100fの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(tt) (i) P1-068761__E56N__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E56N__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(uu) (i) P1-068761__E32YのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Yの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

10

(vv) (i) P1-068761__E32Y__E55AのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__E55Aの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ww) (i) P1-068761__E32Y__E56NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__E56Nの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(xx) (i) P1-068761__E30D__E32YのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E32Yの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(yy) (i) P1-068761__E32Y__H100GのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__H100Gの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

20

(zz) (i) P1-068761__E32Y__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(aaa) (i) P1-068767__D52N__D102VのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__D102Vの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(bbb) (i) P1-068767__D52NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52Nの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

30

(ccc) (i) P1-068767__D52N__E55AのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__E55Aの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ddd) (i) P1-068767__E55A__D102VのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E55A__D102Vの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(eee) (i) P1-068767__D102VのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D102Vの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

40

(fff) (i) P1-068767__E55AのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E55Aの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ggg) (i) P1-068767__E30D__D52NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__D52Nの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(hhh) (i) P1-068767__E30D__D102VのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__D102Vの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(iii) (i) P1-068767__E30DのVHのアミノ酸配列および(ii)

50

配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30Dの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(j j j) (i) P1-068767__E30D__E55AのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__E55Aの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(k k k) (i) P1-068767__E100fF__D102VのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E100fF__D102Vの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(l l l) (i) P1-068767__E55A__E100fFのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E55A__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(m m m) (i) P1-068767__D52N__E100fFのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(n n n) (i) P1-068767__E100fFのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(o o o) (i) P1-068767__E30D__E100fFのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(p p p) (i) P1-061029__F100fE__V102DのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__F100fE__V102Dの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(q q q) (i) P1-061029__F100fEのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__F100fEの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(r r r) (i) P1-061029__V102DのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__V102Dの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(s s s) (i) P1-061029__Y32EのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__Y32Eの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(t t t) (i) P1-061029__Y32E__F100fEのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__Y32E__F100fEの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖。

場合によって、ここで、(a)から(t t t)のいずれかのVHは、K16RおよびT84A置換の一方または両方を含む。

【0108】

いくつかの実施態様において、LCは上記(a)から(t t t)で指定された通りであってよいが、HCは、1、2、3、4または5個のアミノ酸置換、例えば1、2、3、4または5個の保存的置換の存在によって、種(a)から(t t t)のそれぞれの配列と異なってもよい。いくつかの実施態様では、例えば、P1-061029またはその子孫の1つのHCは、HCのVH領域にK16RおよびT84A置換の1つまたは両方を含んでいてもよい(P1-061015およびその子孫は、VH16位にRをVH84位Aを既に有している)。

【0109】

本開示の特定の実施態様には、以下を含む抗VISTA Absが含まれる。

(a) (i) P1-061029のVHのアミノ酸配列(配列番号67)および(i i)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029の軽鎖アミノ酸配列(配列番号70)からなる軽鎖；

50

- (a a) (i) P 1-0 6 8 7 4 4 の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 4 4 の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (b b) (i) P 1-0 6 8 7 4 6 の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 4 6 の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (c c) (i) P 1-0 6 8 7 4 8 の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 4 8 の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (d d) (i) P 1-0 6 8 7 5 0 の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 5 0 の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (e e) (i) P 1-0 6 8 7 5 2 の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 5 2 の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (f f) (i) P 1-0 6 8 7 5 4 の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 5 4 の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (g g) (i) P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 5 5 A の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 5 5 A の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；
- (h h) (i) P 1-0 6 8 7 6 1 _ H 1 0 0 G の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 6 1 _ H 1 0 0 G の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (i i) (i) P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 5 6 N の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 5 6 N の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (j j) (i) P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 5 5 A _ E 5 6 N の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 5 5 A _ E 5 6 N の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (k k) (i) P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 3 0 D の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 3 0 D の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (l l) (i) P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 3 0 D _ E 5 5 A の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 3 0 D _ E 5 5 A の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (m m) (i) P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 5 6 N _ H 1 0 0 G の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 5 6 N _ H 1 0 0 G の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (n n) (i) P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 3 0 D _ H 1 0 0 G の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 3 0 D _ H 1 0 0 G の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (o o) (i) P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 3 0 D _ E 5 6 N の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 3 0 D _ E 5 6 N の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (p p) (i) P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 1 0 0 f F の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 1 0 0 f F の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (q q) (i) P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 5 5 A _ E 1 0 0 f F の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 5 5 A _ E 1 0 0 f F の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (r r) (i) P 1-0 6 8 7 6 1 _ H 1 0 0 G _ E 1 0 0 f F の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 6 1 _ H 1 0 0 G _ E 1 0 0 f F の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；
- (s s) (i) P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 3 0 D _ E 1 0 0 f F の V H の アミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1-0 6 8 7 6 1 _ E 3

10

20

30

40

50

OD__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(tt) (i) P1-068761__E56N__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E56N__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(uu) (i) P1-068761__E32YのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Yの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(vv) (i) P1-068761__E32Y__E55AのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Y__E55Aの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(ww) (i) P1-068761__E32Y__E56NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Y__E56Nの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(xx) (i) P1-068761__E30D__E32YのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E30D__E32Yの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(yy) (i) P1-068761__E32Y__H100GのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Y__H100Gの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(zz) (i) P1-068761__E32Y__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Y__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(aaa) (i) P1-068767__D52N__D102VのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__D102Vの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(bbb) (i) P1-068767__D52NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__D52Nの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(ccc) (i) P1-068767__D52N__E55AのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__D52N__E55Aの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(ddd) (i) P1-068767__E55A__D102VのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E55A__D102Vの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(eee) (i) P1-068767__D102VのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__D102Vの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(fff) (i) P1-068767__E55AのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E55Aの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(ggg) (i) P1-068767__E30D__D52NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30D__D52Nの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(hhh) (i) P1-068767__E30D__D102VのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30D__D102Vの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(iii) (i) P1-068767__E30DのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号182のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30Dの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(jjj) (i) P1-068767__E30D__E55AのVHのアミノ酸配列およ

10

20

30

40

50

び (i i) 配列番号 182 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30D__E55A の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(k k k) (i) P1-068767__E100fF__D102V の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 182 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E100fF__D102V の軽鎖アミノ酸配列からなる鎖；

(l l l) (i) P1-068767__E55A__E100fF の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 182 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E55A__E100fF の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(m m m) (i) P1-068767__D52N__E100fF の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 182 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__D52N__E100fF の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(n n n) (i) P1-068767__E100fF の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 182 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E100fF の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(o o o) (i) P1-068767__E30D__E100fF の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 182 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30D__E100fF の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(p p p) (i) P1-061029__F100fE__V102D の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 182 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029__F100fE__V102D の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(q q q) (i) P1-061029__F100fE の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 182 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029__F100fE の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(r r r) (i) P1-061029__V102D の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 182 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029__V102D の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(s s s) (i) P1-061029__Y32E の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 182 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029__Y32E の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(t t t) (i) P1-061029__Y32E__F100fE の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 182 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029__Y32E__F100fE の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖。

ここで、VH の C 末端アミノ酸および配列番号 182 の N 末端アミノ酸は、ペプチド結合を形成し；

場合によって、(a) から (t t t) のいずれかの VH は、K16R および T84A 置換の一方または両方を含む。

【0110】

いくつかの実施態様では、本開示は、

(i) 上記 (a) から (t t t) の VH、(i i) 配列番号 182 および (i i i) リジン残基のアミノ酸配列からなる重鎖であって、VH の C 末端アミノ酸と配列番号 182 の N 末端アミノ酸がペプチド結合を形成し、かつ、配列番号 182 の C 末端アミノ酸がリジンの N 末端に結合している、重鎖と；

上記 (a) から (t t t) の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖

とを含む抗 VISTA mAb を企図しており、

ここで、VH および軽鎖アミノ酸配列が、上記 (a) から (t t t) の中の同じ抗体種から選択される。

【0111】

本開示の特定の実施態様には、以下を含む抗 VISTA Abs が含まれる。

(a) (i) P1-061029 の VH のアミノ酸配列 (配列番号 67) および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029 の軽鎖アミノ酸配列

[illegible]

20

30

40

50

のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068742の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(a a) (i) P1-068744のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068744の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(b b) (i) P1-068746のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068746の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(c c) (i) P1-068748のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068748の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(d d) (i) P1-068750のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068750の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(e e) (i) P1-068752のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068752の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(f f) (i) P1-068754のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068754の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(g g) (i) P1-068761__E55AのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E55Aの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(h h) (i) P1-068761__H100GのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__H100Gの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(i i) (i) P1-068761__E56NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E56Nの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(j j) (i) P1-068761__E55A__E56NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E55A__E56Nの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(k k) (i) P1-068761__E30DのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30Dの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(l l) (i) P1-068761__E30D__E55AのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E55Aの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(m m) (i) P1-068761__E56N__H100GのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E56N__H100Gの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(n n) (i) P1-068761__E30D__H100GのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__H100Gの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(o o) (i) P1-068761__E30D__E56NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E56Nの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(p p) (i) P1-068761__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(q q) (i) P1-068761__E55A__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E55A__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(r r) (i) P1-068761__H100G__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__H100G__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(s s) (i) P1-068761__E30D__E100fのVHのアミノ酸配列およ

10

20

30

40

50

び (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E100f の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(t t) (i) P1-068761__E56N__E100fF の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E56N__E100fF の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(u u) (i) P1-068761__E32Y の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(v v) (i) P1-068761__E32Y__E55A の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__E55A の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(w w) (i) P1-068761__E32Y__E56N の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__E56N の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(x x) (i) P1-068761__E30D__E32Y の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E32Y の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(y y) (i) P1-068761__E32Y__H100G の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__H100G の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(z z) (i) P1-068761__E32Y__E100fF の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__E100fF の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(a a a) (i) P1-068767__D52N__D102V の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__D102V の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(b b b) (i) P1-068767__D52N の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(c c c) (i) P1-068767__D52N__E55A の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__E55A の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(d d d) (i) P1-068767__E55A__D102V の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E55A__D102V の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(e e e) (i) P1-068767__D102V の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D102V の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(f f f) (i) P1-068767__E55A の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E55A の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(g g g) (i) P1-068767__E30D__D52N の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__D52N の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(h h h) (i) P1-068767__E30D__D102V の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__D102V の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(i i i) (i) P1-068767__E30D の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 183 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

10

20

30

40

50

(j j j) (i) P1-068767__E30D__E55AのVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__E55Aの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(k k k) (i) P1-068767__E100fF__D102VのVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E100fF__D102Vの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(l l l) (i) P1-068767__E55A__E100fFのVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E55A__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(m m m) (i) P1-068767__D52N__E100fFのVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(n n n) (i) P1-068767__E100fFのVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(o o o) (i) P1-068767__E30D__E100fFのVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(p p p) (i) P1-061029__F100fE__V102DのVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__F100fE__V102Dの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(q q q) (i) P1-061029__F100fEのVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__F100fEの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(r r r) (i) P1-061029__V102DのVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__V102Dの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(s s s) (i) P1-061029__Y32EのVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__Y32Eの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(t t t) (i) P1-061029__Y32E__F100fEのVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029__Y32E__F100fEの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖。

場合によって、ここで、(a) から (t t t) のいずれかのVHは、K16RおよびT84A置換の一方または両方を含む。

【0112】

本開示の特定の実施態様には、以下を含む抗VISTA Absが含まれる。

(a) (i) P1-061029のVHのアミノ酸配列（配列番号67）および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029の軽鎖アミノ酸配列（配列番号70）からなる軽鎖；

(b) (i) P1-061015のVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061015の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(c) (i) P1-068757のVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068757の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(d) (i) P1-068759のVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068759の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(e) (i) P1-068761のVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(f) (i) P1-068763のVHのアミノ酸配列および (i i) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068763の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

50

(f f) (i) P1-068754のVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068754の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(g g) (i) P1-068761__E55AのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E55Aの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(h h) (i) P1-068761__H100GのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__H100Gの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(i i) (i) P1-068761__E56NのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E56Nの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

10

(j j) (i) P1-068761__E55A__E56NのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E55A__E56Nの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(k k) (i) P1-068761__E30DのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E30Dの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(l l) (i) P1-068761__E30D__E55AのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E30D__E55Aの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

20

(m m) (i) P1-068761__E56N__H100GのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E56N__H100Gの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(n n) (i) P1-068761__E30D__H100GのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E30D__H100Gの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(o o) (i) P1-068761__E30D__E56NのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E30D__E56Nの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(p p) (i) P1-068761__E100fFのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

30

(q q) (i) P1-068761__E55A__E100fFのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E55A__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(r r) (i) P1-068761__H100G__E100fFのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__H100G__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(s s) (i) P1-068761__E30D__E100fFのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E30D__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

40

(t t) (i) P1-068761__E56N__E100fFのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E56N__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(u u) (i) P1-068761__E32YのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Yの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(v v) (i) P1-068761__E32Y__E55AのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Y__E55Aの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

50

(ww) (i) P1-068761__E32Y__E56NのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Y__E56Nの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(xx) (i) P1-068761__E30D__E32YのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E30D__E32Yの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(yy) (i) P1-068761__E32Y__H100GのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Y__H100Gの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(zz) (i) P1-068761__E32Y__E100fFのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Y__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

10

(aaa) (i) P1-068767__D52N__D102VのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__D102Vの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(bbb) (i) P1-068767__D52NのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__D52Nの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(ccc) (i) P1-068767__D52N__E55AのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__D52N__E55Aの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

20

(ddd) (i) P1-068767__E55A__D102VのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E55A__D102Vの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(eee) (i) P1-068767__D102VのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__D102Vの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(fff) (i) P1-068767__E55AのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E55Aの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

30

(ggg) (i) P1-068767__E30D__D52NのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30D__D52Nの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(hhh) (i) P1-068767__E30D__D102VのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30D__D102Vの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(iii) (i) P1-068767__E30DのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30Dの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(jjj) (i) P1-068767__E30D__E55AのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30D__E55Aの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

40

(kkk) (i) P1-068767__E100fF__D102VのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E100fF__D102Vの軽鎖アミノ酸配列からなる鎖；

(lll) (i) P1-068767__E55A__E100fFのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E55A__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(mmm) (i) P1-068767__D52N__E100fFのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__D

50

52N__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(nnn) (i) P1-068767__E100fFのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(ooo) (i) P1-068767__E30D__E100fFのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30D__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(ppp) (i) P1-061029__F100fE__V102DのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029__F100fE__V102Dの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(qqq) (i) P1-061029__F100fEのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029__F100fEの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(rrr) (i) P1-061029__V102DのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029__V102Dの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(sss) (i) P1-061029__Y32EのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029__Y32Eの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(ttt) (i) P1-061029__Y32E__F100fEのVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号183のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029__Y32E__F100fEの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖。

【0113】

ここで、VHのC末端アミノ酸および配列番号183のN末端アミノ酸は、ペプチド結合を形成し；

場合によって、(a) から (ttt) のいずれかのVHは、K16RおよびT84A置換の一方または両方を含む。

【0114】

いくつかの実施態様では、本開示は、

(i) 上記 (a) から (ttt) のVH、(ii) 配列番号183および (iii) リジン残基のアミノ酸配列からなる重鎖であって、VHのC末端アミノ酸と配列番号183のN末端アミノ酸がペプチド結合を形成し、かつ、配列番号183のC末端アミノ酸がリジンのN末端に結合している、重鎖と；

上記 (a) から (ttt) の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖

とを含む抗VISTA mAbを企図しており、

ここで、VHおよび軽鎖アミノ酸配列が、上記 (a) から (ttt) の中の同じ抗体種から選択される。

【0115】

本開示のさらなる実施態様には、以下を含む抗VISTA Abが含まれる。

(a) (i) P1-061029のVHのアミノ酸配列 (配列番号67) および (ii) 配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029の軽鎖アミノ酸配列 (配列番号70) を含む軽鎖；

(b) (i) P1-061015のVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061015の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(c) (i) P1-068757のVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068757の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(d) (i) P1-068759のVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068759の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(e) (i) P1-068761のVHのアミノ酸配列および (ii) 配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

10

20

30

40

50

(e e) (i) P1-068752のVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068752の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(f f) (i) P1-068754のVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068754の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(g g) (i) P1-068761__E55AのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E55Aの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(h h) (i) P1-068761__H100GのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__H100Gの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(i i) (i) P1-068761__E56NのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E56Nの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(j j) (i) P1-068761__E55A__E56NのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E55A__E56Nの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(k k) (i) P1-068761__E30DのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30Dの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(l l) (i) P1-068761__E30D__E55AのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E55Aの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(m m) (i) P1-068761__E56N__H100GのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E56N__H100Gの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(n n) (i) P1-068761__E30D__H100GのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__H100Gの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(o o) (i) P1-068761__E30D__E56NのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E56Nの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(p p) (i) P1-068761__E100fFのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(q q) (i) P1-068761__E55A__E100fFのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E55A__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(r r) (i) P1-068761__H100G__E100fFのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__H100G__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(s s) (i) P1-068761__E30D__E100fのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E100fの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(t t) (i) P1-068761__E56N__E100fFのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E56N__E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(u u) (i) P1-068761__E32YのVHのアミノ酸配列および(i i)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Yの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(v v) (i) P1-068761__E32Y__E55AのVHのアミノ酸配列および

10

20

30

40

50

(i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__E55A の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ww) (i) P1-068761__E32Y__E56N の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__E56N の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(xx) (i) P1-068761__E30D__E32Y の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E30D__E32Y の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(yy) (i) P1-068761__E32Y__H100G の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__H100G の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(zz) (i) P1-068761__E32Y__E100fF の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068761__E32Y__E100fF の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(aaa) (i) P1-068767__D52N__D102V の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__D102V の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(bbb) (i) P1-068767__D52N の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ccc) (i) P1-068767__D52N__E55A の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__E55A の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ddd) (i) P1-068767__E55A__D102V の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E55A__D102V の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(eee) (i) P1-068767__D102V の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D102V の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(fff) (i) P1-068767__E55A の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E55A の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ggg) (i) P1-068767__E30D__D52N の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__D52N の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(hhh) (i) P1-068767__E30D__D102V の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__D102V の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(iii) (i) P1-068767__E30D の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(jjj) (i) P1-068767__E30D__E55A の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E30D__E55A の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(kkk) (i) P1-068767__E100fF__D102V の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E100fF__D102V の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(lll) (i) P1-068767__E55A__E100fF の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__E55A__E100fF の軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

10

20

30

40

50

(mmm) (i) P1-068767_D52N_E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767_D52N_E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(nnn) (i) P1-068767_E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767_E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ooo) (i) P1-068767_E30D_E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767_E30D_E100fFの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ppp) (i) P1-061029_F100fE_V102DのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029_F100fE_V102Dの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(qqq) (i) P1-061029_F100fEのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029_F100fEの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(rrr) (i) P1-061029_V102DのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029_V102Dの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(sss) (i) P1-061029_Y32EのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029_Y32Eの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(ttt) (i) P1-061029_Y32E_F100fEのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-061029_Y32E_F100fEの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖。

ここで、場合によって、(a)から(ttt)のいずれかのVHは、K16RおよびT84A置換の一方または両方を含む。

【0116】

本開示のなおさらなる実施態様には、以下を含む抗VISTAAbが含まれる。

(a) (i) P1-061029のVHのアミノ酸配列(配列番号67)および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029の軽鎖アミノ酸配列(配列番号70)からなる軽鎖；

(b) (i) P1-061015のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061015の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(c) (i) P1-068757のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068757の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(d) (i) P1-068759のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068759の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(e) (i) P1-068761のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(f) (i) P1-068763のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068763の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(g) (i) P1-068765のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068765の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(h) (i) P1-068767のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(i) (i) P1-068769のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068769の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(j) (i) P1-068771のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068771の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(k) (i) P1-068773のVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184

10

20

30

40

50

アミノ酸配列からなる軽鎖；
(i i) (i) P1-068761__E56NのVHのアミノ酸配列および(i i)配

50

列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E56N の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(j j) (i) P1-068761__E55A__E56N の VH のアミノ酸配列および

(i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E55A__E56N の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(k k) (i) P1-068761__E30D の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E30D の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(l l) (i) P1-068761__E30D__E55A の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E30D__E55A の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

10

(m m) (i) P1-068761__E56N__H100G の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E56N__H100G の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(n n) (i) P1-068761__E30D__H100G の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E30D__H100G の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(o o) (i) P1-068761__E30D__E56N の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E30D__E56N の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

20

(p p) (i) P1-068761__E100fF の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E100fF の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(q q) (i) P1-068761__E55A__E100fF の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E55A__E100fF の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(r r) (i) P1-068761__H100G__E100fF の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__H100G__E100fF の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(s s) (i) P1-068761__E30D__E100fF の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E30D__E100fF の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

30

(t t) (i) P1-068761__E56N__E100fF の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E56N__E100fF の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(u u) (i) P1-068761__E32Y の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Y の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(v v) (i) P1-068761__E32Y__E55A の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Y__E55A の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

40

(w w) (i) P1-068761__E32Y__E56N の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Y__E56N の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(x x) (i) P1-068761__E30D__E32Y の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E30D__E32Y の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(y y) (i) P1-068761__E32Y__H100G の VH のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 184 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Y__H100G の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

50

(z z) (i) P1-068761__E32Y__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068761__E32Y__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(a a a) (i) P1-068767__D52N__D102VのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列を含む重鎖と、P1-068767__D52N__D102Vの軽鎖アミノ酸配列を含む軽鎖；

(b b b) (i) P1-068767__D52NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__D52Nの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(c c c) (i) P1-068767__D52N__E55AのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__D52N__E55Aの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

10

(d d d) (i) P1-068767__E55A__D102VのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E55A__D102Vの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(e e e) (i) P1-068767__D102VのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__D102Vの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(f f f) (i) P1-068767__E55AのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E55Aの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

20

(g g g) (i) P1-068767__E30D__D52NのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30D__D52Nの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(h h h) (i) P1-068767__E30D__D102VのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30D__D102Vの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(i i i) (i) P1-068767__E30DのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30Dの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

30

(j j j) (i) P1-068767__E30D__E55AのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30D__E55Aの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(k k k) (i) P1-068767__E100fF__D102VのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E100fF__D102Vの軽鎖アミノ酸配列からなる鎖；

(l l l) (i) P1-068767__E55A__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E55A__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(m m m) (i) P1-068767__D52N__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__D52N__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

40

(n n n) (i) P1-068767__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(o o o) (i) P1-068767__E30D__E100fFのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-068767__E30D__E100fFの軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(p p p) (i) P1-061029__F100fE__V102DのVHのアミノ酸配列および(ii)配列番号184のアミノ酸配列からなる重鎖と、P1-061029__

50

F 1 0 0 f E __ V 1 0 2 D の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(q q q) (i) P 1 - 0 6 1 0 2 9 __ F 1 0 0 f E の V H のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 4 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1 - 0 6 1 0 2 9 __ F 1 0 0 f E の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(r r r) (i) P 1 - 0 6 1 0 2 9 __ V 1 0 2 D の V H のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 4 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1 - 0 6 1 0 2 9 __ V 1 0 2 D の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(s s s) (i) P 1 - 0 6 1 0 2 9 __ Y 3 2 E の V H のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 4 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1 - 0 6 1 0 2 9 __ Y 3 2 E の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖；

(t t t) (i) P 1 - 0 6 1 0 2 9 __ Y 3 2 E __ F 1 0 0 f E の V H のアミノ酸配列および (i i) 配列番号 1 8 4 のアミノ酸配列からなる重鎖と、P 1 - 0 6 1 0 2 9 __ Y 3 2 E __ F 1 0 0 f E の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖。

【 0 1 1 7 】

ここで、V H の C 末端アミノ酸と配列番号 1 8 4 の N 末端アミノ酸はペプチド結合を形成し；

場合によって、(a) から (t t t) のいずれかの V H は、K 1 6 R および T 8 4 A 置換の一方または両方を含む。

【 0 1 1 8 】

いくつかの実施態様では、本開示は、

(i) 上記 (a) から (t t t) の V H 、(i i) 配列番号 1 8 4 および (i i i) リジン残基のアミノ酸配列からなる重鎖であって、V H の C 末端アミノ酸と配列番号 1 8 4 の N 末端アミノ酸がペプチド結合を形成し、かつ、配列番号 1 8 4 の C 末端アミノ酸がリジンの N 末端に結合している、重鎖と；

上記 (a) から (t t t) の軽鎖アミノ酸配列からなる軽鎖とを含む抗 V I S T A m A b を企図しており、

ここで、V H および軽鎖アミノ酸配列が、上記 (a) から (t t t) の中の同じ抗体種から選択される。

【 0 1 1 9 】

いくつかの実施態様では、抗 h V I S T A A b は、P 1 - 0 6 1 0 2 9 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 1 % 、少なくとも 9 2 % 、少なくとも 9 3 % 、少なくとも 9 4 % 、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 % 、または少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸 V H 配列を含んでもよく、ここで、該抗体は、少なくとも 1 つの残基が D 、 E または H で置換されている P 1 - 0 6 1 0 2 9 の V H C D R 1 、C D R 2 および／または C D R 3 を含む。いくつかの実施態様では、P 1 - 0 6 1 0 2 9 の V H C D R 1 、C D R 2 および／または C D R 3 のそれぞれは、D 、 E または H で置換されている 1 、2 または 3 個の残基を含有する。いくつかの実施態様では、抗 h V I S T A A b は、P 1 - 0 6 1 0 2 9 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 1 % 、少なくとも 9 2 % 、少なくとも 9 3 % 、少なくとも 9 4 % 、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 % 、または少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸 V H 配列を含んでもよく、ここで、該抗体は、C D R 1 のアミノ酸 4 、5 または 7 位に 1 つまたは 2 つの D または E 残基を含む V H C D R 1 を含み、かつ／あるいは C D R 2 の 3 、5 、6 または 7 位に 1 、2 または 3 個の D 、E または H 残基を有する V H C D R 2 を含み、かつ／あるいは C D R 3 の 6 、1 2 または 1 4 位に 1 、2 または 3 個の D 、E または H 残基を有する V H C D R 3 を含む。(これらの実施態様に該当する O S 抗体の例については、以下の表 5 を参照のこと。)このような場合、軽鎖可変領域は、P 1 - 0 6 1 0 2 9 もしくは P 1 - 0 6 1 0 1 5 またはその子孫、例えば P 1 - 0 6 1 0 2 9 、P 1 - 0 6 8 7 5 7 、P 1 - 0 6 8 7 5 9 、P 1 - 0 6 8 7 6 1 、P 1 - 0 6 8 7 6 3 、P 1 - 0 6 8 7 6 5 、P 1 - 0 6 8 7 6 7 、P 1 - 0 6 8 7 6 9 、P 1 - 0 6 8 7 7 1 、P 1 - 0 6 8 7 7 3 、P 1 - 0 6 8 7 7 5 、P 1 - 0 6 9 0 5 9 、P 1 - 0 6

10

20

30

40

50

9061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761__E55A、P1-068761__H100G、P1-068761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEのCDR1、CDR2および／またはCDR3を含み、かつ／あるいは該軽鎖可変領域はP1-061029もしくはP1-061015またはその子孫、例えばP1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761__E55A、P1-068761__H100G、P1-068761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-0

10

20

30

40

50

6 8 7 6 7 __ E 1 0 0 f F、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ E 3 0 D __ E 1 0 0 f F、P 1 - 0 6 1 0 2 9 __ F 1 0 0 f E __ V 1 0 2 D、P 1 - 0 6 1 0 2 9 __ F 1 0 0 f E、P 1 - 0 6 1 0 2 9 __ V 1 0 2 D、P 1 - 0 6 1 0 2 9 __ Y 3 2 E または P 1 - 0 6 1 0 2 9 __ Y 3 2 E __ F 1 0 0 f E の軽鎖可変領域と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、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 %、または少なくとも 9 9 % 同一であり得る。

【0120】

いくつかの実施態様では、抗 h V I S T A A b は、P 1 - 0 6 1 0 1 5 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、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 %、または少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸 V H 配列を含んでもよく、ここで、該抗体は、少なくとも 1 つの残基が D、E または H で置換されている P 1 - 0 6 1 0 1 5 の V H C D R 1、C D R 2 および / または C D R 3 を含む。いくつかの実施態様では、P 1 - 0 6 1 0 1 5 の V H C D R 1、C D R 2 および / または C D R 3 のそれぞれは、D、E または H で置換されている 1、2 または 3 個の残基を含有する。いくつかの実施態様では、抗 h V I S T A A b は、P 1 - 0 6 1 0 1 5 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、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 %、または少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸 V H 配列を含んでもよく、ここで、該抗体は、C D R 1 のアミノ酸 6、7、8 および 9 位に 1 つまたは 2 つの D、E または E 残基を含む V H C D R 1 を含み、かつ / あるいは C D R 2 の 1、2、4 または 8 - 1 1 位に 1、2 または 3 個の D、E または H 残基を有する V H C D R 2 を含み、かつ / あるいは C D R 3 の 2、3、6、7 または 1 2 位に 1、2 または 3 個の D、E または H 残基を有する V H C D R 3 を含む。(これらの実施態様に該当する O S 抗体の例については、以下の表 6 を参照のこと。) このような場合、軽鎖可変領域は、P 1 - 0 6 1 0 2 9 もしくは P 1 - 0 6 1 0 1 5 またはその子孫、例えば P 1 - 0 6 1 0 2 9、P 1 - 0 6 8 7 5 7、P 1 - 0 6 8 7 5 9、P 1 - 0 6 8 7 6 1、P 1 - 0 6 8 7 6 3、P 1 - 0 6 8 7 6 5、P 1 - 0 6 8 7 6 7、P 1 - 0 6 8 7 6 9、P 1 - 0 6 8 7 7 1、P 1 - 0 6 8 7 7 3、P 1 - 0 6 8 7 7 5、P 1 - 0 6 9 0 5 9、P 1 - 0 6 9 0 6 1、P 1 - 0 6 9 0 6 3、P 1 - 0 6 9 0 6 5、P 1 - 0 6 9 0 6 7、P 1 - 0 6 9 0 6 9、P 1 - 0 6 9 0 7 1、P 1 - 0 6 9 0 7 3、P 1 - 0 6 9 0 7 5、P 1 - 0 6 9 0 7 7、P 1 - 0 6 1 0 1 5、P 1 - 0 6 8 7 3 6、P 1 - 0 6 8 7 3 8、P 1 - 0 6 8 7 4 0、P 1 - 0 6 8 7 4 2、P 1 - 0 6 8 7 4 4、P 1 - 0 6 8 7 6 6、P 1 - 0 6 8 7 4 8、P 1 - 0 6 8 7 5 0、P 1 - 0 6 8 7 5 2、P 1 - 0 6 8 7 5 4、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 5 5 A、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ H 1 0 0 G、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 5 6 N、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 5 5 A __ E 5 6 N、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 3 0 D、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 3 0 D __ E 5 5 A、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 5 6 N __ H 1 0 0 G、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 3 0 D __ H 1 0 0 G、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 3 0 D __ E 5 6 N、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 1 0 0 f F、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 5 5 A __ E 1 0 0 f F、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ H 1 0 0 G __ E 1 0 0 f F、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 3 0 D __ E 1 0 0 f F、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 5 6 N __ E 1 0 0 f F、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 3 2 Y、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 3 2 Y __ E 5 5 A、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 3 2 Y __ E 5 6 N、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 3 0 D __ E 3 2 Y、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 3 2 Y __ H 1 0 0 G、P 1 - 0 6 8 7 6 1 __ E 3 2 Y __ E 1 0 0 f F、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ D 5 2 N __ D 1 0 2 V、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ D 5 2 N、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ D 5 2 N __ E 5 5 A、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ E 5 5 A __ D 1 0 2 V、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ D 1 0 2 V、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ E 5 5 A、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ E 3 0 D __ D 5 2 N、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ E 3 0 D __ D 1 0 2 V、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ E 3 0 D、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ E 3 0 D __ E 5 5 A、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ E 1 0 0 f F __ D 1 0 2 V、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ E 5 5 A __ E 1 0 0 f F、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ D 5 2 N __ E 1 0 0 f F、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ E 1 0 0 f F、P 1 - 0 6 8 7 6 7 __ E 3 0 D __ E 1 0 0 f

10

20

30

40

50

F、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEのCDR1、CDR2および／またはCDR3を含み、かつ／あるいは該軽鎖可変領域はP1-061029もしくはP1-061015またはその子孫、例えばP1-061029、P1-068757、P1-068759、P1-068761、P1-068763、P1-068765、P1-068767、P1-068769、P1-068771、P1-068773、P1-068775、P1-069059、P1-069061、P1-069063、P1-069065、P1-069067、P1-069069、P1-069071、P1-069073、P1-069075、P1-069077、P1-061015、P1-068736、P1-068738、P1-068740、P1-068742、P1-068744、P1-068766、P1-068748、P1-068750、P1-068752、P1-068754、P1-068761__E55A、P1-068761__H100G、P1-068761__E56N、P1-068761__E55A__E56N、P1-068761__E30D、P1-068761__E30D__E55A、P1-068761__E56N__H100G、P1-068761__E30D__H100G、P1-068761__E30D__E56N、P1-068761__E100fF、P1-068761__E55A__E100fF、P1-068761__H100G__E100fF、P1-068761__E30D__E100fF、P1-068761__E56N__E100fF、P1-068761__E32Y、P1-068761__E32Y__E55A、P1-068761__E32Y__E56N、P1-068761__E30D__E32Y、P1-068761__E32Y__H100G、P1-068761__E32Y__E100fF、P1-068767__D52N__D102V、P1-068767__D52N、P1-068767__D52N__E55A、P1-068767__E55A__D102V、P1-068767__D102V、P1-068767__E55A、P1-068767__E30D__D52N、P1-068767__E30D__D102V、P1-068767__E30D、P1-068767__E30D__E55A、P1-068767__E100fF__D102V、P1-068767__E55A__E100fF、P1-068767__D52N__E100fF、P1-068767__E100fF、P1-068767__E30D__E100fF、P1-061029__F100fE__V102D、P1-061029__F100fE、P1-061029__V102D、P1-061029__Y32EまたはP1-061029__Y32E__F100fEの軽鎖可変領域と少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%同一であり得る。

【0121】

いくつかの実施態様では、このような修飾された抗hVISTA P1-061029またはP1-061015子孫は、以下の特徴の1つ以上を有する。

－ 酸性pH、例えばpH6.0またはpH6.5で、hVISTA、例えばECDのヒスチジンリッチ領域または配列番号2のアミノ酸残基35-127を含むポリペプチドに特異的に結合すること；

－ 生理的pHまたは中性pH、例えばpH7.4またはpH7.0で、hVISTA、例えばECDのヒスチジンリッチ領域または配列番号2のアミノ酸残基35-127を含むポリペプチドへの有意な結合を欠くこと；

－ 酸性pH、例えばpH6.0またはpH6.5で、cyno VISTA、例えばECDのヒスチジンリッチ領域に特異的に結合すること；

－ 生理的pHまたは中性pH、例えばpH7.4またはpH7.0で、cyno VISTA、例えばECDのヒスチジンリッチ領域への有意な結合を欠くこと；

－ 配列番号2を有するhVISTA ECDと比較して、アミノ酸T35、Y37、K38、T39、Y41、R54、T61、F62、Q63、L65、H66、L67、H6

10

20

30

40

50

8、H69、F97、L115、V117、I119、H121、H122、S124、E125、R127の1つ以上に置換を有するhVISTA-ECDへの結合が減少していること；

－ hVISTAへの結合に関し、P1-061029、P1-068761、P1-068767および／またはP1-061015と交差競合すること；

－ 酸性pH、例えばpH6.0またはpH6.5で、VISTAを発現するヒトT細胞（例えばナイーブまたは活性化T細胞）へのhVISTAの結合を阻害すること；

－ 酸性pH、例えばpH6.0またはpH6.5で、hVISTAのPSGL-1への結合を阻害すること（例えば、配列番号1を有するhVISTAのH153およびH154とPSGL-1チロシンY46およびY48との間の相互作用を阻害すること）であって、PSGL-1はシアリルルイスXを有していてもいなくてもよく、チロシンは好ましくはスルホチロシンである、阻害すること；

－ 例えば実施例に記載のように測定した、カニクイザルにおける少なくとも100、200、300、350、400、450、500、600または700時間（例：少なくとも350時間）の平均滞留時間（MRT）；

－ 例えば、T細胞増殖を強化すること；T細胞からのIFN- γ 産生を強化すること；および／またはT細胞受容体媒介のNF- κ Bシグナル伝達を刺激することによる、T細胞活性化を刺激すること；

－ VISTA媒介の細胞：細胞接着を阻害すること；

－ VISTAを発現する、ヒト腫瘍細胞の試料または炎症を起こしたヒト組織の試料において、hVISTAに特異的に結合すること；

－ 例えば実施例15に記載の酵母表面ディスプレイおよびNGSアッセイを使用して決定され、付番は成熟したhVISTAのものである1つ以上（例えば、少なくとも1-3、1-5、1-10、5-10、5-15個、または全て）のエネルギー的に重要な接触残基Y37、T39、R54、F62、H66、V117、I119またはS124を介してhVISTAに接触すること；

－ 配列番号1を有するhVISTAの領域1：57LGPVDKGHDVTF68（配列番号：566）；領域2：86RRPIRNLTFQDL97（配列番号：567）；および領域3：148VVEIRHHHSEHRVHGAM E165（配列番号：568）へ結合することであって、場合によってその結合が、実施例21に記載されるようにMS-HDXで決定して、領域2に対して最も強い、結合すること；

－ 例えば実施例に記載されているように、例えば結晶学によって決定される、hVISTAのヒスチジンリッチな β シート伸長部に結合すること；

－ 例えば実施例に記載されているように、例えば結晶学によって決定される、成熟hVISTAのH121、H122および／またはH123に、例えば水素結合を介して接触すること（4.0オングストローム（Å）以下の距離）；

－ VH CDR1、CDR2またはCDR3にある、少なくとも1つ以上のグルタミン酸、アスパラギン酸またはヒスチジン残基を介してhVISTAに接触すること；および請求項および／または実施例に記載されている追加の特性。

【0122】

例示的な抗体定常領域

いくつかの実施態様では、本明細書に記載の抗体は、1つまたは複数のヒト定常領域を含む。いくつかの実施態様では、ヒト重鎖定常領域は、IgA、IgGおよびIgDから選択されるアイソタイプのものである。いくつかの実施態様では、ヒト軽鎖定常領域は、 κ および λ から選択されるアイソタイプのものである。いくつかの実施態様では、本明細書に記載の抗体は、IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4等のヒトIgG定常領域を含む。いくつかの実施態様では、本明細書に記載の抗体は、ヒトIgG4重鎖定常領域を含む。いくつかのこのような実施態様では、本明細書に記載の抗体は、ヒトIgG4定常領域にS241P突然変異を含む。いくつかの実施態様では、本明細書に記載の抗体は、ヒトIgG4定常領域およびヒト κ 軽鎖を含む。

【0123】

重鎖定常領域の選択により、抗体が *in vivo* でエフェクター機能を有するかどうかを判定することができる。このようなエフェクター機能は、いくつかの実施態様では、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性 (ADCC) および／または補体依存性細胞傷害性 (CDC) を含み、抗体が結合している細胞の死滅をもたらす得る。いくつかのがんを治療する方法を含むいくつかの治療方法では、例えば抗体が腫瘍の維持または増殖を支持する細胞に結合する場合、細胞死滅が望ましい場合がある。腫瘍の維持または増殖を支持し得る例示的な細胞には、限定されないが、腫瘍細胞自体、腫瘍への脈管構造の動員を助ける細胞、および腫瘍の増殖または生存を支持または促進するリガンド、増殖因子または対抗受容体を提供する細胞が含まれる。いくつかの実施態様では、エフェクター機能が望ましい場合、ヒト IgG1 重鎖またはヒト IgG3 重鎖を含む抗体が選択される。

10

【0124】

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増大または低下させるように作り変えられる。抗体に対するグリコシル化部位の付加または欠失は、1つ以上のグリコシル化部位が作製または除去されるようにアミノ酸配列を変更することにより、簡便に達成することができる。

【0125】

抗体が Fc 領域を含む場合には、それに結合する糖類を変えることができる。哺乳動物細胞によって産生された天然抗体は、典型的には、Fc 領域の CH2 ドメインの Asn297 に N 結合により一般に付着した分岐状の二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Wright et al., TIBTECH 15:26-32 (1997) を参照。オリゴ糖には、様々な糖類、例えばマンノース、N-アセチルグルコサミン (GlcNAc)、ガラクトースおよびシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「幹」の GlcNAc に結合したフコースが含まれ得る。いくつかの実施態様において、本発明の抗体におけるオリゴ糖の修飾は、特定の改善された特性を有する抗体を作製するためになされ得る。例えば、いくつかの実施態様において、抗体は、例えば、フコース含有グリコシル化で通常グリコシル化されている Asn297 などの残基を突然変異させることによって、または他の手段によってアフコシル化されてもよい。いくつかの実施態様では、本明細書の抗体は、アフコシル化されたヒト IgG1 定常領域を含み得る。

20

【0126】

抗体は、二分されたオリゴ糖、例えば、抗体の Fc 領域に結合した二分岐オリゴ糖が GlcNAc により二分されているオリゴ糖をさらに備えている。このような抗体は、低下したアフコシル化および／または改善された ADCC 機能を有することができる。このような抗体の例は、例えば国際公開第 2003/011878 号 (Jean-Mairet ら)、米国特許第 6602684 号 (Umana ら)、および米国特許出願公開第 2005/0123546 号 (Umana ら) に記載されている。Fc 領域に結合したオリゴ糖内に少なくとも 1 つのガラクトース残基を持つ抗体も提供される。このような抗体は、改善された CDC 機能を有することができる。このような抗体は、例えば国際公開第 1997/30087 号 (Patel ら)；国際公開第 1998/58964 号 (Raju, S.)；および国際公開第 1999/22764 号 (Raju, S.) に記載されている。

30

40

【0127】

抗体には、アミノ末端リーダー伸長部も備わっている。例えば、アミノ末端リーダー配列の 1 つ以上のアミノ酸残基は、抗体の任意の 1 つ以上の重鎖または軽鎖のアミノ末端に存在する。例示的なアミノ末端リーダー伸長部は、抗体の一方または両方の軽鎖上に存在する 3 つのアミノ酸残基 VHS を含むかまたはそれらからなる。

【0128】

ヒト FcRn 高親和性結合ポリペプチドの *in vivo* または血清半減期は、例えばトランスジェニックマウス、ヒト、または変異 Fc 領域を有するポリペプチドが投与される非ヒト霊長類でアッセイすることができる。例えば、Petkova et al., International Immunology 18 (12):1759-1769 (20

50

06)も参照されたい。

【0129】

本発明のいくつかの実施態様において、アフコシル化抗体は、ヒトエフェクター細胞の存在下でフコースを含む親抗体よりも効果的にADCCを媒介する。一般に、ADCC活性は、本明細書で開示される*in vitro*のADCCアッセイを用いて決定され得るが、ADCC活性を決定するための他のアッセイまたは方法、例えば動物モデルなどでなどでのものも企図される。

【0130】

特定の実施態様では、Fc領域は、少なくとも1つのアミノ酸残基を異なるアミノ酸残基で置き換えることによって作り変えられ、抗体のエフェクター機能を変化させる。例えば、アミノ酸残基234、235、236、237、297、318、320、322、330および／または331から選択される1つ以上のアミノ酸は、抗体がエフェクターリガンドに対する変化した親和性を有するものの、親抗体の抗原結合能力は保持するように、異なるアミノ酸残基で置換することができる。親和性が変化するエフェクターリガンドは、例えば、Fc受容体または補体のC1成分であり得る。このアプローチは、米国特許第5624821号および同第5648260号（共にWinterらによる）にさらに詳細に記載されている。

【0131】

いくつかの例では、アミノ酸残基329、331および322から選択される1つ以上のアミノ酸は、抗体がC1q結合を変化させ、かつ／または補体依存性細胞傷害(CDC)を低下もしくは消失させたりするように、異なるアミノ酸残基で置き換えることができる。このアプローチは、Idusogieらによる米国特許第6194551号および同第5648260号にさらに詳細に記載されている。

【0132】

いくつかの例では、アミノ酸231および239位内の1つ以上のアミノ酸残基が変更され、それによって補体を固定する抗体の能力を変える。このアプローチは、Bodmerらによる国際公開第94/29351号にさらに記載されている。いくつかの例では、Fc領域は、234、235、236、238、239、240、241、243、244、245、247、248、249、252、254、255、256、258、262、263、264、265、267、268、269、270、272、276、278、280、283、285、286、289、290、292、293、294、295、296、298、299、301、303、305、307、309、312、313、315、320、322、324、325、326、327、329、330、331、332、333、334、335、337、338、340、360、373、376、378、382、388、389、398、414、416、419、430、433、434、435、436、437、438または439位の1つ以上のアミノ酸を修飾することにより、抗体依存性細胞傷害性(ADCC)を低下させるために、および／またはFcγ受容体に対する親和性を低下させるために修飾することができる。例示的な置換には、236A、239D、239E、268D、267E、268E、268F、324T、332Dおよび332Eが含まれる。例示的な変異体には、239D/332E、236A/332E、236A/239D/332E、268F/324T、267E/268F、267E/324Tおよび267E/268F7324Tが含まれる。Fcに対して行うことができる他のFc修飾は、FcγRおよび／または補体タンパク質への結合を低減または除去し、それによりADCC、ADCPおよびCDC等のFcを介したエフェクター機能を低減または除去するためのものである。例示的な修飾には、234、235、236、237、267、269、325、328、330および／または331（例えば330および331）位（EUインデックスによる付番）での置換、挿入および欠失が含まれるが、これらに限定されない。例示的な置換には、234A、235E、236R、237A、267R、269R、325L、328R、330Sおよび331S（例えば330Sおよび331S）（EUインデックスによる付番）が含まれるが、これ

らに限定されない。Fc変異体は、236R／328Rを含んでもよい。FcγRおよび補体相互作用を低減するための他の修飾には置換297A、234A、235A、237A、318A、228P、236E、268Q、309L、330S、331S、220S、226S、229S、238S、233Pおよび234V、ならびに突然変異もしくは酵素的手段による、またはタンパク質をグリコシル化しない細菌などの生物での生産による297位でのグリコシル化の除去が含まれる。これらおよびその他の修飾は、Strohle, 2009, Current Opinion in Biotechnology 20:685-691に総説されている。例えば、ヒトIgG1.3Fc定常領域は、L234A、L235EおよびG237A置換を含有する。IgG1fa.P238K（またはIgG1.P238K）は、P238K置換を含有する。IgG1.1fは、L234A、L235E、G237A、A330SおよびP331S置換を含む。

10

【0133】

抑制性受容体FcγRIIbに対する親和性を強化するFc変異体も使用できる。このような変異体は、例えばB細胞および単球を含むFcγRIIb細胞に関連する免疫調節活性有するFc融合タンパク質を提供する。一実施態様では、Fc変異体は、1つ以上の活性化受容体と比較して、FcγRIIbへの選択的に強化された親和性を提供する。FcγRIIbへの結合を変化させるための修飾には、EUインデックスによる234、235、236、237、239、266、267、268、325、326、327、328、330、331および332からなる群から選択される位置における1つ以上の修飾が含まれる。FcγRIIb親和性を強化するための例示的な置換には、234A、234D、234E、234F、234W、235D、235E、235F、235R、235Y、236D、236N、237A、237D、237N、239D、239E、266M、267D、267E、268D、268E、327D、327E、328F、328W、328Y、330S、331Sおよび332Eが含まれるが、これらに限定されない。例示的な置換には、235Y、236D、239D、266M、267E、268D、268E、328F、332Wおよび328Yが含まれる。FcγRIIbへの結合を強化するための他のFc変異体には、235Y／267E、236D／267E、239D／268D、239D／267E、267E／268D、267E／268E、および267E／328Fが含まれる。

20

【0134】

FcγRおよび補体相互作用を強化するための他の修飾には、限定されないが、置換298A、333A、334A、326A、2471、339D、339Q、280H、290S、298D、298V、243L、292P、300L、396L、3051および396Lが含まれる。これらのおよびその他の修飾は、Strohle, 2009, Current Opinion in Biotechnology 20:685-691に総説されている。Fcγ受容体への結合を増加させるFc修飾には、アミノ酸の238、239、248、249、252、254、255、256、258、265、267、268、269、270、272、279、280、283、285、298、289、290、292、293、294、295、296、298、301、303、305、307、312、315、324、327、329、330、335、337、338、340、360、373、376、379、382、388、389、398、414、416、419、430、434、435、437、438または439位のいずれか1つ以上におけるアミノ酸修飾が含まれ、ここで、Fc領域の残基の付番は、国際公開第00／42072号にあるように、EUインデックスのものである。

30

40

【0135】

任意選択的に、Fc領域は、当業者に知られている追加および／または代替の位置に非天然アミノ酸残基を含むことができる（例えば、米国特許第5624821号；同第6277375号；同第6737056号；同第6194551号；同第7317091号；同第8101720号；国際公開第00／42072号；同第01／58957号；同第02／06919号；同第04／016750号；同第04／029207号；同第04／

50

035752号；同第04/074455号；同第04/099249号；同第04/063351号；同第05/070963号；同第05/040217号、同第05/092925号、および同第06/020114号を参照）。

【0136】

Fc領域のそのリガンドに対する親和および結合特性は、当技術分野で知られている平衡法（例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）またはラジオイムノアッセイ（RIA））またはカイネティクス（例えばBIACORE解析）、ならびにその他の方法、例えば間接結合アッセイ、競合阻害アッセイ、蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、ゲル電気泳動およびクロマトグラフィー（例えばゲル濾過）を含むがこれらに限定されない様々な*in vitro*アッセイ法（生化学的または免疫学的アッセイ）によって決定され得る。これらの方法および他の方法では、検査される成分の1つもしくは複数の標識を利用することができ、かつ／または発色、蛍光、発光もしくは同位体標識を含むがこれらに限定されない様々な検出方法を採用することができる。結合親和性およびカイネティクスの詳細な説明は、Paul, W. E., ed., *Fundamental Immunology*, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)に記載されており、抗体-免疫原相互作用に焦点を当てている。

【0137】

特定の実施態様では、抗体は、その生物学的半減期を延ばすために修飾される。様々なアプローチが可能である。例えば、これは、Fc領域のFcRnに対する結合親和性を増加させることによって行うことができる。例えば、米国特許第6277375号に記載されているように、次の残基：252、254、256、433、435、436の1つまたは複数を突然変異させることができる。特定の例示的な置換には、T252L、T254Sおよび／またはT256Fの1つまたは複数が含まれる。あるいは、生物学的半減期を延ばすために、抗体は、Prestaらによる米国特許第5869046号および第6121022号に記載されているようにCH1またはCL領域内で変化させ、IgGのFc領域のCH2ドメインの2つのループから取得されたサルベージ受容体結合エпитープを含めることができる。FcRnへの結合を増加させ、かつ／または薬物動態特性を改善する他の例示的な変異体には、例えば2591、308F、428L、428M、434S、4341、434F、434Yおよび434X1を含む、259、308、428および434位での置換が含まれる。FcRnへの結合を増加させる他の変異体には、250E、250Q、428L、428F、250Q/428L (Hinton et al. 2004, J. Biol. Chem. 279 (8) 6213-6216, Hinton et al. 2006 Journal of Immunology 176:346-356)、256A、272A、286A、305A、307A、307Q、311A、312A、376A、378Q、380A、382A、434A (Shields et al., Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(9):6591-6604)、252F、252T、252Y、252W、254T、256S、256R、256Q、256E、256D、256T、309P、311S、433R、433S、4331、433P、433Q、434H、434F、434Y、252Y/254T/256E、433K/434F/436H、308T/309P/311S (Dall'Acqua et al. Journal of Immunology, 2002, 169:5171-5180, Dall'Acqua et al., 2006, Journal of Biological Chemistry 281:23514-23524)が含まれる。FcRn結合を調節するための他の修飾は、Yeung et al., 2010, J Immunol, 182:7663-7671に記載されている。

【0138】

特定の実施態様では、特定の生物学的特性を有するハイブリッドIgGアイソタイプを使用することができる。例えば、IgG1/IgG3ハイブリッド変異体は、CH2および／またはCH3領域のIgG1位置を、2つのアイソタイプが異なる位置のIgG3からのアミノ酸で置換することによって構築することができる。したがって、ハイブリッド変異体IgG抗体は、1つ以上の置換、例えば274Q、276K、300F、339T、356E、358M、384S、392N、397M、4221、435Rおよび436

Fを含む抗体を構築することができる。いくつかの実施態様では、IgG1/IgG3ハイブリッド変異体は、CH2および／またはCH3領域のIgG1位置を、2つのアイソタイプが異なる位置のIgG3からのアミノ酸で置換することによって構築することができる。したがって、1つ以上の置換、例えばアミノ酸置換233E、234L、235L、-236G（236位におけるグリシンの挿入を意味する）および327Aのうちの1つ以上の置換を含むハイブリッド変異体IgG抗体を構築することができる。

【0139】

さらに、ヒトIgG1上のFcγRI、FcγRII、FcγRIIIおよびFcRnに対する結合部位がマッピングされ、結合が改善された変異体が記載された (Shields, R.L. et al. (2001) J. Biol. Chem. 276 (6591-6604)参照)。256、290、298、333、334および339位における特定の突然変異は、FcγRIIIへの結合を改善することが示された。さらに、以下の組み合わせ変異体は、FcγRIIIへの結合を改善することが示された。T256A/S298A、S298A/E333A、S298A/K224AおよびS298A/E333A/K334Aであり、これらは、強化されたFcγRIIIa結合およびADCC活性を示すことが示されている (Shields et al., 2001)。FcγRIIIaへの結合が強く増強された他のIgG1変異体が同定されており、その中にはFcγRIIIaに対する親和性の最大の増加、FcγRIIbへの結合の減少、およびカニクイザルにおける強い細胞傷害活性を示したS239D/I332EおよびS239D/I332E/A330L変異を有する変異体が含まれている (Lazarら, 2006)。アレムツズマブ (CD52特異的)、トラスツズマブ (HER2/neu特異的)、リツキシマブ (CD20特異的)、およびセツキシマブ (EGFR特異的)等の抗体へのトリプル変異の導入は、in vitroで大幅に強化されたADCC活性に変換され、S239D/I332E変異体はサルにおいてB細胞を枯渇させる能力の強化を示した (Lazarら, 2006)。さらに、B細胞悪性腫瘍および乳がんのモデルにおいてヒトFcγRIIIaを発現するトランスジェニックマウスにおいて、FcγRIIIaへの結合の強化とおよびそれに伴うADCC活性の強化を示した、Lc235V、F243L、R292P、Y300LおよびP396L変異を含むIgG1変異体が同定されている (Stavenhagenら, 2007; Nordstromら, 2011)。使用することができる他のFc変異体には、S298A/E333A/L334A、S239D/I332E、S239D/I332E/A330L、L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L、およびM428L/N434Sが含まれる。

【0140】

特定の実施態様では、FcγRへの結合が低下したFcが選択される。FcγR結合が低下した例示的なFc、例えばIgG1 Fcは、次の3つのアミノ酸置換、L234A、L235EおよびG237Aを含む。

【0141】

特定の実施態様では、補体結合が低減されたFcが選択される。補体結合が低減された例示的なFc、例えばIgG1 Fcは、次の2つのアミノ酸置換、A330SおよびP331Sを有する。

【0142】

特定の実施態様では、本質的にエフェクター機能を有しない、すなわちFcγRへの結合が低減され、かつ、補体結合が低減されたFcが選択される。エフェクターのない例示的なFc、例えばIgG1 Fcは、次の5つの変異、L234A、L235E、G237A、A330SおよびP331Sを含む。

【0143】

IgG4定数ドメインを使用する場合、IgG1のヒンジ配列を模倣し、それによってIgG4分子を安定化する置換S228Pを含むことができる。

【0144】

国際公開第2017/087678号または同第2016081746号に記載されているFc修飾も用いることができる。

10

20

30

40

50

【0145】

特定の実施態様では、抗体のグリコシル化が改変される。例えば、アグリコシル化抗体を作ることができる（すなわち、抗体がグリコシル化を欠いている）。グリコシル化は、例えば、抗原に対する抗体の親和性を高めるために変化し得る。このような炭水化物修飾は、例えば、抗体配列内のグリコシル化の1つまたは複数の部位を変更することによって達成することができる。例えば、1つまたは複数のアミノ酸置換は、1つまたは複数の可変領域フレームワークグリコシル化部位の除去をもたらすことにより、その部位でのグリコシル化を除去するように行うことができる。このようなアグリコシル化は、抗原に対する抗体の親和性を高めることができる。このようなアプローチは、C o らによる米国特許第5714350号および同第6350861号にさらに詳細に記載されている。

10

【0146】

N297上の定常領域のグリコシル化は、N297残基を別の残基、例えばN297Aに変異させることにより、および／または隣接アミノ酸、例えば298を変異させてそれによりN297上のグリコシル化を低下させることにより防ぐことができる。

【0147】

追加的にまたは代替的に、フコシル残基の量が減少した低フコシル化抗体または二分するG l c N a c 構造が増加した抗体など、糖化のタイプが変化した抗体を作ることができる。このような変化したグリコシル化パターンは、抗体のA D C C 能力を増加させることが実証されている。このような炭水化物修飾は、例えば、変化したグリコシル化機構を有する宿主細胞において抗体を発現させることによって達成することができる。グリコシル化機構が変化した細胞は当技術分野で記載されており、本明細書に記載の組換え抗体を発現させ、それによりグリコシル化が変化した抗体を産生する宿主細胞として使用できる。例えば、H a n a i らによるE P 第1176195号には、フコシル転移酵素をコードする機能的に破壊されたF U T 8 遺伝子を有する細胞株が記載されており、このような細胞株で発現された抗体は、低フコシル化を示す。P r e s t a による国際公開第03/035835号には、A s n (297) 結合炭水化物にフコースを結合する能力が低下し、その宿主細胞で発現される抗体の低フコシル化をもたらす変異型C H O 細胞株、L e d 3 細胞が記載されている（また、Shields, R.L. et al. (2002) J. Biol. Chem. 277 (26733-26740) も参照）。U m a n a らによる国際公開第99/54342号には、糖タンパク質修飾グリコシル転移酵素（例えば、ベータ（1,4）-N-アセチルグルコサミニル転移酵素I I I (G n T I I I)）を発現するように操作された細胞株が記載されており、このような操作された細胞株において発現された抗体は、増加した二分するG l c N a c 構造を示し、その結果、抗体のA D C C 活性が増加する（Umana et al. (1999) Nat. Biotech. 17: 176-180も参照）。

20

30

【0148】

本明細書に記載される抗体の別の修飾は、ペグ化である。抗体をペグ化して、例えば、抗体の生物学的（例えば血清）半減期を延ばすことができる。抗体をペグ化するために、抗体またはその断片は、1つまたは複数のP E G 基が抗体または抗体断片に結合するようになる条件下で、典型的にはポリエチレングリコール（P E G）、例えばP E G の反応性エステルまたはアルデヒド誘導体などと反応させる。いくつかの実施態様では、ペグ化は、反応性P E G 分子（または類似の反応性水溶性ポリマー）とのアシル化反応またはアルキル化反応を介して行われる。本明細書で使用する場合、「ポリエチレングリコール」という用語は、モノ（C I - C I O）アルコキシまたはアリールオキシポリエチレングリコールもしくはポリエチレングリコールマレイミド等、他のタンパク質を誘導体化するために使用されているP E G の任意の形態を包含するものとする。特定の実施態様では、ペグ化される抗体は、アグリコシル化抗体である。タンパク質をペグ化する方法は当技術分野で知られており、本明細書に記載の抗体に適用することができる。例えば、N i s h i m u r a らによるE P 第0154316号およびI s h i k a w a らによるE P 第0401384号参照。

40

【0149】

50

様々な実施態様において、本明細書に記載されるVISTAに結合する抗体は、抗原結合が有害であろう組織および環境においては抗原結合を選択的に遮断するが、有益であろう場所においては抗原結合を可能にするように改変される（「活性化可能抗体」）。一実施態様では、抗体の抗原結合表面に特異的に結合し、抗原結合を妨害する遮断ペプチド「マスク」が生成され、このマスクは、ペプチダーゼ切断可能なリンカーによって抗体の結合アームのそれぞれに連結される。例えば、Cyto mXへの米国特許第8518404号を参照のこと。このような構築物は、非腫瘍組織と比較して腫瘍微小環境においてプロテアーゼレベルが大幅に増加しているがんの治療に有用である。腫瘍微小環境における切断可能なリンカーの選択的切断は、マスキング／遮断ペプチドの解離を可能にし、抗原結合が望ましくない副作用を引き起こす可能性のある末梢組織ではなく、腫瘍内で選択的に抗原結合を可能にする。抗体に連結された遮断ペプチドの例は、国際公開第2018/085555号に提供されている。

【0150】

あるいは、関連する実施態様では、（二価）抗体の両方の抗原結合表面に結合し、抗原結合を妨害する、2つの抗原結合ドメインを含む二価結合化合物（「マスキングリガンド」）が開発され、この場合、2つの結合ドメインマスクは、切断可能なリンカー、例えば、ペプチダーゼによって切断可能なリンカーによって、（抗体ではなく）互いに連結されている。例えば、Tegopharm社に対する国際公開第2010/077643号を参照。マスキングリガンドは、抗体が結合することが目的の抗原を含むか、またはそれに由来してもよく、または独立に生成されてもよい。このようなマスキングリガンドは、非腫瘍組織と比較して腫瘍微小環境でプロテアーゼレベルが大幅に増加しているがんの治療に有用である。腫瘍微小環境での切断可能なリンカーの選択的切断は、2つの結合ドメインの相互解離を可能にし、抗体の抗原結合表面のアビディティを低下させる。結果として生じる抗体からのマスキングリガンドの解離は、抗原結合が望ましくない副作用を引き起こす可能性のある末梢組織ではなく、腫瘍内で選択的に抗原結合を可能にする。

【0151】

核酸および宿主細胞

抗体またはその重鎖もしくは軽鎖またはその一部をコードする核酸も提供される。例示的な核酸は、配列表に提供されている。配列表の核酸に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、97%、98%または99%である任意の核酸が本明細書に包含される。本明細書で提供される抗体をコードする核酸を含む組成物も包含され、これらを含む細胞、および、抗VISTA抗体をコードする核酸で形質転換された細胞を培養することと培地または細胞から抗体を単離することを含む、抗体を調製する方法も包含される。

【0152】

VISTA-ECDC結合Abを用いる治療方法および関連する薬学的組成物

特定の実施態様では、低pHでVISTAに結合し、例えば、中性または生理的pHで有意な結合を欠く抗VISTA抗体は、VISTAアンタゴニスト抗体、すなわち、免疫応答が刺激されるようなVISTAの作用を阻害する抗体であり得る。このような抗体は、免疫系または免疫応答を刺激することが望まれる疾患、例えば増殖性疾患（良性または悪性）、がんおよび感染症（例えばウイルス感染症）を治療するために使用することができる。

【0153】

特定の実施態様では、低pHでVISTAに結合し、例えば、中性または生理的pHで有意な結合を欠く抗VISTA抗体は、VISTAアゴニスト抗体、すなわち、免疫応答が抑制されるようなVISTAの作用を増大させる抗体であり得る。このような抗体は、自己免疫疾患および炎症状態などの免疫系または免疫応答の抑制が望まれる疾患、例えば関節リウマチ、全身性紅斑性狼瘡、セリアック病、シェーグレン（Sjögren）症候群、グレイブ病、炎症性腸疾患、乾癬、強直性脊椎炎、移植片対宿主病、アレルギーおよび喘息等の治療のために使用され得る。

【0154】

本明細書に記載される抗体は、例えば、がんを治療するために使用され得る。いくつかの実施態様では、本明細書に記載の有効量の抗体を患者に投与することを含む、がんを治療する方法が提供される。いくつかの実施態様では、A bは、抗原特異的免疫応答などの患者の免疫応答を誘発または強化することができる。いくつかの実施態様では、A bは、T細胞活性を刺激し得る。いくつかの実施態様では、A bは、患者の少なくとも1つの腫瘍の成長を阻害することができる。

【0155】

本明細書で提供されるのは、対象が治療されるように、対象に治療有効量の本明細書に記載の抗VISTA抗体を投与することを含む、がんを有する対象を治療する方法である。抗VISTA抗体は単独で使用することができる。あるいは、抗VISTA抗体は、以下

10

【0156】

本明細書に記載の酸性条件下でVISTA-ECDTタンパク質に特異的に結合するA bで治療できるがんの例には、カルシノーマ、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫および白血病が含まれるが、これらに限定されない。また、本明細書に記載されるA bで治療され得るがんには、典型的には免疫療法に応答性であるがんおよび典型的には免疫療法に応答性ではないがんが含まれる。治療され得るがんにはまた、VISTA陽性がん、例えばVISTA陽性腫瘍浸潤細胞、例えばリンパ球、骨髄または単球細胞を有するがんを含む。がんは、固形腫瘍または血液悪性腫瘍（液体腫瘍）を伴うがんであり得る。

【0157】

20

治療のためのがんの非限定的な例には、扁平上皮癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、扁平上皮非小細胞肺癌（NSCLC）、非扁平上皮NSCLC、神経膠腫、消化器がん、腎がん（例：明細胞癌）、卵巣がん、肝臓がん、結腸直腸がん、子宮内膜がん、腎臓がん（例：腎腺癌（RCC））、前立腺がん（例：ホルモン抵抗性前立腺腺癌）、甲状腺がん、神経芽細胞腫、膵臓がん、膠芽細胞腫（多形神経膠芽腫）、子宮頸がん、胃がん（stomach cancer）、膀胱がん、肝細胞癌、乳がん、結腸癌、および頭頸部がん（または癌）、胃がん（gastric cancer）、生殖細胞腫瘍、小児の肉腫、副鼻腔ナチュラルキラー、黒色腫（例：転移性悪性黒色腫、例えば皮膚または眼内悪性黒色腫）、骨がん、皮膚がん、子宮がん、肛門部のがん、精巣がん、卵管癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、陰癌、外陰部癌、食道がん、小腸がん、内分泌系がん、副甲状腺がん、副腎がん、軟部組織肉腫。尿道がん、陰茎がん、小児固形腫瘍、尿管がん、腎盂癌中枢神経系（CNS）新生物、原発性CNSリンパ腫、腫瘍血管新生、脊髄軸腫瘍、脳腫瘍。脳幹グリオーマ、下垂体腺腫、カポジ肉腫、表皮がん、扁平上皮がん、T細胞リンパ腫、アスベストによって誘発されたものを含む環境誘発性がん、ウイルス関連がんまたはウイルス起源のがん（例：ヒトパピローマウイルス（HPV関連またはHPV発腫瘍））、および2つの主要な血球システムのいずれか、すなわち骨髄細胞株（顆粒球、赤血球、血小板、マクロファージおよびマスト細胞を産生する）またはリンパ系細胞株（B、T、NKおよび血漿細胞を産生する）に由来する全てのタイプの白血病、リンパ腫および骨髄腫等の血液悪性腫瘍、例えば、急性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、慢性リンパ性白血病（CLL）および慢性骨髄性白血病（CML）等の急性、慢性、リンパ球性および／または骨髄性白血病、未分化AML（MO）、骨髄芽球性白血病（ML）、骨髄芽球性白血病（M2．細胞成熟を伴う）、前骨髄球性白血病（M3またはM3変種[M3V]）、骨髄単球性白血病（M4または好酸球増多を伴うM4変種[M4E]）、単球性白血病（M5）、赤白血病（M6）、巨核芽球性白血病（M7）、孤立性顆粒球肉腫および緑色腫；リンパ腫、例えば、ホジキンリンパ腫（HL）、非ホジキンリンパ腫（NHL）、B細胞血液悪性腫瘍（例：B細胞リンパ腫）、T細胞リンパ腫、リンパ形質細胞様リンパ腫、単球様B細胞リンパ腫、粘膜関連リンパ組織（MALT）リンパ腫、未分化（例えばKi 1+）大細胞性リンパ腫、成人T細胞リンパ腫／白血病、マンツル細胞リンパ腫、血管免疫芽球T細胞リンパ腫、血管中心性リンパ腫、腸管T細胞性リンパ腫、縦隔原発B細胞リンパ腫、前駆Tリンパ芽球性リンパ腫、Tリンパ芽球性リンパ腫／白血病（T-Lbly／T-AL

30

40

50

L)、末梢性T細胞リンパ腫、リンパ芽球性リンパ腫、移植後リンパ増殖性疾患、真性組織球性リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、B細胞リンパ腫、リンパ芽球性リンパ腫(LBL)、リンパ系の造血器腫瘍、急性リンパ芽球性白血病、びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫、バーキットリンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性組織球性リンパ腫(DHL)、免疫芽球性大細胞型リンパ腫、前駆Bリンパ芽球性リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫(CTLC)(菌状息肉腫またはセザリー症候群とも呼ばれる)、およびウォルデンシュトレームマクログロブリン血症を伴うリンパ形質細胞性リンパ腫(LPL); 骨髄腫、例えば、IgG骨髄腫、軽鎖骨髄腫、非分泌性骨髄腫、くすぶり型骨髄腫(無痛性骨髄腫とも呼ばれる)、孤立性形質細胞腫、および多発性骨髄腫、慢性リンパ性白血病(CLL)、毛様細胞リンパ腫; 骨髄系の造血器腫瘍、線維肉腫および横紋筋肉腫を含む間葉起源の腫瘍; 精上皮腫、悪性奇形腫、星状細胞腫を含む中枢神経系および末梢神経系の腫瘍、シュワン腫; 線維肉腫、横紋筋肉腫、骨肉腫を含む葉起源の腫瘍; ならびにメラノーマ、色素性乾皮症、ケラトアカントーマ、精上皮腫、甲状腺濾胞がんおよび悪性奇形腫を含むがこれらに限定されない他の腫瘍、リンパ系の造血系腫瘍、例えばT細胞およびB細胞腫瘍(小細胞および大脳様細胞型のものを含むT細胞性前リンパ球性白血病(T-PLL)などのT細胞障害を含むがこれらに限定されない); T細胞型の大顆粒リンパ球性白血病(LGL); a/d NHL 肝脾T細胞リンパ腫(T-NHL hepatosplenic lymphoma); 末梢性/胸腺後(post-thymic) T細胞リンパ腫(多形性および免疫芽球性サブタイプ); 血管中心性(鼻) T細胞リンパ腫; 頭頸部がん、腎がん、直腸がん、甲状腺がん; 急性骨髄性リンパ腫、ならびに前記がんの任意の組み合わせが含まれる。本明細書に記載される方法はまた、転移性がん、切除不能な不応性がん(例: 例えば遮断CTLA-4抗体またはPD-1抗体を用いた先行の免疫療法に対して不応性のがん)、および/または再発がんの治療のために使用され得る。

【0158】

いくつかの実施態様では、がんを治療する方法が提供され、ここで、該方法は、本明細書に記載されているような酸性条件下でh u V I S T Aに特異的に結合する単離された抗体を、がんを有する対照に投与することを含む。いくつかの実施態様では、がんを治療するための本明細書に記載の抗体の使用が提供される。

【0159】

特定の実施態様では、本明細書に記載の抗体は、先行治療、例えば免疫腫瘍学的薬剤または免疫療法薬による先行治療に対して不十分な応答を示した、または先行治療に対して進行したがんを有する患者に投与される。いくつかの実施態様では、がんは、先行治療に対して不応性または抵抗性であり、内因的に不応性もしくは抵抗性(例えば、PD-1経路アンタゴニストに対して不応性)であるか、または抵抗性もしくは不応性の状態が獲得される。例えば、本明細書に記載の抗体は、第1の治療に反応しないもしくは十分に反応しない対象、または、治療、例えば、単独でまたは別の療法と(例: 抗PD-1経路アンタゴニスト療法と)併用した抗PD-1経路アンタゴニスト治療などの後に疾患が進行した対象に投与することができる。他の実施態様では、本明細書に記載の抗体は、免疫腫瘍学的薬剤、例えばPD-1経路アンタゴニストを以前に摂取したことがない(すなわち、それで治療されていない)患者に投与される。

【0160】

特定の実施態様では、対象におけるがんを治療する方法は、まず、対象における腫瘍の腫瘍変異負荷(TMB)を決定することと、その結果に基づいて、例えば高いTMBを有することが判明した対象に抗V I S T A抗体を投与することを含む。

【0161】

免疫刺激剤との併用

いくつかの実施態様では、本明細書に記載される抗体、例えば本明細書に記載されるアンタゴニストV I S T A抗体は、少なくとも1種の免疫刺激剤と併用して投与される。例えば、治療薬は、一緒に注入されてもよいし、ほぼ同時に注入されてもよい。いくつかの実施態様では、抗体および少なくとも1種の免疫刺激剤は、連続的に投与される。例えば、

いくつかの実施態様では、抗体は、2つの治療薬が30分、60分、90分、120分、3時間、6時間、12時間、24時間、36時間、48時間、3日、5日、7日、または2週間間隔で投与されるような、少なくとも1種の免疫刺激剤の投与の前または後に連続的に投与される。

【0162】

いくつかの実施態様では、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3用量、少なくとも5用量、または少なくとも10用量の抗体が、少なくとも1種の免疫刺激剤の投与の前に投与される。いくつかの実施態様では、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3用量、少なくとも5用量、または少なくとも10用量の少なくとも1種の免疫刺激剤が抗体の投与の前に投与される。いくつかの実施態様では、免疫刺激剤の最終用量は、抗体の初回投与の少なくとも1、2、3、5もしくは10日、または1、2、3、5、12もしくは24週前に投与される。いくつかの実施態様では、抗体の最終用量は、少なくとも1種の免疫刺激剤の初回投与の少なくとも1、2、3、5もしくは10日、または1、2、3、5、12もしくは24週前に投与される。いくつかの実施態様では、対象は、少なくとも1種の免疫刺激剤による治療を受けたかまたは受けており、治療レジメンにVISTA-ECD結合抗体が加えられている。

【0163】

いくつかの実施態様では、少なくとも1種の免疫刺激剤は、T細胞の活性化の阻害剤のアンタゴニストを含み、いくつかの実施態様では、上記少なくとも1種の免疫刺激剤は、T細胞の活性化の刺激剤のアゴニストを含む。いくつかの実施態様では、上記少なくとも1種の免疫刺激剤は、CTLA4、LAG-3、PD-1、PD-L1、ガレクチン1、ガレクチン9、CEACAM-1、BTLA、CD25、CD69、TIGIT、CD113、GPR56、VISTA、B7-H3、B7-H4、2B4、CD48、GARP、PD1H、LAIR1、TIM1、TIM3、TIM4、ILT4、IL-6、IL-10、TGF β 、VEGF、KIR、LAG-3、アデノシンA2A受容体、PI3Kデルタ、またはIDOのアンタゴニストを含む。いくつかの実施態様では、上記少なくとも1種の免疫刺激剤は、B7-1、B7-2、CD28、4-1BB(CD137)、4-1BBL、ICOS、ICOS-L、OX40、OX40L、GITRL、CD27、CD40、CD40L、DR3、CD28H、IL-2、IL-7、IL-12、IL-15、IL-21、IFN α 、STINGのアゴニスト、またはTLR2/4アゴニストなどのToll様受容体アゴニストを含む。いくつかの実施態様では、上記少なくとも1種の免疫刺激剤は、B7-1、B7-2、B7-H2(ICOS-L)、B7-H3、B7-H4およびB7-H6のような膜結合タンパク質のB7ファミリーの別のメンバーに結合する薬剤を含む。いくつかの実施態様では、上記少なくとも1種の免疫刺激剤は、TNF受容体ファミリーのメンバーに結合する薬剤、またはCD40、CD40L、OX40、OX40L、GITR、GITRL、CD70、CD27L、CD30、CD30L、4-1BBL、CD137(4-1BB)、TRAIL/Apo2-L、TRAILR1/DR4、TRAILR2/DR5、TRAILR3、TRAILR4、OPG、RANK、RANKL、TWEAKR/Fn14、TWEAK、BAFFR、EDAR、XEDAR、EDA1、EDA2、TACI、APRIL、BCMA、LT β R、LIGHT、DeR3、HVEM、VEGL/TL1A、TRAMP/DR3、TNFR1、TNF β 、TNFR2、TNF α 、1 β 2、FAS、FASL、RELT、DR6、TROYもしくはNGF β 等のTNF受容体ファミリーのメンバーに結合する共刺激性もしくは共抑制性分子を含む。いくつかの実施態様では、上記少なくとも1種の免疫刺激剤は、IL-6、IL-10、TGF β 、VEGF等のT細胞活性化を阻害するサイトカインに拮抗またはそれを阻害する薬剤を含む。いくつかの実施態様では、上記少なくとも1種の免疫刺激剤は、T細胞活性化を阻害するサイトカイン(例えばIL-2、IL-7、IL-12、IL-15、IL-21およびIFN α)のアゴニストを含む。いくつかの実施態様では、上記少なくとも1種の免疫刺激剤は、ケモカイン(例えばCXCR2、CXCR4、CCR2またはCCR4)のアンタゴニストを含む。いくつかの実施態様では、上記少なくと

10

20

30

40

50

も1種の免疫刺激剤は、抗体を含む。いくつかの実施態様では、上記少なくとも1つの免疫刺激剤は、メソテリン標的化ワクチンまたはCRS-207などの減弱化リステリアがんワクチンのようなワクチンを含み得る。

【0164】

例えば、本明細書に記載の抗VISTA抗体は、以下の薬剤のうちの1または複数と一緒に投与することができる。

(1) CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、およびLAG-3、ガレクチン9、CEACAM-1、BTLA、CD69、ガレクチン-1、TIGIT、CD113、GPR56、B7-H3、B7-H4、2B4、CD48、GARP、PD1H、LAIR1、TIM-1、TIM-3およびTIM-4等のT細胞の活性化を阻害するタンパク質のアンタゴニスト（阻害剤または遮断剤）（例：免疫チェックポイント阻害剤）；ならびに／または(2) B7-1、B7-2、CD28、4-1BB（CD137）、4-1BBL、GITR、ICOS、ICOS-L、OX40、OX40L、CD70、CD27、CD40、DR3およびCD28H等のT細胞活性化を刺激するタンパク質のアゴニスト。

【0165】

がんを治療するために本明細書に記載の抗VISTA抗体と組み合わせることができる例示的な薬剤には、ヤーボイ（登録商標）（イピリムマブ）またはトレメリムマブ（耐CTLA-4）、ガリキシマブ（対B7.1）、BMS-936558（対PD-1）、MK-3475（対PD-1）、アテゾリズマブ（テセントリク（登録商標））、アベルマブ、デュルバルマブ、PDR001（ノバルティス）、AMP224（対B7DC）、BMS-936559（対B7-H1）、MPDL3280A（対B7-H1）、MED1-570（対ICOS）、AMG557（対B7H2）、MGA271（対7H3）、IMP321（対LAG-3）、BMS-663513（対CD137）、PF-05082566（対CD137）、CDX-1127（対CD27）、抗OX40（Providence Health Services）、huMAbOX40L（対OX40L）、アタセプト（対TACI）、CP-870893（対CD40）、ルカツムマブ（対CD40）、ダセツズマブ（対CD40）、ムロモナブーCD3（対CD3）；抗GITR抗体MK4166、TRX518、Medi1873、INBRX-110、LK2-145、GWN-323、GITRL-Fc、またはこれらの任意の組み合わせが含まれる。

【0166】

がんの治療のために抗VISTA抗体と組み合わせることができる他の分子には、NK細胞の抑制性受容体のアンタゴニストまたはNK細胞の活性化受容体のアゴニスト、例えばKIRのアンタゴニスト（例えばリリルマブ）が含まれる。

【0167】

T細胞活性化は、可溶性サイトカインによっても調節され得る。いくつかの実施態様では、抗VISTA抗体は、T細胞活性化を阻害することを目的とするサイトカインのアンタゴニストまたはT細胞活性化を刺激するサイトカインのアゴニストと併用して投与することができる。例えば、抗VISTA抗体は、(i) T細胞活性化を阻害するIgSFファミリーもしくはB7ファミリーもしくはTNFファミリーのタンパク質のアンタゴニスト（または阻害剤または遮断剤）、またはT細胞活性化を阻害するサイトカイン（例：IL-6、IL-10、TGF-β、VEGF；「免疫抑制性サイトカイン」）のアンタゴニストおよび／あるいは(ii) T細胞活性化を刺激するIgSFファミリー、B7ファミリーもしくはTNFファミリーの刺激性受容体のアゴニスト、またはT細胞活性化を刺激するサイトカインのアゴニストと併用して使用され得る。

【0168】

併用療法のためのさらに他の薬剤には、RG7155（国際公開第11/70024号、国際公開第11/107553号、国際公開第11/131407号、国際公開第13/87699号、国際公開第13/119716号、国際公開第13/132044）またはFPA-008（国際公開第11/140249号、国際公開第13169264号、

国際公開第14／036357)を含むCSF-1Rアンタゴニスト抗体などのCSF-1Rアンタゴニストを含むがこれらに限定されない、マクロファージまたは単球を阻害または枯渇させる薬剤が含まれる。

【0169】

抗VISTA抗体は、TGF- β シグナル伝達を阻害する薬剤と共に投与することもできる。

【0170】

抗VISTA抗体と組み合わせることができる追加の薬剤には、腫瘍抗原提示を強化する薬剤、例えば樹状細胞ワクチン、GM-CSF分泌細胞ワクチン、CpGオリゴヌクレオチド、およびイミキモド、または腫瘍細胞の免疫原性を強化する治療薬（例：アントラサイクリン）が含まれる。

10

【0171】

抗VISTA抗体と組み合わせることができるさらなる他の療法には、Treg細胞を枯渇させるかまたは遮断する療法、例えばCD25に特異的に結合する薬剤が含まれる。

【0172】

抗VISTA抗体と組み合わせることができる別の療法には、インドールアミンジオキシゲナーゼ（IDO）、ジオキシゲナーゼ、アルギナーゼまたは一酸化窒素合成酵素等の代謝酵素を阻害する療法がある。

【0173】

抗VISTA抗体と共に使用することができる別のクラスの薬剤には、アデノシンの形成を阻害する薬剤、例えばCD73阻害剤、またはアデノシンA2A受容体を阻害する薬剤が含まれる。

20

【0174】

がんを治療するために抗VISTA抗体と組み合わせることができる他の療法には、T細胞アネルギーまたは消耗を逆転させる／防止する療法、ならびに腫瘍部位での自然免疫活性化および／または炎症を誘発する療法が含まれる。

【0175】

がんを治療するために抗VISTA抗体と組み合わせることができる他の療法には、IL-8を遮断する療法、例えば、HuMax（登録商標）-IL8を用いた療法が含まれる。

【0176】

抗VISTA抗体は、複数の免疫腫瘍学的薬剤と組み合わせることができ、例えば、免疫経路の複数の要素を標的とすることを目的とした以下のうちの1つ以上のコンビナトリアルアプローチと組み合わせることができる：腫瘍抗原提示を強化する療法（例：樹状細胞ワクチン、GM-CSF分泌細胞ワクチン、CpGオリゴヌクレオチド、イミキモド）；例えばCTLA-4および／もしくはPD1/PD-L1/PD-L2経路を阻害することにより、ならびに／またはTregもしくは他の免疫抑制細胞を枯渇させるかもしくは遮断することにより、負の免疫制御を阻害する療法；例えばCD-137、OX-40および／もしくはCD40もしくはGITR経路を刺激し、かつ／もしくはT細胞エフェクター機能を刺激するアゴニストを用いて、正の免疫制御を刺激する療法；抗腫瘍T細胞の頻度を全身的に増加させる療法；例えば、CD-25のアンタゴニストを用いて、またはex vivo抗CD25ビーズ枯渇によって腫瘍内のTregなどのTregを枯渇させるかもしくは阻害する療法；腫瘍内の抑制性骨髄系細胞の機能に影響を与える療法；腫瘍細胞の免疫原性を強化する療法（例：アントラサイクリン系）；遺伝子組換え細胞、例えば、キメラ抗原受容体によって組換えられた細胞を含む養子T細胞またはNK細胞移植（CAR-T療法）；インドールアミンジオキシゲナーゼ（IDO）、ジオキシゲナーゼ、アルギナーゼ、または一酸化窒素合成酵素などの代謝酵素を阻害する療法；T細胞アネルギーもしくは消耗を逆転させる／防止する療法；腫瘍部位での自然免疫活性化および／または炎症を誘発する療法；免疫刺激性サイトカインの投与；または免疫抑制性サイトカインの遮断。

30

40

【0177】

50

本明細書に記載の抗VISTA抗体は、正の共刺激受容体を結合する1または複数のアゴニスト剤；抑制性受容体を介したシグナル伝達を減衰させる遮断剤；アンタゴニスト；および抗腫瘍T細胞の頻度を全身的に増加させる1または複数の薬剤；腫瘍微小環境内の異なる免疫抑制経路を弱らせる（例えば、抑制性受容体結合（例：PD-L1/PD-1相互作用）を遮断する、（例えば抗CD25モノクローナル抗体（ダクリズマブなど））を使用して、または*ex vivo*抗CD25ビーズ枯渇によって）Tregを枯渇させるかもしくは阻害する）、IDOのような代謝酵素を阻害する、またはT細胞アネルギーもしくは枯渇を逆転させる／防ぐ）薬剤；ならびに腫瘍部位における自然免疫活性化および／または炎症を誘発する薬剤と一緒に使用され得る。

【0178】

特定の実施態様では、抗VISTA抗体は、対象がBRAF V600突然変異陽性である場合、BRAF阻害剤と一緒に対象に投与される。

【0179】

本明細書に記載の併用療法で使用するのに適したPD-1アンタゴニストには、リガンド、抗体（例：モノクローナル抗体および二重特異性抗体）および多価の薬剤が含まれるが、これらに限定されない。一実施態様では、PD-1アンタゴニストは、融合タンパク質、例えば、AMP-244などのFc融合タンパク質である。いくつかの実施態様では、PD-1アンタゴニストは、抗PD-1または抗PD-L1抗体である。

【0180】

例示的な抗PD-1抗体は、ニボルマブ（BMS-936558）、または国際公開第2006/121168号に記載の抗体17D8、2D3、4H1、5C4、7D3、5F4および4A11のうちの1つのCDRもしくは可変領域を含む抗体である。特定の実施態様では、抗PD-L1抗体は、国際公開第2012/145493号に記載のMK-3475（ランプロリズマブ）；国際公開第2012/145493号に記載のAMP-514；またはPDR001である。さらに既知のPD-1抗体および他のPD-1阻害剤には、国際公開第2009/014708号、国際公開第03/099196号、国際公開第2009/114335号、国際公開第2011/066389号、国際公開第2011/161699号、国際公開第2012/145493号、米国特許第7635757号および第8217149号、ならびに米国特許出願公開第2009/0317368号に記載のものが含まれる。また、国際公開第2013/173223号で開示されている抗PD-1抗体のいずれも使用することができる。これらの抗体のうちの1つとの結合に関して競合する抗PD-1抗体、および／またはこれらの抗体のうちの1つと同じ、PD-1上のエピトープに結合する抗PD-1抗体もまた、併用治療において使用することができる。

【0181】

いくつかの実施態様では、併用療法に有用な抗PD-L1抗体は、BMS-936559（国際公開第2007/005874号および米国特許第7943743号において12A4と呼ばれる）または国際公開第07/005874号および米国特許第7943743号に記載されている3G10、12A4、10A5、5F8、10H10、1B12、7H1、11E6、12B7および13G4のCDRまたは可変領域を含む抗体である。特定の実施態様では、抗PD-L1抗体は、MED14736（デュルバルマブおよび抗B7-H1としても知られている）、MPDL3280A（アテゾリズマブおよびRG7446としても知られている）、MSB0010718C（アベルマブとしても知られている；国際公開第2013/79174号）またはrHiGM12B7である。また、国際公開第2013/173223号、国際公開第2011/066389号、国際公開第02012/145493号、米国特許第7635757号および第8217149号、ならびに米国特許出願公開第2009/145493号に開示されている抗PD-L1抗体のいずれも使用することができる。また、これらの抗体のいずれかと競合する抗PD-L1抗体および／またはこれらの抗体のいずれかのエピトープと同じエピトープに結合する抗PD-L1抗体も、併用治療で使用することができる。

10

20

30

40

50

【0182】

特定の実施態様では、本開示の抗VISTA抗体は、CTLA-4アンタゴニスト、例えば抗CTLA-4抗体と共に使用することができる。一実施態様では、抗CTLA-4抗体は、ヤーボイ（登録商標）（イピリムマブまたは抗体10D1、国際公開第01/14424号に記載）、トレメリムマブ（旧チシリマブ、CP-675, 206）、国際公開第98/42752号；国際公開第00/37504号；米国特許第6207156号；Hurwitz et al. (1998) Pro. Natl. Acad. Sci. USA 95. 17 10067-10071；Camacho et al. (2004) J. Clin. Oncology 22 (145)：抄録番号2505（抗体CP-675206）；およびMokyr et al. (1998) Cancer Res. 58 (5301-5304) のいずれかの刊行物に記載されているモノクローナルまたは抗CTLA-4抗体の群から選択される抗体である。また、国際公開第2013/173223号で開示されている抗CTLA-4抗体のいずれも使用することができる。

10

【0183】

いくつかの実施態様では、本開示の抗VISTA抗体は、LAG3アンタゴニストと併せて使用される。抗LAG3抗体の例には、米国特許出願公開第2011/0150892号、国際公開第10/19570号および国際公開第2014/008218号に記載されている抗体25F7、26H1、25E3、8B7、11F2または17E5のCDRまたは可変領域を含む抗体が含まれる。一実施態様では、抗LAG-3抗体はBMS-986016である。使用できる他の技術的に認められた抗LAG-3抗体には、米国特許出願公開第2011/007023号、国際公開第08/132601号および国際公開第09/44273号に記載のIMP731およびIMP-321が含まれる。また、これらの抗体のいずれかと競合する抗LAG-3抗体および／またはこれらの抗体のいずれかのエピトープと同じエピトープに結合する抗PD-L1抗体も、併用治療で使うことができる。

20

【0184】

いくつかの実施態様では、本開示の抗VISTA抗体は、アゴニストCD137抗体などのCD137（4-1BB）アゴニストと併せて投与することができる。適切なCD137抗体には、例えばウレルマブまたはPF-05082566（国際公開第12/32433号）が含まれる。

30

【0185】

いくつかの実施態様では、抗VISTA抗体は、アゴニストOX40抗体などのOX40アゴニストと併せて投与することができる。適切なOX40抗体には、例えばMED1-6383、MED1-6469またはMOXR0916（RG7888；国際公開第06/029879号）が含まれる。

【0186】

一実施態様では、抗VISTA抗体は、アゴニストCD40抗体などのCD40（CD40）アゴニストと併せて投与することができる。特定の実施態様では、免疫腫瘍学的薬剤は、アンタゴニストCD40抗体などのCD40アンタゴニストである。適切なCD40抗体には、例えばルカツムマブ（HCD122）、ダセツズマブ（SGN-40）、CP-870, 893またはChiLob 7/4が含まれる。

40

【0187】

一実施態様では、抗VISTA抗体は、アゴニストCD27抗体などのCD27（CD40）アゴニストと併せて投与することができる。適切なCD27抗体には、例えばバルリルマブ（CDX-1127）が含まれる。

【0188】

特定の実施態様では、抗VISTA抗体は、抗GITR抗体、例えば、国際公開第2006/105021号に記載されているような、6C8のCDR配列を有する抗体、例えば6C8のCDR配列を有するヒト化抗体；国際公開第2011/028683号に記載の、抗GITR抗体のCDRを含む抗体；JP第2008278814号に記載の、抗GI

50

T R抗体のCDRを含む抗体；国際公開第2015/031667号、国際公開第2015/187835号、国際公開第2015/184099号、国際公開第2016/054638号、国際公開第2016/057841号もしくは国際公開第2016/057846号に記載の、抗GITR抗体のCDRを含む抗体又は本明細書に記載または言及されている他の抗GITR抗体と一緒に投与される。

【0189】

いくつかの実施態様では、抗VISTA抗体は、MGA271（対B7H3）（国際公開第11/109400号）と併せて投与される。

【0190】

いくつかの実施態様では、抗VISTA抗体は、リリルマブなどのKIRアンタゴニストと併せて投与される。

【0191】

いくつかの実施態様では、抗VISTA抗体は、IDOアンタゴニストと併せて投与される。適切なIDOアンタゴニストには、例えばINCB-024360（国際公開第2006/122150号、国際公開第07/75598号、国際公開第08/36653号、国際公開第08/36642）、インドキシモド、NLG-919（国際公開第09/73620号、国際公開第09/1156652号、国際公開第11/56652号、国際公開第12/142237号）またはF001287が含まれる。

【0192】

いくつかの実施態様では、抗VISTA抗体は、Toll様受容体アゴニスト、例えばTLR2/4アゴニスト（例：無菌化ウシ型結核菌）；TLR7アゴニスト（例：ヒルトノール（Hiltonol）またはイミキモド）；TLR7/8アゴニスト（例：レシキモド）；またはTLR9アゴニスト（例：CpG7909）と併せて投与される。

【0193】

一実施態様では、抗VISTAは、TGF- β 阻害剤、例えばGC1008、LY2157299、TEW7197またはIMC-TR1と併用して投与される。

【0194】

特定の実施態様では、抗VISTA剤、例えば抗体は、抗PSGL-1抗体と共に投与される。

【0195】

追加の併用療法

本明細書のAbはまた、他の治療様式、例えば手術、化学療法、放射線療法、または別の治療用抗体などの生物製剤の投与の前、実質的に同時、または後に提供されてもよい。いくつかの実施態様では、がんは、手術、化学療法および放射線療法、またはこれらの組み合わせから選択される療法の後に再発または進行したものである。例えば、本明細書に記載される抗VISTA抗体は、微小転移が存在し得るリスクがある場合、および／または再発のリスクを低減するために、補助療法として投与され得る。

【0196】

がんの治療の場合、組み合わせは、化学療法剤、成長抑制剤、遺伝子治療ワクチンなどの抗がんワクチン、抗血管新生剤および／または抗悪性腫瘍組成物のような1もしくは複数の追加の抗がん剤と共に投与することができる。本発明の抗体と併せて使用することができる化学療法剤、成長抑制剤、抗がんワクチン、抗血管新生剤および抗悪性腫瘍組成物の非限定的な例は、本明細書においては「定義」の項で提供される。

【0197】

いくつかの実施態様では、抗炎症薬は、ステロイドまたは非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）など、組み合わせで投与されてもよい。本明細書に記載の抗VISTA抗体による治療と併せて、またはその前に異常増殖細胞を休止状態にすることが望ましい場合、ホルモンおよびステロイド（合成アナログを含む）、例えば17 α -エチニルエストラジオール、ジエチルスチルベストロール、テストステロン、プレドニゾン、フルオキシメステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、テストラクトン、メゲストロールアセテート、メ

10

20

30

40

50

チルプレドニゾロン、メチルテストステロン、プレドニゾン、トリアムシノロン、クロロトリアニセン、ヒドロキシprogesteron、アミノグルテチミド、エストラムスチン、メドロキシprogesteronアセテート、ロイプロリド、フルタミド、トレミフェン、ゾラデックス（登録商標）も患者に投与可能である。本明細書に記載の方法または組成物を使用する場合、抗模倣薬などの、臨床設定での腫瘍成長または転移の調節に使用される他の薬剤も、所望に応じて投与することができる。

【0198】

本明細書に記載の抗体はまた、免疫原性物質、例えば癌細胞、精製腫瘍抗原（組換えタンパク質、ペプチドおよび炭水化物分子を含む）、細胞、および免疫刺激性サイトカインをコードする遺伝子でトランスフェクトされた細胞と組み合わせることができる（He et al., (2004) J. Immunol. 173 (4919-28)）。使用することができる腫瘍ワクチンの非限定的な例には、黒色腫抗原のペプチド、例えば、gp100、MAGE抗原、Trp-2、MART1および／またはチロシナーゼのペプチド、またはサイトカインGM-CSFを発現するようにトランスフェクトされた腫瘍細胞（以下でさらに議論される）が含まれる。

【0199】

ヒトでは、黒色腫などのいくつかの腫瘍が免疫原性であることが示されている。VISTA抑制を介してT細胞活性化の閾値を下げることにより、宿主の腫瘍応答を活性化し、非免疫原性腫瘍または免疫原性が限られている腫瘍の治療を可能にすることができる。

【0200】

本明細書に記載されている抗VISTA抗体は、ワクチン接種プロトコルと組み合わせることもできる。腫瘍に対するワクチン接種のための多くの実験的戦略が考案されてきた（Rosenberg, S., 2000, Development of Cancer Vaccines, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis, C, 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302; Khayat, D. 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428; Foon, K. 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738を参照；また、DeVita et al. (編), 1997, Cancer: Principles and Practice of Oncology, 第5版のRestifo, N. およびSznol, M., Cancer Vaccines, 第61章, 3023-3043頁も参照）。これらの戦略の1つでは、自己または同種異系腫瘍細胞を使用してワクチンが調製される。これらの細胞ワクチンは、腫瘍細胞がGM-CSFを発現するように形質導入されるときに最も効果的であることが示されている。GM-CSFは、腫瘍ワクチン接種のための抗原提示の強力な活性化剤であることが示されている（Dranoff et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A. 90: 3539-43）。

【0201】

様々な腫瘍における遺伝子発現および大規模な遺伝子発現パターンの研究により、いわゆる腫瘍特異的抗原の定義が導かれた（Rosenberg, S A (1999) Immunity 10: (281-7)）。多くの場合、これらの腫瘍特異的抗原は、腫瘍および腫瘍が発生した細胞内で発現される分化抗原であり、例えばメラノサイト抗原gp100、MAGE抗原およびTrp-2である。さらに重要なことに、これらの抗原の多くは、宿主に見られる腫瘍特異的T細胞の標的であることが示されている。VISTA抑制は、これらのタンパク質に対する免疫応答を生成するために、腫瘍内で発現した組換えタンパク質および／またはペプチドの集合体と併せて用いることができる。これらのタンパク質は、通常、免疫系によって自己抗原と見なされ、したがって、それらに対して耐性を有する。腫瘍抗原は、染色体のテロメアの合成に必要であり、ヒトがんの85%以上で発現し、限られた数の体細胞組織でしか発現しないタンパク質テロメラーゼを含むことができる（Kim et al. (1994) Science 266: (2011-2013)）。腫瘍抗原はまた、タンパク質配列を変更するか、または無関係な2つの配列の間に融合タンパク質を作る体細胞突然変異（すなわちフィラデルフィア染色体のbcr-abl）またはB細胞腫瘍からのイディオタイプのために、がん細胞において発現する「ネオ抗原」であり得る。

【0202】

他の腫瘍ワクチンは、ヒトパピローマウイルス（HPV）、肝炎ウイルス（HBVおよび

10

20

30

40

50

H C V) およびカポジヘルペス肉腫ウイルス (K H S V) のようなヒトがんに関与するウイルスからのタンパク質を含むことができる。V I S T A 抑制と併せて使用することができる別の形態の腫瘍特異的抗原は、腫瘍組織自体から単離された精製熱ショックタンパク質 (H S P) である。これらの熱ショックタンパク質は腫瘍細胞からのタンパク質の断片を含み、これらの H S P は腫瘍免疫を誘発するための抗原提示細胞への送達において非常に効率的である (Suot & Srivastava (1995) Science 269: 1585-1588; Tamura et al. (1997) Science 278: 117-120)。

【0203】

また、腫瘍溶解性ウイルスは、V I S T A 抗体と併せて使用することができる。

【0204】

樹状細胞 (D C) は、抗原特異的応答を促進するために使用できる強力な抗原提示細胞である。D C は、e x v i v o で産生され、様々なタンパク質およびペプチド抗原、ならびに腫瘍細胞抽出物を負荷することができる (Nestle et al. (1998) Nature Medicine 4: (328-332)。D C はまた、これらの腫瘍抗原を同様に発現するように遺伝的手段によって形質導入することができる。D C はまた、免疫化の目的で腫瘍細胞に直接融合されている (Kugler et al. (2000) Nature Medicine 6:332-336)。ワクチン接種の方法として、D C 免疫化を V I S T A 抑制と効果的に組み合わせて、より強力な抗腫瘍応答を活性化することができる。

【0205】

感染症治療

本明細書に記載の方法は、特定の毒素または病原体に曝された患者を治療するためにも用いることができる。したがって、本開示はまた、対象が感染症について治療されるように、対象に本明細書に記載の抗体、例えばアンタゴニスト V I S T A 抗体を投与することを含む、対象における感染症を治療する方法を企図している。上述の腫瘍への適用と同様に、抗体媒介性 V I S T A 抑制は、単独で、またはアジュバントとして、病原体、毒素および自己抗原に対する免疫応答を刺激するためにワクチンと併せて使用することができる。この療法が特に有用であると考えられる病原体の例には、現在有効なワクチンが存在しない病原体、または従来のワクチンが完全に有効ではない病原体が含まれる。これらには、H I V、肝炎 (A、B および C)、インフルエンザ、ヘルペス、ジアルジア、マラリア、リーシュマニア、黄色ブドウ球菌、緑膿菌等が含まれるが、これらに限定されない。V I S T A 抑制は、H I V など、感染の過程で変化した抗原を提示する病原体による確立された感染症に対して有効であり得る。

【0206】

本明細書に記載の方法によって治療可能であり得る感染症を引き起こす病原性ウイルスのいくつかの例には、H I V、肝炎 (A、B または C)、ヘルペスウイルス (例: V Z V、H S V - 1、H A V - 6、H S V - I I および C M V、エプスタイン・バーウイルス)、アデノウイルス、インフルエンザウイルス、フラビウイルス、エコーウイルス、ライノウイルス、コクサッキーウイルス、コロナウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、おたふく風邪ウイルス、ロタウイルス、麻疹ウイルス、風疹ウイルス、パルボウイルス、ワクシニアウイルス、H T L V ウイルス、デングウイルス、パピローマウイルス、軟属腫ウイルス、ポリオウイルス、狂犬病ウイルス、J C ウイルス、およびアルボウイルス脳炎ウイルスが含まれる。

【0207】

本明細書に記載の方法により治療可能な感染症を引き起こす病原性細菌のいくつかの例には、クラミジア、病原体リケッチア、マイコバクテリア、ブドウ球菌、レンサ球菌、肺炎球菌、髄膜炎菌および淋菌、肺炎桿菌、プロテウス、セラチア菌、シュドモナス、レジオネラ菌、ジフテリア菌、サルモネラ菌、桿菌、コレラ菌、破傷風菌、ボツリヌス菌、炭疽菌、ペスト菌、レプトスピラ菌およびライム病 (L y m e s d i s e a s e) 菌が含まれる。

【0208】

本明細書に記載の方法によって治療可能であり得る感染症を引き起こす病原性真菌のいくつかの例には、カンジダ属（アルビカンス、クルセイ、グラブラタ、トロピカリス等）、クリプトコッカス属ネオフォルマンス、アスペルギルス属（フミガーツス、ニガー等）、ムコール目（Genus Mucorales）（ムコール属、アブシジア属、リゾプス属）、スポロシリックス・シェンキー、プラストミセス・デルマチチジス、南アメリカ分芽菌、コクシジオイデス・イミチス、およびヒストプラズマ・カプスラーツムが含まれる。

【0209】

本明細書に記載の方法により治療可能な感染症を引き起こす病原性寄生虫のいくつかの例には、赤痢アメーバ、大腸バランチジウム、フォーラーネグレリア、アカントアメーバ（*Acanthamoeba* sp.）、ランブル鞭毛虫、クリプトスポリジウム（*Cryptosporidium* sp.）、カリニ肺炎菌、三日熱マラリア原虫、ネズミバベシア、ブルセイトリパノソマ、クルーズトリパノソマ、ドノバンリーシュマニア、トキソプラズマ原虫およびブラジル鉤虫が含まれる。

【0210】

上記の方法全てにおいて、VISTA抑制は、免疫療法の他の形態、例えば、サイトカイン治療（例えばインターフェロン、GM-CSF、G-CSF、IL-2）などの本明細書に記載されたもの、または腫瘍抗原の強化された提示を提供し得る二重特異性抗体療法と組み合わせることができる（例えばHolliger (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak (1994) Structure 2: 1121-1123参照）。

【0211】

投与経路および担体

様々な実施態様において、抗体は、経口、動脈内、非経口、鼻腔内、筋肉内、心臓内、脳室内、気管内、口腔内、直腸内、腹腔内、皮内、局所、経皮、髄腔内を含むがこれらに限定されない様々な経路によって、または移植もしくは吸入によるその他の方法によって *in vivo* 投与することができる。被験組成物は、錠剤、カプセル剤、粉末、顆粒剤、軟膏、溶液、坐剤、浣腸剤、注射剤、吸入剤およびエアゾールを含むがこれらに限定されない、固体、半固体、液体または気体の形態の製剤に製剤化され得る。抗体をコードする核酸分子は、文献に記載されているように、金微粒子上にコーティングされ、粒子衝撃装置または「遺伝子銃」によって皮内送達され得る（例えば、Tang et al., Nature 356:152-154 (1992)参照）。適切な製剤および投与経路は、意図された用途に応じて選択され得る。

【0212】

様々な実施態様では、抗体を含む組成物は、薬学的に許容される様々な担体を含む製剤で提供される（例えば、Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus, 20th ed. (2003); Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004); Kibbe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd ed., Pharmaceutical Press (2000)参照）。ビヒクル、アジュバントおよび希釈剤等、種々の薬剤学的に許容される担体が利用可能である。さらに、pH調整剤および緩衝剤、等張化剤、安定剤、湿潤剤等の様々な薬学的に許容される補助物質も利用可能である。非限定的かつ例示的な担体には、生理食塩水、緩衝生理食塩水、ブドウ糖、水、グリセロール、エタノール、およびこれらの組み合わせが含まれる。

【0213】

様々な実施態様において、抗体を含む組成物を、植物性または他の油、合成脂肪族酸グリセリド、高級脂肪族酸のエステルまたはプロピレングリコール等の水性または非水性溶媒中に溶解、懸濁または乳化させることにより、皮下投与を含む注射用に製剤化してもよく、また、所望により可溶化剤、等張化剤、懸濁化剤、乳化剤、安定化剤および防腐剤等の一般的な添加剤と一緒に製剤化してもよい。様々な実施態様において、組成物は、例えばジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素等の加圧された許容される噴射剤を使用して、吸入のために製剤化されてもよい。組成物はまた、様々な実施態様において、生分解性

または非生分解性ポリマーなどの徐放性マイクロカプセルに製剤化されてもよい。非限定かつ例示的な生分解性製剤には、ポリ乳酸-グリコール酸ポリマーが含まれる。非限定かつ例示的な非生分解性製剤には、ポリグリセリン脂肪酸エステルが含まれる。このような製剤を作製する特定の方法は、例えばEP第1125584号に記載されている。

【0214】

抗体または抗体の組み合わせの1または複数の用量をそれぞれ含む1または複数の容器を備えた医薬パックおよびキットも提供される。いくつかの実施態様では、単位投与量が提供され、ここで、単位投与量は、抗体または抗体の組み合わせを含む組成物の所定量を、1または複数の追加剤の有無にかかわらず、含んでいる。いくつかの実施態様では、そのような単位投与量は、注射のための使い捨てのプレフィルドシリンジで提供される。様々な実施態様では、単位投与量に含まれる組成物は、生理食塩水、スクロースもしくは類似のもの；リン酸塩などの緩衝液もしくは類似のものを含み；かつ／または安定で有効なpH範囲内で配合される。あるいは、いくつかの実施態様では、組成物は、適切な液体、例えば滅菌水を添加すると再構成され得る凍結乾燥粉末として提供され得る。いくつかの実施態様では、組成物は、スクロースおよびアルギニンを含むがこれらに限定されない、タンパク質の凝集を阻害する1または複数の物質を含む。いくつかの実施態様では、本発明の組成物は、ヘパリンおよび／またはプロテオグリカンを含む。

【0215】

薬学的組成物は、特定の適応症の治療または予防に有効な量で投与される。治療有効量は、典型的には、治療される対象の体重、対象の体調もしくは健康状態、治療されるべき状態の広範さ、または治療される対象の年齢に依存する。一般に、抗体は、体重1kg当たり1回約10μg/kgから約100mgの範囲の量で投与される。いくつかの実施態様では、抗体は、体重1kg当たり1回約50μg/kgから約5mgの範囲の量で投与される。いくつかの実施態様では、抗体は、体重1kg当たり1回約100μg/kgから約10mgの範囲の量で投与される。いくつかの実施態様では、抗体は、体重1kg当たり1回約100μg/kgから約20mgの範囲の量で投与される。いくつかの実施態様では、抗体は、体重1kg当たり1回約0.5mg/kgから約20mgの範囲の量で投与される。

【0216】

本抗体組成物は、必要に応じて対象に投与することができる。投与頻度の決定は、例えば治療される状態、治療される対象の年齢、治療される状態の重症度、治療される対象の全体的な健康状態等の考慮事項に基づいて、主治医などの当業者によってなされ得る。いくつかの実施態様では、抗体の有効量が、1回または複数回対象に投与される。様々な実施態様では、抗体の有効用量は、月に1回、月に1回未満、例えば2ヶ月ごとまたは3ヶ月ごとなどに対象に投与される。他の実施態様では、抗体の有効量は、月に1回より多く、例えば3週間ごと、2週間ごと、または毎週など、投与される。いくつかの実施態様では、抗体の有効量は、1、2、3、4または5週間に1回投与される。いくつかの実施態様では、抗体の有効量は、週に2回または3回投与される。抗体の有効量は、少なくとも1回対象に投与される。いくつかの実施態様では、抗体の有効量は、少なくとも1カ月、少なくとも6カ月、または少なくとも1年にわたる期間、複数回投与され得る。

【0217】

特定の実施態様では、本明細書で論じた抗VISTA抗体と第2剤との組み合わせを、薬学的に許容される担体中の単一の組成物として同時に投与することができ、または薬学的に許容される担体中の、それぞれ抗VISTA抗体および第2剤を含む別々の組成物として同時に投与することができる。一実施態様では、抗VISTA抗体と第2剤との組み合わせは、連続的に投与することができる。この2つの薬剤の投与は、例えば30分、60分、90分、120分、3時間、6時間、12時間、24時間、36時間、48時間、3日、5日、7日、もしくは1週間以上時間を空けて開始することができ、または第2の薬剤の投与は、第1剤が投与された後、例えば30分、60分、90分、120分、3時間、6時間、12時間、24時間、36時間、48時間、3日、5日、7日、もしくは1週

間以上時間を空けて開始することができる。

【0218】

低pH結合hVISTA-ECDAbの同定方法

また、本明細書では、酸性（または低pH）条件下でVISTA-ECDTンパク質に特異的に結合するAbを同定するための方法も提供される。特定の実施態様では、pH6.5以下でVISTA-ECDTンパク質に特異的に結合するAbを同定するための方法は、pH6.5以下でVISTA-ECDTンパク質に1または複数の試験Abを接触させることと、それが 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M以下のKDでVISTAタンパク質のECDに結合していれば、その試験Abを選択することからなる。いくつかの実施態様では、この方法はpH6.5で実施されるが、他の実施態様では、pH6.0またはpH5.5またはpH5.0で行われる。いくつかの実施態様では、VISTA-ECDTンパク質は、hVISTA-ECDTンパク質であるか、あるいはhVISTA IgVドメインを含むか、あるいは配列番号2のアミノ酸20-95を含むかまたは配列番号2のアミノ酸20-70、35-95もしくは35-70を含むポリペプチドである。いくつかの実施態様において、ポリペプチドはまた、配列番号2のアミノ酸95-105を含む。いくつかの実施態様では、ポリペプチドは、配列番号2のアミノ酸35-127または37-125を含む。

【0219】

いくつかの実施態様では、本方法は、pH7.0またはpH7.4などの中性、生理的またはアルカリ性pHで、1または複数の試験Abの結合を試験することをさらに含む。いくつかの実施態様では、本方法は、抗体がpH6.5以下で 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M以下のKDでVISTA-ECDTンパク質に結合するだけでなく、pH7.0またはpH7.4でもポリペプチドに特異的に結合すれば、それを選択することを含む。試験Abは、酸性条件下、例えばpH6.5以下でVISTA-ECDTンパク質に特異的に結合し、また、中性および／もしくはアルカリ性pHでも、同様の親和性でVISTA-ECDTンパク質に特異的に結合すれば、選択される（すなわち、それらは「panバインダー」である）。例えば、いくつかのこのようなAbの中には、pH6.5でのKDがpH7.0でのKDの1.5倍以内であるような、（例えば25℃または37℃の一定温度で）pH6.5とpH7.0の両方またはpH7.4で 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M以下のKDでVISTA-ECDTンパク質に結合するものもある。

【0220】

特定のAbは、酸性条件下、例えばpH6.5以下で、中性またはアルカリ性のpHでもりも高い親和性でVISTA-ECDTンパク質に特異的に結合する場合、選択される（「pH感受性バインダー」または「pH感受性Ab」）。例えば、いくつかの実施態様では、Abは、pH6.5では 10^{-8} M以下のKDで、かつ、pH7.0またはpH7.4では 10^{-8} Mを上回るKDで、VISTA-ECDTンパク質に結合し得る。いくつかのこのような実施態様では、Abは、pH6.5においては 10^{-8} M以下のKDで、かつ、pH7.0またはpH7.4においては、pH6.5でのKDの1.5倍を超えるKDでVISTA-ECDTンパク質に結合し得る。特定の実施態様では、pH感受性Abは、（例えば25℃または37℃の一定温度で）pH6.5において、pH7.0またはpH7.4におけるKDの3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下、100分の1以下、300分の1以下、500分の1以下、1000分の1以下、または5000分の1以下のKDでVISTA-ECDTンパク質に特異的に結合する場合、選択される。例えば、場合によってAbは、（例えば25℃または37℃の一定温度で）pH6.0において、pH7.0またはpH7.4以上におけるKDと比較して、3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下、100分の1以下、300分の1以下、500分の1以下、1000分の1以下、または5000分の1以下のKDでVISTA-ECDTンパク質に結合する場合、選択される。

【0221】

10

20

30

40

50

特定の実施態様では、A bは、中性、生理的またはアルカリ性条件におけるよりも酸性条件においてより低い k_{off} でV I S T A - E C Dタンパク質に結合する場合、選択される。特定の実施態様では、A bは、例えば25℃か37℃で測定して、酸性条件下、pH 6.5においては、pH 7.0またはpH 7.4における k_{off} の3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下または100分の1以下の k_{off} でV I S T A - E C Dタンパク質に結合する場合、選択される。例えば、いくつかの実施態様では、A bは、25℃か37℃で測定して、pH 6.0においては、pH 7.0またはpH 7.4における k_{off} 速度の3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下または100分の1以下の k_{off} 速度でV I S T A - E C Dタンパク質に結合する場合、選択される。

10

【0222】

特定の実施態様では、A bは、中性またはアルカリ性条件におけるよりも酸性条件においてより高い k_{on} でV I S T A - E C Dタンパク質に結合する場合、選択される。特定の実施態様では、A bは、例えば25℃か37℃で測定して、酸性条件下、pH 6.5においては、pH 7.0またはpH 7.4における k_{on} の2倍以上、5倍以上、10倍以上、20倍以上、50倍以上または100倍以上の k_{on} でV I S T A - E C Dタンパク質に結合する場合、選択される。例えば、いくつかの実施態様では、A bは、例えば25℃か37℃で測定して、pH 6.0においては、pH 7.0またはpH 7.4における k_{on} の2倍以上、5倍以上、10倍以上、20倍以上、50分倍以上または100倍以上の k_{on} でV I S T A - E C Dタンパク質に結合する場合、選択される。

20

【0223】

V I S T A - E C D結合抗体のpH感受性を変化させる方法

V I S T A - E C Dタンパク質に結合するが、pH 6.5以下では結合しない、またはpH 6.5以下では高親和性で結合しないA bを、pH 6.5以下でその結合の親和性を高めるように操作することができる。例えば、A bのパラトープを、例えば、1または複数のアミノ酸残基の置換により、突然変異させることができる。例えば、いくつかの実施態様では、V I S T A - E C Dとの接触残基である、A bの重鎖または軽鎖の1から8つ、例えば1から6つ、1から4つ、1から3つ、1から2つ、または1つのアミノ酸残基（例えば、1つまたは複数のCDR内の残基）を、異なるアミノ酸残基で置き換えてもよい。その後、突然変異させたA bをpH 6.5以下でV I S T A - E C Dタンパク質への結合について試験し、親抗体よりも高い親和性で結合するA b種を選択することができる。所望に応じて、上記の工程を繰り返して、2ラウンド以上の変異誘発と選択をA bで行い、酸性pHで最も高い親和性を示すバインダーを選択することができる。いくつかの実施態様では、このような選択は、その親よりも得られる抗体の抗腫瘍効果を改善し得る。

30

【0224】

上記の選択方法は、抗体に特異的に結合するV I S T A - E C Dタンパク質についての前述の一般的な選択に従うように設計することもできる。すなわち、特定の実施態様では、改善されたA bは、それがpH 6.5で 10^{-8} M以下の K_D でV I S T Aタンパク質のE C Dに結合する場合、選択される。いくつかの実施態様では、選択は、pH 6.5ではなく、pH 6.0、またはpH 5.5、またはpH 5.0で行われる。いくつかの実施態様では、選択プロセスに使用されるV I S T A - E C Dタンパク質は、完全なh V I S T A - E C Dタンパク質であるか、あるいはh V I S T A I g Vドメインを含むポリペプチドであるか、あるいは配列番号2のアミノ酸20-95を含むか、または配列番号2のアミノ酸20-70、35-95もしくは35-70を含むポリペプチドである。いくつかの実施態様において、ポリペプチドはまた、配列番号2のアミノ酸95-105を含む。いくつかの実施態様において、配列番号2のアミノ酸残基35-127を含むポリペプチドが使用される。

40

【0225】

いくつかの実施態様では、酸性pHでのV I S T A E C Dに対するV I S T A抗体の結合を改善するための方法は、1つまたは複数のV HもしくはV L C D R、例えばV H C

50

DR1、CDR2およびCDR3、またはVH CDR1およびCDR3のみにおいてグルタミン酸、アスパラギン酸および／またはヒスチジン残基の数を増加させることを含む。特定の実施態様では、方法は、例えば、結晶学によって決定される、hVISTAに接触する抗体の領域におけるグルタミン酸、アスパラギン酸および／またはヒスチジン残基の数を増加させることを含む。

【0226】

いくつかの実施態様では、方法は、選択されたAbの結合を、中性、アルカリ性または生理的pH、例えばpH7.0または7.4で試験することをさらに含む。いくつかの実施態様では、本方法は、抗体がpH6.5以下で 10^{-8} M以下のKDでVISTA-ECDTタンパク質に結合するだけでなく、pH7.0またはpH7.4でもポリペプチドに特異的に結合すれば、それを選択することを含む。いくつかのこのような実施態様では、Abは、酸性条件下、例えばpH6.5以下でVISTA-ECDTタンパク質に特異的に結合し、また、中性および／もしくはアルカリ性もしくは生理的pHでも、同様の親和性でVISTA-ECDTタンパク質に特異的に結合すれば、選択される（すなわち、それらは「panバインダー」である）。例えば、いくつかのこのようなAbの中には、pH6.5でのKDがpH7.0またはpH7.4でのKDの1.5倍以内であるような、（例えば25℃または37℃の一定温度で）pH6.5およびpH7.0の両方で 10^{-8} M以下のKDでVISTA-ECDTタンパク質に結合するものもある。

【0227】

特定のAbは、酸性条件下、例えばpH6.5以下で、中性、生理的またはアルカリ性のpHでよりも高い親和性でVISTA-ECDTタンパク質に特異的に結合する場合、選択される（「pH感受性バインダー」または「pH感受性Ab」）。例えば、いくつかの実施態様では、Abは、pH6.5では 10^{-8} M以下のKDで、かつ、pH7.0では 10^{-8} Mを上回るKDで、VISTA-ECDTタンパク質に結合し得る。いくつかのこのような実施態様では、Abは、pH6.5においては 10^{-8} M以下のKDで、かつ、pH7.0においては、pH6.5でのKDの1.5倍を超えるKDでVISTA-ECDTタンパク質に結合し得る。特定の実施態様では、pH感受性Abは、（例えば25℃または37℃の一定温度で）pH6.5において、pH7.0またはpH7.4におけるKDの3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下、100分の1以下、300分の1以下、500分の1以下、1000分の1以下、または5000分の1以下のKDでVISTA-ECDTタンパク質に特異的に結合する場合、選択される。例えば、場合によってAbは、（例えば25℃または37℃の一定温度で）pH6.0において、pH7.0またはpH7.4以上におけるKDと比較して、3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下、100分の1以下、300分の1以下、500分の1以下、1000分の1以下、または5000分の1以下のKDでVISTA-ECDTタンパク質に結合する場合、選択される。

【0228】

特定の実施態様では、方法は、2つのpH値での k_{off} を決定することをさらに含む。いくつかの実施態様では、Abは、中性、生理的またはアルカリ性条件におけるよりも酸性条件においてより低い k_{off} でVISTA-ECDTタンパク質に結合する場合、選択される。特定の実施態様では、Abは、例えば25℃または37℃で測定して、酸性条件下、pH6.5においては、pH7.0またはpH7.4における k_{off} の3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下または100分の1以下の k_{off} でVISTA-ECDTタンパク質に結合する場合、選択される。例えば、いくつかの実施態様では、Abは、25℃か37℃で測定して、pH6.0においては、pH7.0における k_{off} 速度の3分の2以下、2分の1以下、5分の1以下、10分の1以下、20分の1以下、50分の1以下または100分の1以下の k_{off} 速度でVISTA-ECDTタンパク質に結合する場合、選択される。

【0229】

特定の実施態様では、方法は、2つのpH値における k_{on} を決定することをさらに含む。いくつかのこのような実施態様では、Abは、中性、生理的またはアルカリ性条件におけるよりも酸性条件においてより高い k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合する場合、選択される。特定の実施態様では、Abは、例えば25℃か37℃で測定して、酸性条件下、pH6.5においては、pH7.0またはpH7.4における k_{on} の2倍以上、5倍以上、10倍以上、20倍以上、50倍以上または100倍以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合する場合、選択される。例えば、いくつかの実施態様では、Abは、例えば25℃か37℃で測定して、pH6.0においては、pH7.0またはpH7.4における k_{on} の2倍以上、5倍以上、10倍以上、20倍以上、50倍以上または100倍以上の k_{on} でVISTA-ECDタンパク質に結合する場合、選択される。

10

【0230】

酸性pHにおいて中性pHまたは生理的pHにおけるよりもhVISTAに優先的に結合する抗体は、酸性pH、例えばpH6.0または6.5での結合についてVISTA抗体またはFabまたはscFvのライブラリーをポジティブスクリーニングし、中性pH、例えばpH7.0または生理的pH、例えばpH7.4での結合の欠如についてライブラリーをネガティブスクリーニングすることによって同定することができる。ライブラリーは、酸性pHでVISTAに荷電し、VISTAに結合する可能性が高い結合ドメインを選択するような、グルタミン酸、アスパラギン酸およびヒスチジン残基で濃縮されていてもよい。スクリーニングには、酸性pHでのポジティブセレクション、および中性または生理的pHでのネガティブセレクションが含まれる場合がある。ポジティブセレクションとネガティブセレクションは交互に行われてもよい。

20

【0231】

あるいは、中性および酸性pHでVISTAに結合する抗体は、中性pHでの結合を欠き、酸性pHでの結合を維持または強化するように操作することができる。例えば、ライブラリーは、1つまたは複数のCDRなどにあるVHアミノ酸残基と場合によってVLアミノ酸残基を置換することによって、および酸性pHでhVISTAに結合する抗体のポジティブセレクションと、中性（または生理的）pHでVISTAに結合しない抗体のネガティブセレクションとによってライブラリーをスクリーニングすることにより、作成することができる。同様の方法を使用して、所望のpH選択的、pH依存的またはpH非依存的VISTA結合プロファイルを有するVISTA結合抗体を操作することもできる。

30

【0232】

具体的な実施態様

本開示の追加の実施態様には以下が含まれる。

1. ヒトVDメイン免疫グロブリン含有T細胞活性化抑制因子(hVISTA)細胞外ドメイン(ECD)に特異的に結合する単離された抗体(Ab)であって、

a. pH6.5以下において 10^{-7} M以下の親和定数(K_D)でhVISTA-ECDに結合し；

b. pH6.5以下において 10^{-3} sec $^{-1}$ 以下の解離速度定数(K_{off})でhVISTA-ECDに結合し；または

c. pH6.5以下において 10^{-7} M以下の K_D および 10^{-3} sec $^{-1}$ 以下の k_{off} でhVISTA-ECDに結合する、

単離されたAb。

40

【0233】

2. pH6.5以下において 10^{-8} M以下の K_D でhVISTA-ECDに結合する、実施態様1に記載の単離されたAb。

【0234】

3. pH6.5以下において 10^{-9} M以下の K_D でhVISTA-ECDに結合する、実施態様2に記載の単離されたAb。

【0235】

50

4. pH 6.5 以下において 10^{-4} sec^{-1} 以下の k_{off} で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 1 から 3 のいずれか一項に記載の単離された A b。

【0236】

5. pH 7.0 以上において、

a. 10^{-7} M 以下の K_D ;

b. 10^{-3} sec^{-1} 以下の k_{off} ; または

c. 10^{-7} M 以下の K_D および 10^{-3} sec^{-1} 以下の k_{off}

で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 1 から 4 のいずれか一項に記載の単離された A b。

【0237】

6. pH 7.0 以上において 10^{-8} M 以下の K_D で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 5 に記載の単離された A b。

【0238】

7. pH 7.0 以上において 10^{-9} M 以下の K_D で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 6 に記載の単離された A b。

【0239】

8. pH 7.0 以上において 10^{-4} sec^{-1} 以下の k_{off} で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 5 から 7 のいずれか一項に記載の単離された A b。

【0240】

9. pH 6.5 において pH 7.0 と同様の親和性で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 5 から 8 のいずれか一項に記載の単離された A b。

【0241】

10. pH 6.5 において pH 7.0 でよりも高い親和性で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 9 に記載の単離された A b。

【0242】

11. pH 6.5 において pH 7.0 の 3 分の 2 以下の K_D で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 10 に記載の単離された A b。

【0243】

12. pH 6.5 において pH 7.0 の 2 分の 1 以下の K_D で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 11 に記載の単離された A b。

【0244】

13. pH 6.5 において pH 7.0 の 5 分の 1 以下の K_D で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 11 に記載の単離された A b。

【0245】

14. pH 6.5 において pH 7.0 よりも低い K_{off} で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 10 から 13 のいずれか一項に記載の単離された A b。

【0246】

15. pH 6.5 において pH 7.0 の 3 分の 2 以下の K_{off} で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 14 に記載の単離された A b。

【0247】

16. pH 6.5 において pH 7.0 の 2 分の 1 以下の K_{off} で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 15 に記載の単離された A b。

【0248】

17. pH 6.5 において pH 7.0 の 5 分の 1 以下の K_{off} で hVISTA-ECD に結合する、実施態様 16 に記載の単離された A b。

【0249】

18. hVISTA-ECD の少なくとも 1 つのヒスチジン残基がプロトン化されている条件下で hVISTA-ECD に特異的に結合する、実施態様 1 から 17 のいずれか一項に記載の単離された A b。

【0250】

10

20

30

40

50

19. hVISTA-ECDのIgVドメインに結合する、実施態様18に記載の単離されたAb。

【0251】

20. 配列番号2のアミノ酸20および95内に位置する領域に結合する、実施態様19に記載の単離されたAb。

【0252】

21. 配列番号2のアミノ酸20および70内に位置する領域に結合する、実施態様20に記載の単離されたAb。

【0253】

22. 配列番号2のアミノ酸35および70内に位置する領域に結合する、実施態様21に記載の単離されたAb。

10

【0254】

23. hVISTAのECDの他の領域にさらに結合する、実施態様20から22のいずれか一項に記載の単離されたAb。

【0255】

24. その他の領域が配列番号2のアミノ酸95および105内に位置する、実施態様23に記載の単離されたAb。

【0256】

25. 結合が水素-重水素交換質量分析(HDX-MS)によって決定される、実施態様18から24のいずれか一項に記載の単離されたAb。

20

【0257】

26. 自身が阻害しなければhVISTAが結合するであろう細胞へのhVISTAの結合を阻害する、実施態様1から25のいずれか一項に記載の単離されたAb。

【0258】

27. 腫瘍モデルにおいて免疫応答を誘発または強化する、実施態様1から26のいずれか一項に記載の単離されたAb。

【0259】

28. Abが腫瘍モデルにおいてT細胞活性化を誘発または強化する、実施態様27に記載の単離されたAb。

【0260】

30

29. 腫瘍モデルにおいて腫瘍成長を阻害する、実施態様1から28のいずれか一項に記載の単離されたAb。

【0261】

30. hVISTAのT細胞への結合を阻害する、実施態様1から29のいずれか一項に記載の単離されたAb。

【0262】

31. pH6.5においてpH7.0でよりもより強くhVISTAのT細胞への結合を阻害するなど、pH6.5以下においてpH7.0以上でよりもより強くhVISTAのT細胞への結合を阻害する、実施態様30に記載のAb。

【0263】

40

32. 実施態様1から31のいずれか一項に記載の単離されたAbと薬学的に許容される担体とを含む組成物。

【0264】

33. がんを有する対象を治療する方法であって、実施態様32に記載の組成物を対象に投与することを含む、方法。

【0265】

34. pH6.5以下において、 10^{-7} M以下の K_D でhVISTA-ECDに結合するAbを同定するための方法であって、1または複数の試験Abを、pH6.5以下で、hVISTA-ECDのIgVドメインを含むかまたは配列番号2のアミノ酸20-95、20-70もしくは35-70を含むhVISTA-ECDまたはその断片を含むが

50

リペプチドと接触させることと、 10^{-7} M以下の K_D でポリペプチドに結合する1または複数の試験Abを選択することを含む、方法。

【0266】

35. pH6.5以下において、 10^{-3} sec $^{-1}$ 以下の K_{off} でhVISTA-EC Dに結合するAbを同定するための方法であって、1または複数の試験Abを、pH6.5以下で、hVISTA-EC DのIgVドメインを含むかまたは配列番号2のアミノ酸20-95、20-70もしくは35-70を含むhVISTA-EC Dまたはその断片を含むポリペプチドと接触させることと、 10^{-3} sec $^{-1}$ 以下の K_{off} でポリペプチドに結合する1または複数の試験Abを選択することを含む、方法。

【0267】

36. pH6.5においてpH7.0の場合と同様の親和性でhVISTA-EC Dに特異的に結合するAbを同定するための方法であって、

a. 1または複数の試験Abを、pH6.5で、hVISTA-EC DのIgVドメインを含むかまたは配列番号2のアミノ酸20-95、20-70もしくは35-70を含むhVISTA-EC Dまたはその断片を含むポリペプチドと接触させること；

b. 1または複数の試験Abを、pH7.0で、(a)のポリペプチドと接触させること；および

c. 試験AbがpH6.5とpH7.0において 10^{-7} M以下の K_D でポリペプチドと結合していれば、それを選択すること

を含む、方法。

【0268】

37. pH6.5においてpH7.0でよりも高い親和性でhVISTA-EC Dに結合するAbを同定するための方法であって、

a. 1または複数の試験Abを、pH6.5で、hVISTA-EC Dを含むポリペプチドと、またはhVISTA-EC DのIgVドメインを含むかもしくは配列番号2のアミノ酸20-95、20-70もしくは35-70を含むその断片と接触させること；

b. 1または複数の前記試験Abを、pH7.0で、(a)のポリペプチドと接触させること；および

c. 試験AbがpH6.5においてpH7.0でよりも2分の1以下の K_D でポリペプチドと結合していれば、それを選択すること

を含む、方法。

【0269】

38. がんの治療における使用のための、hVISTA-EC Dに特異的に結合するAbを同定するための方法であって、

a. 実施態様32から35の方法に従うなど、pH6.5以下でhVISTA-EC Dに特異的に結合するAbを同定すること；および

b. 腫瘍モデルにおいて、pH6.5以下で、免疫応答を誘発もしくは強化するか、または腫瘍成長を阻害する(a)のAbを選択すること

を含む、同定するための方法。

【0270】

39. 工程(b)がT細胞活性を測定することを含む、実施態様38に記載の方法。

【0271】

40. Abの抗腫瘍効果を測定することをさらに含む、実施態様38または39に記載の方法。

【0272】

41. hVISTA-EC Dに結合するAbの抗腫瘍効果を改善するための方法であって、

a. pH6.5以下において所望の値より低い親和性、例えば 10^{-7} M以上、例えば 10^{-6} M、 10^{-5} M以上の K_D および／または 10^{-2} sec $^{-1}$ 以上の k_{off} でhVISTA-EC Dに結合するAbを提供すること；

10

20

30

40

50

b. A bの重鎖または軽鎖の1から5個のアミノ酸残基であって、h V I S T A - E C Dとの接触残基である1から5個のアミノ酸残基を、異なるアミノ酸残基で置換すること；
c. pH 6.5以下において、(b)で得られたA bが、h V I S T A - E C Dに対して(a)のA bが有するよりも高い親和性を有するかどうかを判定すること；および
d. pH 6.5以下において、 10^{-7} M以下の K_D でh V I S T A - E C Dに結合するA bを得るのに十分な数のラウンド分、工程(a) - (c)を繰り返すことを含む、改善する方法。

【0273】

42. h V I S T A - E C Dに結合するA bの抗腫瘍効果を改善するための方法であって、

a. pH 6.5以下において所望の値より低い親和性、例えば 10^{-7} M以上、例えば 10^{-6} M、 10^{-5} M以上の K_D および／または 10^{-2} sec⁻¹以上の k_{off} でh V I S T A - E C Dに結合するA bを提供すること；

b. (a)のA bの変異体のライブラリーを作製することであって、各変異体が、異なるアミノ酸残基によるA bの重鎖または軽鎖の1から5のアミノ酸残基の置換を含み、1から5のアミノ酸残基がh V I S T A - E C Dとの接触残基である、ライブラリーを作製すること；

c. pH 6.5以下において 10^{-7} M以下の K_D でh V I S T A - E C Dに結合する(b)の変異体のライブラリーのA bを選択すること；および任意選択的に

d. 腫瘍モデルにおける(c)のA bの抗腫瘍効果を試験すること

を含む、改善する方法。

【0274】

43. ヒトV I S T A E C Dに結合する抗体の薬物動態を改善する方法であって、酸性条件下、例えばpH 6.5以下でヒトV I S T Aに結合する抗体の能力を強化することを含む、改善するための方法。

【0275】

44. ヒトV I S T Aに結合し、かつ、延長された半減期（良好な薬物動態特性）を有する抗体を選択する方法であって、酸性条件下、例えばpH 6.5以下でヒトV I S T Aに結合する抗体を選択することを含む、選択するための方法。

【0276】

さらなる例示的な実施態様は、後述の特許請求の範囲で提供される。

【0277】

実施例

以下の実施例は、単に本発明の例示であることが意図されており、決して本発明を限定するものと考えられるべきではない。これらの実施例は、以下の実験が実施された全てまたは唯一の実験であることを表すことを意図したものではない。使用した数（例えば量、温度など）に関しては正確を期すべく努力したが、いくつかの実験誤差および偏差が考慮されるべきである。特に断りのない限り、部分(part)は重量部、分子量は平均分子量、温度は摂氏温度、圧力は大気圧またはそれに近い圧力である。

【0278】

実施例1: V I S T Aの細胞外ドメインは非常にヒスチジンが豊富である。

この例は、V I S T Aの細胞外ドメインはヒスチジン残基を非常に豊富であり、これらのヒスチジン残基は進化的に保存されており、V I S T Aが関与する受容体-リガンド相互作用に寄与している可能性があることを示している。

【0279】

免疫グロブリンドメイン含有タンパク質の細胞外ドメイン(E C D)のアミノ酸配列をu n i p r o tおよびs w i s s - p r o tデータベースから抽出し、ヒスチジン含有量を解析した。図1 Aは、この分析結果をグラフとして表したものである。各タンパク質について、全ての細胞外ドメインアミノ酸残基に対するヒスチジン残基のパーセンテージでの頻度をy軸にプロットし、細胞外ドメインアミノ酸残基の総数をx軸にプロットしている

。各データポイントの直径は、各タンパク質の細胞外ドメイン内のヒスチジン残基の総数に対応している。V I S T A（標識）は、その細胞外ドメインに例外的に高い頻度でヒスチジン残基を含む。

【0280】

その後、V I S T Aのヒスチジン残基の進化的保存性を評価した。図1Bは、シグナルペプチド（「S i g」）、膜貫通ドメイン（「T M D」）および細胞内ドメインを除いた、ヒト、カニクイザルおよびマウスV I S T Aのアミノ酸参照配列をアライメントしたものである。3種全てで保存されているヒスチジン残基は太字で下線が引かれている。ヒトおよびc y n o V I S T Aで保存されているヒスチジン残基は、下線なしで太字になっている。V I S T Aの細胞外ドメインのヒスチジン残基の多くは進化的に保存されており、V I S T Aヒスチジンの高含有の重要な生物学的役割を示唆している。

10

【0281】

P D Bデータベースで利用可能な解析済みの構造に対する配列相同性解析に基づいて、h V I S T A I g Vドメインの3次元モデルを作成した。図1Cに示されたモデルは、V I S T AのE C Dの多くのヒスチジンが分子表面で露出しており、抗体認識と同様にリガンド結合にも役割を果し得ることを示している。ヒスチジン残基は球と棒として描かれている。

【0282】

実施例2：ヒスチジンプロトン化は、腫瘍およびその他の酸性微小環境におけるV I S T A受容体ーリガンド結合と免疫抑制活性を制御し得る。

20

本実施例は、生理的に適切な酸性p Hに応じたヒスチジンプロトン化、およびV I S T A細胞外ドメインヒスチジンが生理的p Hではなく酸性p Hに対する対抗受容体またはリガンド選択性を付与するモデルについて説明する。

【0283】

図2Aは、ヒスチジン残基におけるピロールアンモニウム基（N H）のプロトン化の欠如と存在の間の平衡を示している。溶液中のヒスチジンのp K aは6.5であり、ヒスチジン残基がより高いp Hよりもp H 6.5以下でプロトン化される可能性が高く、したがって、正に帯電していることを示している。プロトン化の結果としてのV I S T A E C Dの表面での正電荷の増加は、受容体またはリガンドの結合、ならびにV I S T Aの構造および／または機能に影響を与える可能性がある。したがって、p Hの変化はまた、抗体結合エピトープを改変し、かつ／または様々な抗体親和性をもたらす可能性がある。

30

【0284】

図2Bは、V I S T AがP S G L-1または他の対抗受容体およびリガンド（「V I S T A-R」）と酸性p Hで選択的に結合するモデルを示す。血中のような生理的p Hでは、V I S T AのE C D上のヒスチジン残基は非プロトン化されていると予想される。結果として、生理的p Hでは、P S G L-1または他の対抗受容体およびリガンドへのV I S T Aの結合は無視できる。対照的に、酸性の細胞外p Hを持つ傾向がある場所、例えば腫瘍微小環境または炎症の部位では、酸性p Hは、部分的にまたは完全にV I S T AのE C Dヒスチジンプロトン化を促進し、したがってV I S T AのP S G L-1または他の対抗受容体およびリガンドとの結合を可能にする。したがって、酸性のp H範囲でV I S T A-E C Dタンパク質に強く結合する抗体は、腫瘍におけるV I S T A活性の阻害により効果的である可能性がある。

40

【0285】

実施例3：V I S T Aは腫瘍の骨髄単核細胞によって発現される。

本実施例は、V I S T Aが、マクロファージ、樹状細胞および顆粒球を含む、腫瘍中の骨髄単核細胞によって頻繁に発現していることを示している。

【0286】

外科的に切除された非小細胞肺癌、腎明細胞癌、黒色腫、大腸癌および他の腫試料を氷冷P B S中で洗浄し、約15 mm³サイズの断片に切断し、2%熱不活化F B Sおよび2 m M E D T A（F i s h e r S c i e n t i f i c 15575020）を補充した氷冷R

50

PMI-1640培地 (Fisher Scientific カタログ番号11875093) に懸濁させた。各試料を大きなオールガラス製ダウンス (dounce) (テンブロック型ホモジナイザー (Tenbroeck Tissue Grinders)) に移し、組織片が目視で分離するまで粉碎した。懸濁液を70 μ Mナイロンメッシュで濾過し、遠心分離した。上清を廃棄し、細胞ペレットを0.1%ウシ血清アルブミンと250mg/mLの滅菌濾過DNase 1 (グレードII、ウシ脾臓由来、Rocheカタログ番号10104159001) を補充した室温のPBSに室温で3分間再懸濁させた。次いで、細胞を氷冷補充RPMI中で洗浄し、氷冷PBSに再懸濁させた。生細胞染色色素 (cell viability dye) を添加し、暗所で氷上でインキュベートした。20分後、4%正常ラット血清、4%正常マウス血清、AB血漿由来の20%ヒト血清、および1:125希釈ヒトTruStain FcX™ (Biolegend カタログ番号422302) を添加することにより、非特異的抗体染色を遮断した。細胞を、Brilliant Stain Buffer (BD Biosciences カタログ番号562794) に暗所で氷上30分間懸濁させた、HLA-DR (BD Biosciences カタログ番号564040)、CD8 (Fisher Scientific カタログ番号46-0087-42)、CD14 (Biolegend カタログ番号325620)、CD45 (Biolegend カタログ番号304017)、CD4 (BD Biosciences カタログ番号563875)、CD11c (BD Biosciences カタログ番号744439)、CD15 (BD Biosciences カタログ番号563142)、PD-1 (BD Biosciences カタログ番号565299)、CD3 (BD Biosciences カタログ番号56515)、CD56 (Fisher Scientific カタログ番号61-0567-42)、CD19 (BD Biosciences カタログ番号564977) およびVISTA (AlexaFluor™ 647にコンジュゲートしたVISTA抗体3、Fisher Scientific カタログ番号A20186) に対する蛍光色素標識抗体で染色した。染色した細胞を氷冷PBS中で洗浄し、固定し (Fisher Scientific カタログ番号00-5523-00)、フローサイトメーターで取得した。データは、FlowJo™ソフトウェア (BD Biosciences) を用いて分析された。図3に示すように、VISTA細胞表面発現は、マクロファージおよび顆粒球上で最も高く、樹状細胞上では中等度であり、T細胞、ナチュラルキラー細胞およびB細胞上では低かった。

【0287】

実施例4: VISTA細胞結合は酸性pH選択性を示す。

本実施例は、多量体化ヒトVISTA ECDが、刺激されたヒトCD4+ T細胞およびヒト末梢血単核細胞に中性pHまたは生理的pHよりも酸性pHで効率的に結合し、この結合が抗ヒトVISTAロック抗体によって遮断され得ることを示す。マウス脾細胞への酸性pH選択的二量化マウスVISTA ECDの結合も示されている。

【0288】

ヒトCD4+ T細胞を、RosetteSep™ (Stemcell カタログ番号15062) によって健康なドナー血液から濃縮し、ヒトT-アクチベーターCD3/CD28 Dynabeads™ (Fisher Scientific カタログ番号111.32D) と組換えヒトIL-2 (Peprotech カタログ番号200-02) を用い、10%熱不活化FBS、Glutamax™ (Fisher Scientific カタログ番号35050061)、非必須アミノ酸 (Fisher Scientific 11140050)、ピルビン酸ナトリウム (Fisher Scientific カタログ番号11360070) および2-メルカプトエタノール (Fisher Scientific 21985023) を補充したRPMI-1640中で約4日間、in vitroで刺激した。活性化されたCD4+ T細胞を、室温で30分間、mMMES (Sigma、1317-100ML) で様々なpHに酸性化されたハックス緩衝塩類溶液 (HBSS、Fisher Scientific カタログ番号14025134) で希釈されたフィコエリトリン (PE) -コンジュゲートストレプトアビジンデキストラマー (カ

カタログ番号DX01-PE)に28:1のモル比でロードされたモノビオチン化hVISTA ECD分子(Phe33-Ala194(受入番号AAH20568)-ポリヒスチジン;AcroBiosystems社B75-H82F3)で染色した。コントロールとして、活性化CD4+T細胞を、hVISTAをロードしていないPE-コンジュゲートストレプトアビジンデキストラマーで染色した。染色された細胞をHBSS+MESで洗浄し、フローサイトメーターで取得した。データは、FlowJoTMソフトウェア(BD Biosciences)を用いて分析された。図4Aに示されている結果は、hVISTAがpH>6.5でコントロールよりもCD4+T細胞によく結合しなかったことを示している。対照的に、hVISTAは、pH<6.5でCD4+T細胞への漸進的により強い結合を示した。左の濃い灰色から薄い灰色まで、塗りつぶされたヒストグラムは、pH7.0、6.5、6.4、6.3、6.1、および6.0での結合を示している。一部のヒストグラムは、対応するpHでラベル付けされている。pH6.0での非VISTAコントロール多量体結合は、塗りつぶされていないヒストグラムとして表示されている。右は、様々なpHでhVISTAがロードされたデキストラマー(丸)または非ロードのデキストラマー(三角形)で染色されたCD4+T細胞の平均蛍光強度(MFI)をグラフ化したものである。

【0289】

末梢血単核細胞(PBMC)を、フィコール勾配遠心分離(Ficoll-Plus、GELife Sciences カタログ番号17144003)によって健康なドナー血液から濃縮し、上述のようにHBSS+MES緩衝液で希釈したhVISTAがロードされたデキストラマー(多量体とも呼ばれる)およびフルオロフォアコンジュゲートで染色した。図4Bは、pH6.0でのCD19+B細胞、CD4+T細胞、CD8+T細胞、CD56+NK細胞およびCD14+単球への結合を濃い灰色から薄い灰色へと描写する塗りつぶされたヒストグラムを示す。塗りつぶされていない、実線の境界線と点線の境界線のヒストグラムは、pH7.4での全PBMCリンパ球と単球への結合をそれぞれ示している。図4Fと4Gは、VISTAが単球と好中球の両方に結合し、pH6.0ではpH7.4の場合よりも強く結合することを示している。結果は、hVISTAは酸性pHでは多くの白血球に結合することができるが、生理的pHではそれほど多くには結合しないことを示す。

【0290】

活性化されたヒトCD4+T細胞を、滴定した抗ヒトVISTA抗体またはアイソタイプが一致する非VISTA特異的抗体の存在下で、pH6でhVISTA多量体を用いて染色した。図4Cにグラフ化した結果は、抗体濃度に対するVISTA多量体MFIを示す。抗hVISTA抗体(VISTA抗体3;四角形)は、非VISTA特異的コントロール抗体(丸)ではなく、活性化されたCD4+T細胞へのhVISTA結合を濃度依存的に遮断した。hVISTAをロードした多量体で染色されなかったCD4+T細胞のPE MFIは、コントロールとして含まれている(唯一の三角形)。

【0291】

図4Dは、全長ヒトPSGL-1を発現するようにトランスフェクトされたヘパラン硫酸突然変異チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞(pGSD-677株、アメリカンタイプカルチャーコレクション)に対する、pH6.0でのVISTA多量体の染色の代表的な2次元フローサイトメトリプロットを示す。染色は、滴定した抗VISTA遮断抗体(mAb3)の存在下または非存在下で行った。VISTA多量体によって染色されていないままの細胞は、コントロールとして表示されている。PSGL-1抗体(BD Biosciences カタログ番号562758)染色をy軸にプロットし、VISTA多量体染色をx軸にプロットした。

【0292】

脾臓細胞をC57BL6/Jマウス(Jackson Laboratory カタログ番号000664)から収集し、pH6.0または7.4で、mVISTA ECD/ヒトIgG Fc(断片、結晶化可能)キメラ融合タンパク質で染色した後、フルオロフォアコン

10

20

30

40

50

ジュゲート抗ヒトIgG Fc二次抗体（Jackson ImmunoResearch カタログ番号109-065-098）を用いて染色した。図4Eのヒストグラムによって描かれた結果は、mVISTAが、生理的pH（約pH7.4）よりもpH6.0でマウス脾臓細胞をより効率的に結合することを示している。濃い灰色から薄い灰色まで、塗りつぶされたヒストグラムは、pH6.0でのCD8+ T細胞、CD11b+骨髄細胞およびCD4+ T細胞への結合を示している。塗りつぶされていないヒストグラムは、全脾細胞へのpH7.4での結合を示している。

【0293】

実施例5：VISTAは酸性pHで選択的に細胞：細胞接着と免疫抑制を媒介する。

本実施例は、中性または生理的pHよりも酸性pHで、VISTAが細胞：細胞の接着を媒介し、T細胞の活性化をより強力に抑制することを示している。

【0294】

酸性pH適合性フローサイトメトリーに基づく細胞／細胞コンジュゲートアッセイを確立した。全長ヒトVISTAまたはベクターを異所的に発現する293T細胞（不死化ヒト胎児性腎細胞株、ATCC カタログ番号CRL-3216）を、CFSE（カルボキシフルオレセインサクシニミジルエステル；Fisher Scientific カタログ番号C34554）で標識した。CHO細胞をCellTrac™Far Red（Fisher Scientific カタログ番号C34564）で標識した。ベクターまたはVISTA 293T細胞を、pH7.0またはpH6.0の緩衝液中でCHO細胞と1：1の比率で混合し、室温で1時間インキュベートした。CHOおよび293T細胞／細胞コンジュゲートの形成をフローサイトメトリーによって評価した。図5A-Bに示す結果は、VISTAを発現する293T細胞が優先的に酸性pHでCHO細胞に接着し、抗VISTA遮断抗体（VISTA mAb 3；白いバー）の封入がVISTA媒介の細胞／細胞接着を阻害することを実証している。

【0295】

酸性pH適合性T細胞抑制アッセイを確立した。NFκBプロモーター駆動ルシフェラーゼレポーターを発現するJurkat細胞（不死化ヒトT細胞株、ATCCカタログ番号TIB-152）を、様々なpHのHBSS+MES緩衝液中、全長ヒトVISTAと抗ヒトT細胞受容体アゴニスト抗体クローンOKT3の一本鎖可変断片とを異所的に発現している293T細胞（不死化ヒト胎児性腎細胞株、ATCC カタログ番号CRL-3216）と10：1のJurkat：293T細胞比で共培養した。抗VISTA遮断抗体（VISTA mAb 3）またはアイソタイプ一致非VISTA特異的コントロール抗体を10μg/mLで共培養物に添加した。インキュベーション後、ルシフェラーゼ活性を測定することにより、Jurkat T細胞の活性化を定量した（1秒間隔Promega カタログ番号G7940）。結果を図5C-Dに示す。図5Cは、異なるpHで抗VISTA抗体（四角形）またはコントロール抗体（丸）で処理したJurkatにおけるルシフェラーゼユニットのプロットを示す。図5Dは、試験した各pHにおける、抗VISTA抗体で処理した共培養物中のルシフェラーゼシグナルを、コントロール抗体で処理した共培養物中のルシフェラーゼシグナルで割ったプロットを示す。結果は、VISTA媒介のT細胞抑制が酸性pHで最も強力であることを示している。

【0296】

実施例6：細胞内リサイクリングエンドソームを介したVISTA輸送

本実施例は、VISTAが細胞内エンドソーム、特にRab11+リサイクリングエンドソーム内に見られ、エンドソーム輸送により細胞表面との間で再利用され得ることを示している。抗VISTA抗体が酸性pHでVISTAに結合する強さは、エンドソーム輸送中にVISTAに結合したままになるその能力に影響を与える。

【0297】

単球を、磁気活性化細胞ソーティングによりPBMCから単離した。次いで、単球および293T細胞の両方を4%パラホルムアルデヒドで固定し、Rab5、Rab7またはRab11について、抗VISTA抗体またはコントロール抗体で細胞内染色した。抗V I

10

20

30

40

50

S T A抗体と同じアイソタイプの非V I S T A結合抗体であるコントロール抗体（「c A b」）は、ヒトV I S T Aを発現する単球または293T細胞に検出可能に結合しない。抗V I S T A抗体およびコントロール抗体は、A l e x a 488で直接標識した。R a b抗体は、A l e x a 594抗ウサギI g二次抗体を用いて検出した。細胞核を同定するためにH o e s c h t 33342染色を行った。画像は、スピニングディスク共焦点顕微鏡を用いて撮影した。図6Aは、ヒトV I S T Aを発現する293T細胞内のV I S T A、R a b 5（初期エンドソームマーカー）、R a b 7（後期エンドソームマーカー）、およびR a b 11（リサイクリングエンドソームマーカー）の共局在を示す。図6Bは、ヒト単球内のV I S T AとR a b 11の共局在を示す。細胞内V I S T Aは、R a b 11+リサイクリングエンドソームと共局在している。

10

【0298】

エンドソームを経由してリサイクルするV I S T Aの能力を評価するために、エンドリゾーム依存性抗体薬物コンジュゲート死滅アッセイを、生理的および酸性pHでV I S T A結合特性を変化させた3つの抗hV I S T A抗体（V I S T A m A b 1、2および3）を用いて実施した。最初にS P Rアッセイを実施して、pH 7.4、6.7および6.0における3つのV I S T A抗体全てのhV I S T A結合プロファイルと比較した。V I S T A抗体を、固定化されたプロテインAを含むB i a c o r e（登録商標）T100（G Eヘルスケア）CM5バイオセンサー上で捕捉し、次いで、100 nMのhV I S T A-E C D（7×ヒスチジンテールを有する配列番号1のアミノ酸32-193、すなわち、A F K V A T P Y S L Y V C P E G Q N V T L T C R L L G P V D K G H D V T F Y K T W Y R S S R G E V Q T C S E R R P I R N L T F Q D L H L H H G G H Q A A N T S H D L A Q R H G L E S A S D H H G N F S I T M R N L T L L D S G L Y C C L V V E I R H H H S E H R V H G A M E L Q V Q T G K D A P S N C V V Y P S S S Q E S E N I T A H H H H H H H；配列番号325）を、37℃で指定のpHでP B S Tランニング緩衝液に流した。参照を差し引いたセンサーグラムを「結合」報告点（r e p o r t p o i n t）に正規化してプロットした。V I S T A抗体3、「m A b 3」、（図6C、上）は、酸性pHで最大のV I S T A結合障害を示し、これにV I S T A抗体2、「m A b 2」（図6C、中央）が続くが、中程度の障害に留まった。V I S T A抗体1、「m A b 1」は、酸性および生理的pH条件で強いV I S T A結合を維持した（図6C、下）。

20

【0299】

エンドリゾーム依存性抗体薬物コンジュゲート死滅アッセイは、以下のようにして行った。ヒトV I S T Aを内因的に発現するA M L 3細胞（不死化ヒト単球細胞株、A T C C C R L-9589）を、滴定した抗V I S T A抗体または非V I S T A特異的コントロール抗体、およびカテプシンB感受性リンカーと細胞傷害性チューブリシンペイロードにコンジュゲートした抗ヒトI g G二次抗体を用いて培養した。カテプシンBは主に後期エンドソームとリソソームで活性があるため、初期エンドソームおよびリサイクリングエンドソームを経由してV I S T Aとともに再利用される抗V I S T A抗体は、低レベルのリンカー切断を経験し、その結果、低レベルの細胞傷害性ペイロードの放出および細胞死を経験することになる。酸性エンドソームでV I S T Aから解離し、後期エンドソームおよびリソソームにソートされる抗V I S T A抗体は、より高いレベルのリンカー切断を経験するであろう。細胞生存率は、培養5日後にC e l l T i t e r G l o（登録商標）（P r o m e g a カタログ番号G 7573）により測定した。図6Dは、このアッセイの結果を示しており、A M L 3生存率（C e l l T i t e r G l o）はy軸にプロットされ、一次抗体濃度はx軸にプロットされている。一次抗体：V I S T A抗体1、逆三角形、0.485 μ g/mL；V I S T A抗体2、丸、0.092 μ g/mL；V I S T A抗体3、四角、0.006 μ g/mL；コントロール、三角形、1.085 μ g/mLの算出されたE C 50。抗体の力価は、酸性pHでの抗V I S T A抗体の結合と逆相関していた。

40

【0300】

酸性pHでの結合が力価の相違の原因であることを確認するために、V I S T A抗体3の親和性を、酸性pHでそのV I S T A結合能が向上するように最適化した。図6Eは、図

50

6 Cに記載のアッセイ条件を用いて、V I S T A抗体3のh V I S T A抗体結合プロファイルをこの変異体であるV I S T A抗体3 cと比較したS P Rアッセイを示す。V I S T A抗体3は、酸性p Hで再びV I S T A結合障害を示したが、一方、変異体V I S T A抗体3 cは、酸性および生理的p Hで同等のV I S T A結合を示した。図6 Fは、図6 Dについて説明した死滅アッセイにおけるV I S T A抗体3 c（菱形）の活性を示す。V I S T A抗体3の酸性p Hに最適化された変異体は、元の抗体の31分の1の力価を示し、酸性p Hでの抗V I S T A抗体結合が損なわれると、V I S T Aリサイクル中に抗体結合が失われることを示している。

【0301】

これらの知見に基づいて、初期エンドソームとリサイクリングエンドソームを経由してV I S T Aが細胞表面との間で再利用され細胞表面にリサイクルされるリサイクルモデルが提案される。このモデルは、図6 Gに描かれている。抗V I S T A抗体は、これらのエンドソームを経由してV I S T Aとともに再利用され、標的結合を維持することができる。ただし、酸性p HでのV I S T A結合が損なわれた抗体、特に酸性p Hでのオフ速度が速い抗体は、リサイクル中にV I S T Aから解離し、細胞内に捕えられるかまたは分解され、その結果標的結合が不十分になり、循環している抗体が継続的に消費される可能性がある。対照的に、酸性p HでV I S T Aに結合し、結合したままの抗体は、特に腫瘍のような酸性の微小環境では、より高レベルの標的結合を維持し、i n v i v oでより長い平均滞留時間を示し得る。

【0302】

実施例7： 生理的p Hでの結合を欠くV I S T A抗体の優位性

本発明者らは、V I S T Aが酸性p H選択的な免疫受容体であることを示し、酸性p Hでよく結合する抗体でV I S T Aを標的化することの重要性および有用性を実証した。さらに、生理的p HでV I S T Aに結合しないか、または無視できる程度にしか結合しない抗体は、いくつかの理由から有利である。第一に、循環している骨髄単核細胞、特に単球および好中球上でのV I S T Aの発現が比較的豊富であるため、生理的p HでV I S T Aを結合する抗体は、血中で高レベルの標的介在性薬物動態（T M D D）を受ける。この効果は、細胞内エンドソームを介して再利用されるV I S T Aの性質によって悪化し、抗V I S T A抗体の内部移行と分解につながる。この二次的効果は、V I S T Aのヒスチジンリッチなリガンド界面に結合する抗体に観察されるように、酸性p Hでの結合が損なわれた抗体にとって特に問題となる。両方の効果は、循環中の抗V I S T A抗体の量を減少させ、腫瘍に到達する抗体の量を減少させ、従って、抗体の目的の生物学的活性を減少させる。第二に、生理的p HでV I S T Aに結合し、抗体依存性細胞傷害（A D C C）、抗体依存性細胞食作用（A D C P）、または免疫調節ペイロードの送達等のエフェクター機能を有する抗体は、循環している骨髄単核細胞をそれらのエフェクターにさらすことになり、循環している好中球の枯渇または活性化のような望ましくない結果をもたらす可能性がある。したがって、本発明者らは、酸性p Hではh u V I S T Aに結合するが、生理的p Hでは無視できる程度にしか結合しない抗体が（1）腫瘍などの関連部位での曝露が良好であり、（2）A D C C、A D C P、または免疫調節ペイロードの送達のようなエフェクター機能を有する抗体の場合には、毒性が低減されるという二重の利点を有することを発見した。さらに、V I S T A自体は酸性p H選択的な免疫受容体であるため、生理的p HでのV I S T Aのリガンド界面の遮断は、V I S T A受容体ーリガンド活性を調節するためには不要である可能性が高い。したがって、酸性p Hではh u V I S T Aに結合するが、生理的p Hでは有意には結合しない抗体を、以下に記載するように生成した。

【0303】

実施例8： 酸性p HでヒトV I S T Aに優先的に結合する抗V I S T A抗体の単離

本実施例は、中性または生理的p Hよりも低い（酸性）p HでヒトV I S T Aに優先的に結合する抗体の生成を説明する

【0304】

抗体の抗V I S T A抗原結合断片のライブラリーを構築し、以下のようにスクリーニング

10

20

30

40

50

した。全長ヒトVISTA (hVISTA) で免疫したHuMa bマウスから単離された遺伝物質を用いて抗体ライブラリーを作製した。これらの抗体はscFvとしてフォーマットされ、mRNAディスプレイを介して低pH (pH 6.0) での全長hVISTA結合に対して選択された (Xu L et al. (2002) Chemistry & Biology 9: 933; Roberts RW and JW Szostak (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:12297; Kurz et al. (2000) Nucleic Acids Res. 28(18):E83)。選択出力を次世代シーケンシング (NGS) で分析し、低pHでのVISTA結合の濃縮を示したライブラリーメンバーを特定し、IgG 1.3 (アミノ酸突然変異L234A、L235EおよびG237Aを持つIgG 1 FcからなるエフェクターレスIgG 1定常領域) として再フォーマットして、SPRによってVISTAへの結合についてスクリーニングした。

【0305】

表面プラズモン共鳴 (SPR) 分析を、Biacore (登録商標) T200機器 (GEヘルスケア) を用いて、酸性および生理的pHでのVISTA Abの会合速度 (k_a または k_{on} 、 $1/Ms$ 単位で定義)、解離速度 (k_d または k_{off} 、 s^{-1} 単位で定義) および親和定数 (K_D 、M単位で定義) を測定するために実施した。プロテインA (Fisher Scientific カタログ# 21181) を10mM酢酸ナトリウム (pH 4.5) で $20 \mu g/ml$ に希釈し、メーカーのアミンカップリングプロトコル (GEヘルスケア) に従ってCM5バイオセンサーのフローセルに固定化し、フローセルあたり6000RUのプロテインA固定化密度を目標とした。SPR実験を、PBST (137mM塩化ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、10mMリン酸緩衝液、0.05% Tween 20) ランニング緩衝液を用いて、pH 7.4および6.0で37℃で行った。抗体をPBST pH 7.4で20nMに希釈し、活性バイオセンサーフローセル全体で $5 \mu l/min$ で50秒間捕捉した。50-0.2nMの一価のhVISTA-ECD (配列番号325) の濃度シリーズをpH 7.4および6.0のランニング緩衝液中で調製し、 $40 \mu l/min$ で捕捉した抗体に注入して、会合および解離を測定した。10mMグリシンpH 1.5の2つの15秒の注入を使用して、アッセイサイクルの合間にプロテインAキャプチャー表面を再生した。速度定数 k_a (k_{on}) および k_d (k_{off}) は、参照フローセルおよび0nMブランク差引センサーグラムから導出し、Biacore (登録商標) T200評価ソフトウェアv. 2.0で1:1結合モデルに当てはめた。各VISTA抗体について、酸性pHでは遅いオフ速度を示し、生理的pHでは速いオフ速度を示す抗体を同定するために、pH 6での k_{off} /pH 7.4での k_{off} の比率を算出した。

【0306】

IgG 1.3抗体として再フォーマットされた6つの抗体は、pH 6およびpH 7.4の両方でほぼ同等の親和性を示した。特に、2つの抗体は、pH 6.0でのオフ速度がpH 7.4でのオフ速度よりも遅かった (すなわち、pH 6.0よりもpH 7.4でのオフ速度が速かった)。これら2つのhVISTA抗体の可変領域をP1-061015およびP1-061029と称し、これらの可変領域を含み、IgG 1.3抗体としてフォーマットされた抗体をそれぞれP1-061015. IgG 1.3およびP1-061029. IgG 1.3と称する。P1-061015. IgG 1.3およびP1-061029. IgG 1.3の k_{off} 速度を表1に示す。

表1: pH6.0およびpH7.0で選択された抗体の k_{off}

抗体の名称	pH6 k_{off} (s^{-1})	pH7 k_{off} (s^{-1})	pH6/pH 7 k_{off}
P1-061015.IgG1.3	1.4×10^{-3}	2.3×10^{-3}	0.6
P1-061029.IgG1.3	4.8×10^{-3}	9.1×10^{-3}	0.5

【0307】

P1-061015およびP1-061029の重鎖および軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3配列は、以下の表2に提供されており、本開示の実施例セクションに続く配列表にも示されている。

表2: pH7.4よりもpH6.0で優先的にhuVISTAに結合するhuVISTA抗体のアミノ酸配列

P1 ID	VH - 遺伝子	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3
P1-061015.IgG1.3	3-33	GFTFSSYAMH (配列番号 95 残基 26-35)	IIWYDGSNKYYADSVK G (配列番号 95 残基 50-66)	DSGFYSSYYFDY (配列番号 95 残基 99-110)
P1-061029.IgG1.3	3-09	GFTLDDYAMH (配列番号 67 残基 26-35)	GINWNSANIGYADSVK G (配列番号 67 残基 50-66)	VPGYSGGWIDAFD V (配列番号 67 残基 99-112)
	VL - 遺伝子	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
P1-061015.IgG1.3	L6	RASQSVSSSYL A (配列番号 96 残基 24-35)	DASNRAT (配列番号 96 残基 51-57)	QQYNSYPYT (配列番号 96 残基 90-98)
P1-061029.IgG1.3	A27	RASQSVSSSYL A (配列番号 68 残基 24-35)	GASSRAT (配列番号 68 残基 51-57)	QQYGSSPFT (配列番号 68 残基 90-98)

【0308】

実施例9: 酸性pH選択的抗体を開発するためのP1-061015およびP1-061029抗VISTA Abのさらなる操作

本実施例は、pH7.4に対するpH6.0での結合の間のより高い k_{off} 比を有する抗huVISTA可変領域を得るための、実施例2で同定された可変領域P1-061015およびP1-061029のさらなる操作を説明する。

【0309】

P1-061015およびP1-061029のVH CDRにそれぞれ特異的な変異を導入することにより、2つのライブラリーを構築した。ライブラリーは、低pHでの結合を改善する可能性が最も高いアミノ酸置換、すなわちアスパラギン酸塩、グルタミン酸塩およびヒスチジンの置換のみを可能にした。ライブラリーはまた、各CDRにおける単一および二重のアミノ酸置換、ならびにCDR間での組換え（1鎖あたり最大6のアミノ酸置換）も可能にした。図7Aは、P1-061029ライブラリーを作製するためにP1-061029の重鎖CDR3アミノ酸配列に導入された突然変異を示す。図は、傾向性の導入を避けるために特定の配列を除外したことを示している（例えばDG）。

【0310】

‘029および‘015ライブラリーを、酵母表面ディスプレイを介してpH6.0で全長hVISTAに結合する複数回のラウンドによってスクリーニングした。さらなる選択ラウンドは、ポジティブ選択（pH6.0でhuVISTAに結合）とネガティブ選択（pH7.4でhuVISTAに結合）（図7Bに示す）の間に切り替えることによって行わ

れ、pH 7.4でVISTAに結合しなかったライブラリーメンバーは、ネガティブ選択のラウンドで収集された。選択出力をNGSで分析した。選択ラウンド9の後にpH 6.0でhuVISTAに結合したライブラリーメンバー'029を、フローサイトメトリーを介してpH 6.0およびpH 7.4でのヒトVISTAへの結合について分析した。図7Cは、9ラウンドの選択後の変異体プールを示す代表的な二次元フローサイトメトリーのプロットを示す。VISTA結合はy軸にプロットされ、変異体抗体の発現はx軸にプロットされている。様々な抗体濃度とpHでの結合データが示されている。結果は、特に20nMでのヒトVISTAに対する非常に強いpH 6選択的結合を実証した。

【0311】

'029の追加の子孫クローンを別の方法で'029ライブラリーから単離した。いくつかのクローンは最初の方法で同定されたものと同じであり、9個の追加クローンが単離された。

【0312】

さらなる分析のために'029ライブラリーから分離された19のクローンをIgG1.3抗体として再フォーマットした。これらのクローンの重鎖CDRにおけるアミノ酸の違いを、'029VHCDRにおけるものと比較して、表5に示す。

表5：'029親抗体に由来する抗体のVHCDR1、CDR2およびCDR3アミノ酸配列（下線で区切られている）

名称	CDR1 (26-35位)	CDR2 (50-66位)	CDR3 (99-110位)	配列番号
P1-061029	GFTLDDYAMH	GINWNSANIGYADSVK	G_VPGYSGGWIDAFDV	67
P1-068757	---E-E---	-----EE-----	-----E-D	71
P1-068759	---E-E---	---D---E-----	-----E-D	87
P1-068761	---E-E---	-----EE-----	-----H-----E--	51
P1-068763	---E-E---	---D---E-----	-----H-----E--	91
P1-068765	---DE----	-----EE-----	-----E-D	63
P1-068767	---E-E---	---D---E-----	-----E-D	55
P1-068769	---E-E---	-----DH-----	-----E-D	83
P1-068771	---E-E---	-----HE-----	-----E-D	75
P1-068773	---E-E---	---D---D-----	-----E-D	59
P1-068775	---E-E---	---D---EE-----	-----H-----E-D	79
P1-069059	---E-E---	-----DH-----	-----E-D	11
P1-069061	---E-E---	-----E-----	-----E-D	15
P1-069063	---E-E---	-----E-----	-----D-E	19
P1-069065	---E-E---	-----DD-----	-----	23
P1-069067	-----	-----EE-----	-----D-E	27
P1-069069	-----	-----EE-----	-----D--	31
P1-069071	---E-E---	-----D-----	-----E-----	35
P1-069073	---E-E---	---D---D-----	-----E-D	39
P1-069075	---E-E---	---D---E-----	-----H-----E--	43
P1-069077	---E-E---	-----DE-----	-----	47

【0313】

'029の子孫クローンと親'029抗体（IgG1.3抗体としてフォーマットされている）の各調製物のヒトVISTAへの結合を、pH 6.0および7.4で表面プラズモン共鳴（SPR）法により測定した。SPR分析を行い、Biacore（登録商標）T100機器（GEヘルスケア）を用いて、酸性および中性pHでのVISTA Abの k_{off} および K_D 結合親和性を測定した。プロテインA（ThermoFisher Scientific カタログ#21181）を10mM酢酸ナトリウム（pH 4.5）で20μg/mlに希釈し、メーカーのアミンカップリングプロトコル（GEヘルスケア）に従ってCM5バイオセンサーのフローセルに固定化し、フローセルあたり2000RUのプロ

テインA固定化密度を目標とした。SPR実験を、PBST（137mM塩化ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、10mMリン酸緩衝液、0.05%Tween（登録商標）20）ランニング緩衝液を用いて、pH7.4および6.0で37℃で行った。抗体をPBST pH7.4で25nMに希釈し、活性バイオセンサーフローセル全体で5μl/minで60秒間捕捉した。50–5nMの一価のhVISTA–ECD（配列番号325）の濃度シリーズをpH7.4および6.0のランニング緩衝液中で調製し、40μl/minで捕捉した抗体に注入して、会合および解離を測定した。10mMグリシンpH1.5の2つの15秒の注入を使用して、アッセイサイクルの合間にプロテインAキャプチャー表面を再生した。 k_a (k_{on}) および k_d (k_{off}) は、参照フローセルおよび0nM参照差引センサーグラムから導出し、Biacore（登録商標）T200評価ソフトウェアv. 2.0で1:1結合モデルに当てはめた。親和定数, K_D は、各VISTA抗体の速度定数 k_{off}/k_{on} の比率として算出された。

【0314】

最大の（または大きな）ヒトVISTA結合応答は、各抗体の50nM VISTA注入終了時の参照差引「結合」報告点応答と定義され、応答単位（RU）で報告される。各抗体に対する最大のヒトVISTA結合応答（RU）が図7Dにプロットされている。平均結合応答（2から4個の複製抗体間）がプロットされ、エラーバーは標準偏差を表す。結果は、'029の選択された子孫クローンがpH6.0ではhVISTAに結合するが、pH7.4では結合しないことを示している（pH7.4での結合を表す白丸は、親'029クローンを除いて全てグラフの下部に位置している）。

【0315】

'029およびその子孫のpH6.0における k_{off} 速度は、上述の方法を用いてSPRにより決定され、図7Eに示されている。図中の破線は'029の k_{off} 速度を表し、破線の左側のクローンはpH6.0で親'029抗体のそれと比較して遅い k_{off} 速度を有し、右側のクローンはpH6.0で親'029抗体のそれと比較して速い k_{off} 速度をpH6.0で有している。

【0316】

中性および酸性pHでの'029、'761および'767抗体に対する代表的なhVISTA SPR結合センサーグラムを図7Fに示す。参照を差し引いた50nMおよび5nMのhuVISTAセンサーグラムがプロットしている。中性pHにおいて、'761および'767で<10RU VISTA結合シグナルが観察されたため、'761と'767の k_{off} と K_D を適切に測定し、'029と比較するためには、生理的pHでのμM VISTA濃度を用いたSPRカイネティクスアッセイが必要であった。

【0317】

このアッセイのために、'029、'761および'767は、hIgG1fアイソタイプとして再フォーマットされ、hIgG1.3fFcと比較するために、標準的なhIgG1fおよびhIgG1fアフコシル化フォーマットの両方で発現された。SPRカイネティクスアッセイを行い、Biacore（登録商標）T100機器（GEヘルスケア）を用いて、酸性および生理的pHでのVISTA Abの k_{off} および K_D 結合親和性測定を測定した。プロテインA（ThermoFisher Scientific カタログ# 21181）を10mM酢酸ナトリウム（pH4.5）で20μg/mlに希釈し、メーカーのアミンカップリングプロトコル（GEヘルスケア）に従ってCM5バイオセンサーのフローセルに固定化し、フローセルあたり2000RUのプロテインA固定化密度を目標とした。SPR実験を、PBST（137mM塩化ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、10mMリン酸緩衝液、0.05%Tween20）ランニング緩衝液を用いて、pH7.4および6.0で37℃で行った。抗体をPBST pH7.4で25nMに希釈し、活性バイオセンサーフローセル全体で5μl/minで45秒間捕捉した。1600–0.78nM（pH7.4）および100–0.78nM（pH6.0）の一価のhVISTA–ECD（配列番号325）の濃度シリーズをランニング緩衝液中で調製し、40μl/minで捕捉した抗体に注入して、会合および解離を測定した。10mMグリシン

pH 1.5 の 2 つの 15 秒の注入を使用して、アッセイサイクルの合間にプロテイン A キャプチャー表面を再生した。速度定数 k_a (k_{on}) および k_d (k_{off}) は、参照フローセルおよび 0 nM ブランク差引センサーグラムから導出し、Biacore (登録商標) T200 評価ソフトウェア v. 2.0 で 1:1 結合モデルに当てはめた。親和定数, K_D は、各 VISTA 抗体の速度定数の比率 k_{off}/k_{on} として算出された。pH 7.4 / pH 6.0 での k_{off} と K_D の比率を算出して、酸性 pH でのオフ速度および親和性の向上を生理的 pH と比較した。50 nM の hVISTA を使用して '761 および '767 の中性 pH 結合速度定数を決定することは以前はできなかったが (図 7D と 7F)、中性 pH の VISTA 濃度範囲を 1.6 μ M に上げると、1:1 の結合モデルに当てはまるこれらのクローンの結合応答 ($>10 RU$) が生じた。これらの酸性選択的 VISTA 抗体のカイネティックデータは、表 6 に示されている。'029 親は、両方の pH で同等の k_{off} を示すが、'761 および '767 は、 k_{off} では pH 7.4 よりも pH 6 に対して 10 倍以上の選択性を示し、 K_D では pH 7.4 よりも pH 6 に対して 2000 倍以上の選択性を示す。ヒト VISTA 結合速度定数は、hIgG1.3f、hIgG1f、およびアフコシル化 hIgG1f アイソタイプ変異体間で保存されている。

表6: SPRによって決定されたVISTA抗体の結合特性

抗体	アイソタイプ°	pH7.4			pH6.0			kd 比率 (7.4/6)	KD 比率 (7.4/6)
		k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)		
P1-061029	hIgG1.3f	1.6E+05	6.8E-03	4.2E-08	1.1E+06	7.9E-03	7.2E-09	0.9	5.8
	hIgG1f	1.7E+05	7.4E-03	4.2E-08	1.1E+06	8.0E-03	7.1E-09	0.9	5.9
	hIgG1f アフコシル化	1.7E+05	7.2E-03	4.1E-08	1.1E+06	7.8E-03	6.9E-09	0.9	5.9
P1-068761	hIgG1.3f	3.8E+03	4.2E-02	1.1E-05	3.7E+05	1.6E-03	4.3E-09	26.3	2558.1
	hIgG1f	1.2E+03	4.2E-02	3.5E-05	3.6E+05	1.5E-03	4.2E-09	28.0	8333.3
	hIgG1f アフコシル化	5.1E+03	4.2E-02	8.2E-06	3.7E+05	1.5E-03	4.1E-09	28.0	2000.0
P1-068767	hIgG1.3f	1.9E+03	3.6E-02	1.9E-05	3.3E+05	2.6E-03	7.8E-09	13.8	2435.9
	hIgG1f	1.5E+03	3.2E-02	2.2E-05	3.2E+05	2.6E-03	8.0E-09	12.3	2750.0
	hIgG1f アフコシル化	1.3E+03	3.3E-02	2.4E-05	3.3E+05	2.6E-03	7.9E-09	12.7	3038.0
α -VISTA 酸性 pH 感受性	hIgG1.3f	2.2E+05	7.8E-04	3.6E-09	2.8E+06	9.0E-02	3.2E-08	0.01	0.1

【0318】

P1-061029 (「'029」)、P1-068761 (「'761」) および P1-068767 (「'767」) (IgG1.3 抗体として) のヒト VISTA 結合速度を、pH 7.4 と pH 6.0 の間の pH 値、すなわち、Biacore (登録商標) T100

機器（GEヘルスケア）を用いてpH6.9とpH6.45で測定した。プロテインA（ThermoFisher Scientific カタログ#21181）を10mM酢酸ナトリウム（pH4.5）で20μg/mlに希釈し、メーカーのアミンカップリングプロトコル（GEヘルスケア）に従ってCM5バイオセンサーのフローセルに固定化し、フローセルあたり2000RUのプロテインA固定化密度を目標とした。アッセイを、PBST（137mM塩化ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、10mMリン酸緩衝液、0.05%Tween20）ランニング緩衝液を用いて、pH7.4、6.9、6.45および6.0で37℃で行った。抗体をPBST pH7.4で25nMに希釈し、活性バイオセンサーフローセル全体で5μl/minで45秒間捕捉した。100-0.78nMの一価のhVISTA-ECD（配列番号325）の濃度シリーズをpH7.4、6.9、6.45および6.0のランニング緩衝液中で調製し、40μl/minで捕捉した抗体に注入して、会合および解離を測定した。10mMグリシンpH1.5の2つの15秒の注入を使用して、アッセイサイクルの合間にプロテインAキャプチャー表面を再生した。ka(k_{on})およびkd(k_{off})は、参照フローセルおよび0nM参照差引センサーグラムから導出し、Biacore（登録商標）T200評価ソフトウェアv.2.0で1:1結合モデルに当てはめた。親和定数K_Dは、各VISTA抗体の速度定数の比率k_{off}/k_{on}として算出された。緩衝液のpHが生理的pHに移行するとVISTAのk_{off}とK_Dがどのように変化するかを評価するために、pH6.0に対する各pHでのk_{off}とK_Dの比率を算出した結果を表7に示す。'029親は、試験された各pHで一貫したk_{off}を示したが、'761および'767子孫は、pH6.0と比較してpH6.9で10倍以上のVISTA k_{off}および100分の1以下のVISTAK_Dを示した。緩衝液のpHが酸性から生理的pHに移行すると、VISTA k_{off}とK_Dの両方が'761と'767で弱まる。比較のための'761および'767の生理的pHデータは、表7から参照され、アスタリスク(*)が付いている。

表7: 様々なpH値での'029、'761および'767抗体の速度論的結合特性

抗体	pH	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	pH6.0に対する koff 比率	pH6.0に対する KD 比率
P1-061029 (親)	6.0	2.9E+06	5.7E-03	2.0E-09	1.0	1.0
	6.45	7.4E+05	4.0E-03	5.3E-09	0.7	2.7
	6.9	4.1E+05	5.7E-03	1.4E-08	1.0	7.1
	7.4	2.5E+05	6.4E-03	2.6E-08	1.1	13.2
P1-068761	6.0	6.0E+05	6.6E-04	1.1E-09	1.0	1.0
	6.45	1.1E+05	2.1E-03	2.0E-08	3.2	18.4
	6.9	4.8E+04	8.9E-03	1.9E-07	13.4	170
	7.4 *	3.8E+03	4.2E-02	1.1E-05	~63.6	~10000
P1-068768	6.0	5.6E+05	1.9E-03	3.4E-09	1.0	1.0
	6.45	1.3E+05	4.8E-03	3.8E-08	2.5	11.0
	6.9	7.4E+04	2.9E-02	4.0E-07	15.3	115.1
	7.4 *	1.9E+03	3.6E-02	1.9E-05	~19.0	~5000

【0319】

表7のデータは、pH6.0と比較してpH6.45における'761および'767のhVISTAへの結合親和性が10分の1以下；pH6.0と比較してpH6.9における'761および'767のhVISTAへの結合親和性が100分の1以下；およびpH6.0と比較してpH7.4における'761および'767のhVISTAへの結合親和性が1000分の1以下であることを示している。

【0320】

‘ 0 1 5 ライブラリーはまた、V I S T A への p H 6 選択的な結合に対するわずかな選好性を示した。‘ 0 1 5 V H C D R に対する子孫クローンのアミノ酸の違いを表 8 に示す。上記の ‘ 0 2 9 分析について記載したのと同じ方法を用いて、p H 6 . 0 および 7 . 4 での ‘ 0 1 5 子孫クローンおよび親 ‘ 0 1 5 (全て I g G 1 . 3 抗体として) の各々の複数の調製物のヒト V I S T A への結合を S P R を介して測定し、結果を表 8 に示す。

表 8 : ‘ 0 1 5 親抗体に由来する抗体の V H C D R 1、C D R 2 および C D R 3 アミノ酸配列 (下線で区切られている)

名称	CDR1 (26-35位)	CDR2 (50-66位)	CDR3 (99-110位)	配列番号	
P1-061015	GFTFSSYAMH_	IIWYDGSNKYYADSVKG_	DSGIFYSSYYFDY	95	10
P1-068736	-----E-----_D-----D-----_-----D-----D			107	
P1-068738	-----E--H-_---D---H-----_-----ED-----			131	
P1-068740	-----D-----_-----D-D-----_-----D-----D			115	
P1-068742	-----D-----_-----D-D-----_-----ED-----			119	
P1-068744	-----E-----_H-----E-----_-----E-----E			103	
P1-068746	-----_-----HH-----_-----D-----			123	
P1-068748	-----HH---_-----DD-----_-----D-----			99	
P1-068750	-----D-D--_E--D-----_-----EE-----			127	
P1-068752	-----_E-----D-----_-----D-----E			111	
P1-068754	-----D-D--_E--D-----_-----H-D-----			135	20

【 0 3 2 1 】

S P R によって決定された p H 6 . 0 および 7 . 4 での ‘ 0 2 9 および ‘ 0 1 5 とその子孫クローンの h u V I S T A への結合速度の概要を表 9 および 1 0 に示す。

30

40

50

表9: 'O29クローンとその子孫のhuVISTAカインテックスネステイクスの概要とVH CDR配列

ID	平均 7.4ka (1/Ms))	平均 7.4kd (1/s)	平均 7.4K D (M)	平均 6.0ka (1/Ms))	平均 6.0kd (1/s)	平均 6.0KD (M)	VH CDR1 (26-35 位)	VH CDR2 (50-66 位)	VH CDR3 (99-110 位)	配 列 番 号
P1- 069077	6.0E+ 04	1.9E- 03	3.1E- 08	6.3E+ 05	1.2E- 04	1.9E- 10	...E.E...	...DE.....		47
P1- 069065	5.9E+ 04	2.3E- 03	3.9E- 08	5.7E+ 05	2.2E- 04	3.8E- 10	...E.E...	...DD.....		23
P1- 069075	1.3E+ 05	2.3E- 03	1.8E- 08	1.3E+ 06	2.9E- 04	2.2E- 10	...E.....	...D..E.....	...H....E..	43
P1- 069071	4.3E+ 04	4.0E- 03	9.3E- 08	7.0E+ 05	5.1E- 04	7.3E- 10	...E.E...	...D.....	...E.....	35
P1- 069061	弱く、速い kd		4.3E+ 05		1.1E- 03	2.5E- 09	...E.....	...E.....	...E.D	15
P1- 069069	9.0E+ 04	7.5E- 03	8.4E- 08	1.4E+ 06	1.2E- 03	8.6E- 10		...EE.....	...D..	31
P1- 068761	弱く、速い kd		3.8E+ 05		1.4E- 03	3.8E- 09	...E.E...	...EE.....	...H....E..	51
P1- 069059	弱く、速い kd		3.4E+ 05		1.6E- 03	4.8E- 09	...E.....	...DH.....	...E.D	11
P1- 068767	弱く、速い kd		3.4E+ 05		2.6E- 03	7.6E- 09	...E.....	...D..E.....	...E.D	55
P1- 068773	弱く、速い kd		3.0E+ 05		2.9E- 03	9.4E- 09	...E.....	...D..D.....	...E.D	59
P1-	1.2E+	2.7E-	2.3E-	1.9E+	4.4E-	2.4E-	...E.....	...E.....	...DE	19

10

20

30

40

50

ID	平均 7.4ka (1/Ms))	平均 7.4kd (1/s)	平均 7.4K D (M)	平均 6.0ka (1/Ms))	平均 6.0kd (1/s)	平均 6.0KD (M)	VH CDR1 (26-35 位)	VH CDR2 (50-66 位)	VH CDR3 (99-110 位)	配 列 番 号
069063	05	02	07	06	03	09				
P1- 069067	1.0E+ 05	2.7E- 02	2.9E- 07	1.7E+ 06	4.5E- 03	2.7E- 09		EE.....	D.E	27
P1- 069073	弱く、速い kd			6.1E+ 05	5.8E- 03	9.4E- 09	E.E...	E.....	E..	39
P1- 061029	2.9E+ 05	5.6E- 03	1.9E- 08	1.6E+ 06	5.8E- 03	3.6E- 09	GFTLDDYA MH	GINWNSANIGYADS VKG	VPGYSGGWIDA FDV	67
P1- 068765	結合なし			3.7E+ 05	7.0E- 03	1.9E- 08	...DE.....	EE.....	E.D	63
P1- 068757	結合なし			8.9E+ 05	1.7E- 02	1.9E- 08	E.E...	EE.....	E.D	71
P1- 068771	結合なし			7.6E+ 05	1.8E- 02	2.5E- 08	E.E...	HE.....	E.D	75
P1- 068769	結合なし			8.1E+ 05	4.0E- 02	5.5E- 08	E.E...	DH.....	E.D	83
P1- 068775	結合なし			1.8E+ 06	4.7E- 02	2.3E- 08	E.E...	..D...EE.....	...H...E.D	79
P1- 068759	結合なし			1.3E+ 06	8.0E- 02	6.0E- 08	E.E...	..D...E.....	E.D	87

10

20

30

40

50

表10: '015クローンとその子孫のhuVISTAカインティクスの概要とVH CDR配列

クローン	平均 7.4 ka (1/Ms)	平均 7.4 kd (1/s)	平均 7.4 KD (M)	平均 6.0 ka (1/Ms)	平均 6.0 kd (1/s)	平均 6.0 KD (M)	HCDR 配列 (26-35 位) (50-66 位) (99-110 位)	配 列 番 号
P1- 061015	2.3E+0 5	2.0E- 03	8.8E- 09	1.8E+0 6	9.5E- 04	5.4E- 10	GFTFSSYAMH_IHWYDGSNKYYADSVKG_DSGFYSS YYFDY	95
P1- 068748	結合なし						...HH...DD...D...	99
P1- 068744							...E...H...E...E...E	10 3
P1- 068736							...E...D...D...D...D	10 7
P1- 068752							...E...D...D...D...E	11 1
P1- 068740							...D...D...D...D...D	11 5
P1- 068742							...D...D...D...ED...	11 9
P1- 068746							...HH...D...	12 3
P1- 068750							...D...E...D...EE...	12 7

【0322】

このようにして、pH 6.0では'029親と比較してVISTA-ECDに対する k_{off} を維持または改善する複数の'029子孫クローンを同定し、また、生理的pHでは k_{off} が弱くなるかまたはVISTAとの結合が失われたりすることが実証された。'015子孫は酸性pHでVISTA-ECDに選択的に結合し、中性pHではVISTAとの結合は検出されなかったが、pH 6.0で全ての'015子孫が'015親と比較してより速い k_{off} を示した。

【0323】

実施例10：酸性pH選択的'029子孫は、VISTA遮断活性を維持したまま、酸性

10

20

30

40

50

pH依存性の細胞結合およびエフェクター機能を発揮する。

全長ヒトVISTA（配列番号1、D187E置換を含む）を異所的に発現するように操作されたRaji細胞へのクローン'761および'767のpH依存性の結合を測定した。この実験では、'761および'767をIgG1.3抗体としてフォーマットし、抗ヒトIgG二次抗体（Jackson ImmunoResearch カタログ番号109-065-098）によって結合を測定した。図8A-8Bに示す結果は、クローン'761（図8A）およびクローン'767（図8B）が、pH7.2および8.1では結合が不十分だが、酸性pH、特にpH6.0、6.1、6.2および6.4では良好であることを示している。結合MFIはy軸にプロットされ一次抗体濃度は対数スケールでx軸にプロットされている。非線形回帰も示されている。

10

【0324】

図8Cは、異なるpHにおいて3125ng/mLでヒトVISTAを発現するRaji細胞に結合するP1-068767（丸）およびアイソタイプ一致の非特異的コントロール抗体（三角形）を測定する図8A-Bに記載の実験からのデータを示す。P1-068767の結合の50%が失われるpHである「pH50」は、約6.6である。結合MFIはy軸にプロットされ、緩衝液pHはx軸にプロットされている。非線形回帰も示されている。

【0325】

図8Dは、ヒト単球に結合している、アイソタイプが一致する非特異的コントロール抗体（pH7.0が塗りつぶされた円で、pH6.0が塗りつぶされていない円）、抗VISTA mAb 2（「コントロール」、図6C参照、pH7.0が塗りつぶされた四角形で、pH6.0が塗りつぶされていない四角形）、P1-068761（pH7.0が塗りつぶされた三角形で、pH6.0が塗りつぶされていない三角形）およびP1-068767（pH7.0が塗りつぶされた逆三角形で、pH6.0が塗りつぶされていない逆三角形）のMFIを示す。図8A-Bに記載されているように結合が検出された。非pH選択的VISTAコントロール抗体（mAb 2）は、両方のpHで単球に結合した。両方の操作された酸性pH選択的抗体は、pH6.0で単球によく結合したが、pH7.0で非特異的アイソタイプ一致コントロールよりも良好には結合しなかった。したがって、クローン'761および'767は、中性pHではVISTAに弱い結合を示すかまたは全く結合せず、代わりに酸性pHで細胞上のVISTAに選択的に結合する。

20

30

【0326】

図8Eは、'029（四角形）、'761（三角形）および'767（逆三角形）による、組換えVISTA多量体の活性化ヒトCD4+ T細胞へのpH6.0での結合の同等の遮断を示す一方、非VISTA特異的コントロール抗体（丸）はVISTA結合を遮断しなかったことも示している。この遮断アッセイは、実施例4に記載されているように実施した。これらのデータは、酸性pH選択的に操作されたVISTA抗体は、酸性pHでVISTA受容体リガンド結合を遮断することが依然可能であることを示している。

【0327】

生理的pHでの抗体依存性細胞傷害性（ADCC）を介した標的細胞（図8A-Bで説明したヒトVISTAを発現する同じRaji細胞）のNK細胞特異的な溶解を、P1-061029. IgG1f、P1-068761. IgG1f、P1-068767. IgG1f抗体、非VISTA特異的抗体、および非VISTA特異的ネガティブコントロール抗体について測定し、全てアフコシル化IgG1抗体として発現させた。NK細胞を、ネガティブビーズセレクション（StemCell Technologies カタログ番号19055）によりPBMCから濃縮し、1Mヒドロコルチゾン（StemCell Technologies カタログ番号07904）および500U/mL組換えヒトIL-2（PeproTech カタログ番号200-02）を補充したMyeloCult™培地（StemCell Technologies カタログ番号05150）中で一晩培養した。アッセイの日に、ヒトVISTAを異所的に発現するRaji細胞（図8A-Bで説明）をCalcein AM（Life Technologies カタログ番号

40

50

C3100MP)で標識し、NK対標的細胞比10:1で培養したNK細胞、ならびにP1-061029 IgG1f、P1-068761. IgG1f、P1-068767. IgG1f抗体、非VISTA特異的抗体および非VISTA特異的ネガティブコントロール抗体と一緒に生理的pHで2時間共培養した。特異的な溶解は、上清の蛍光シグナル(EnVision™プレートリーダー)から補間した。抗体を用いない共培養から自然溶解シグナルが得られ、最大溶解シグナルを、Delfia(登録商標)溶解緩衝液(PerkinElmerカタログ番号4005-0010)を用いた標的細胞の溶解によって決定した。抗体特異的溶解は、観察された溶解の割合を、最大溶解シグナルから自然溶解シグナルを差し引いた値で割って算出した。

【0328】

図8Fに提供している結果は、生理的pHでの抗体依存性細胞傷害性(ADCC)を媒介する際に、P1-061029およびポジティブコントロールと比較して、P1-068761. IgG1fおよびP1-068767. IgG1fの力価が減少していることを示す。

【0329】

実施例11: VISTA抗体のcyno PK

ヒト抗ナイーブのカニクイザルに、酸性pHと中性pHとで同等に結合するVISTA抗体(「コントロール」; mAb2)、酸性pHでの結合が損なわれたVISTA抗体(「酸性pH感受性」; mAb3)、酸性pH選択的抗体「767のいずれかを5mpkの単回投与で静脈内注射し、これらの抗体のcyno PKを決定した。

【0330】

本実施例で使用した抗体のSPR結合速度は表11に示しているが、以下のように決定した。酸性pH選択的抗体およびコントロール抗VISTA抗体に対するcyno VISTA交差反応性を酸性および中性pHで評価した。VISTA Abに対する結合親和性測定は、Biacore(登録商標)T100機器(GEヘルスケア)を用いて実施した。プロテインA(ThermoFisher Scientific カatalog番号#21181)を10mM酢酸ナトリウム(pH4.5)で20μg/mlに希釈し、メーカーのアミンカップリングプロトコル(GEヘルスケア)に従ってCM5バイオセンサーのフローセルに固定化し、フローセルあたり2000RUのプロテインA固定化密度を目標とした。アッセイを、PBST(137mM塩化ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、10mMリン酸緩衝液、0.05%Tween20)ランニング緩衝液を用いて、pH7.4および6.0で37℃で行った。抗体(IgG1.3抗体としてフォーマット)をPBST pH7.4で25nMに希釈し、活性バイオセンサーフローセル全体で5μl/minで45秒間捕捉した。1600-0.78nM(pH7.4および100-0.78nM(pH6.0)の一価hVISTA-ECD(配列番号325)およびcyno VISTA-ECD(AFKVATLYSLYVCPEGQNVTLTCRVFGPVDKGHDVTFYKTWYRSSRGEVQTCSERRPIRNLTFQDLHLHHGGHQAANTSHDLAQRHGLEASDHHGNFSITMRNLTL LDSGLYCCLVVEIRHHHSEHRVHGAMELQVQTGKDAPSSSCVAYPSSSQESENITAHHHHHH; (配列番号326)の濃度シリーズをランニング緩衝液中で調製し、40μl/minで捕捉した抗体に注入し、会合および解離を測定した。10mMグリシンpH1.5の2つの15秒の注入を使用して、アッセイサイクルの合間にプロテインAキャプチャー表面を再生した。速度定数ka(kon)およびkd(koff)は、参照フローセルおよび0nMブランク差引センサーグラムから導出し、Biacore(登録商標)T200評価ソフトウェアv.2.0で1:1結合モデルに当てはめた。親和定数KDは、各VISTA抗体の速度定数の比率koff/konとして算出された。pH7.4/pH6.0でのkoffとKDの比率を算出して、中性pHと比較した酸性pHでのオフ速度および親和性の違いを表11に示す。試験した全ての抗VISTA抗体は、試験した両方のpHで同等(2倍以内)ヒトおよびcyno VISTA速度論的結合パラメーターを示し、cyno VISTAとの交差反応性を確認した。両方の

10

20

30

40

50

5) で $20 \mu\text{g}/\text{mL}$ に希釈し、メーカーのアミンカップリングプロトコル (GE ヘルスケア) に従って CM3 バイオセンサーのフローセルに固定化し、フローセルあたり 800 RU のプロテイン A 固定化密度を目標とした。SPR 実験を、PBST (137mM 塩化ナトリウム、 2.7mM 塩化カリウム、 10mM リン酸緩衝液、 0.05% Tween 20) ランニング緩衝液を用いて、 $\text{pH} 7.4$ および 6.0 で 25°C で行った。抗体を PBST $\text{pH} 7.4$ で 50nM に希釈し、活性バイオセンサーフローセル全体で $5 \mu\text{L}/\text{min}$ で 60 秒間捕捉した。100–10 nM の一価の hVISTA-ECD (配列番号 325)、アビジン (ThermoFisher Scientific カタログ # 21128)、サイトクロム C (Sigma カタログ # C2867)、BSA (Calbiochem カタログ # 126593)、および一価のコントロール抗原 (「Ag」) の濃度シリーズを $\text{pH} 7.4$ および 6.0 のランニング緩衝液中で調製し、捕捉した抗体に $50 \mu\text{L}/\text{min}$ で注入して結合特異性を評価した。10 mM グリシン $\text{pH} 1.5$ の 2 つの 15 秒の注入を使用して、アッセイサイクルの合間にプロテイン A キャプチャー表面を再生した。Biacore (登録商標) T200 評価ソフトウェア v. 2.0 を使用して、参照フローセルと 0 nM ブランク差引センサーグラムを検査した。結果を 12 に示す。

表 12: 高 pI を持つタンパク質と VISTA クローンの結合

試料	等電点 (pI)	'029		'761		'767		抗 Ag		PBS (抗体なし)	
		pH 6	pH 7.4	pH 6	pH 7.4	pH 6	pH 7.4	pH 6	pH 7.4	pH 6	pH 7.4
ヒト VISTA-His	6.9										
アビジン	10										
サイトクロム C	10.7										
BSA	4.7										
Ag-His	6.5										

【0333】

表 12 において、試料の注入終了時に $> 10 \text{RU}$ SPR 結合応答と定義される特異的結合は、塗りつぶされた灰色のボックスによって示されている。「抗 Ag」は、VISTA 結合コントロール Ab である。「029 クローム」は、酸性および中性 pH において VISTA に特異的であった。「029 子孫クローム 761 および 767」は、酸性 pH において VISTA に対して特異的であったが、コントロール抗体もまた抗原特異性を維持した。pI コントロールタンパク質のプロテイン A 参照表面への非特異的結合 (「NSB」) は、このアッセイでは観察されなかった。

【0334】

したがって、「761 および 767」の VH CDR に導入された荷電アミノ酸は、これらの抗体を、アビジンおよびサイトクロム C などの他の高 pI タンパク質、または BSA などの低 pI タンパク質に静電的に結合させることはない。

【0335】

実施例 13: 抗体「761 および 767」による T 細胞活性化の阻害

本実施例は、Jurkat T 細胞活性化の hVISTA 阻害を遮断する抗体「761 および 767」の能力を決定するために実施することができるアッセイを記載している。

【0336】

実施例 5 に記載したのと同じアッセイを使用する。簡潔には、NFkB ルシフェラーゼレポーターを発現する Jurkat (ヒト T 細胞株) 細胞を、ヒト VISTA を発現する 293T 細胞および抗ヒト T 細胞受容体アゴニスト抗体 OKT3 の一本鎖可変断片と一緒に

様々なpHで共培養する。抗VISTA抗体'761および'767またはアイソタイプが一致する非VISTA特異的コントロール抗体を共培養細胞に加える。Jurkat活性化は、ルシフェラーゼユニットとして、およびコントロールと比較した抗VISTA処理によるルシフェラーゼシグナルの倍増として示される。

【0337】

実施例14：突然変異解析により、VISTA抗体にpH依存性の結合特性を与える重要な残基が同定された。

抗体P1-068761、IgG1.3およびP1-068767、IgG1.3は、P1-061029からの5-6個の突然変異を含む(表7)。突然変異解析は、VISTA抗体のpH依存性特性を付与するのに重要な残基を同定するために実施された。このように、P1-068761およびP1-068767のN-1(P1-061029への1アミノ酸の復帰)およびN-2(P1-061029への2アミノ酸の復帰)変異体のパネルを合成し、IgG1.3として発現させ、pH6、pH6.7およびpH7.4でのhVISTAへのそれらの結合について解析した。

【0338】

結合速度は、Biacore(登録商標)T100機器(GEヘルスケア)を用いて測定した。プロテインA(ThermoFisher Scientific カタログ#21181)を10mM酢酸ナトリウム(pH4.5)で20μg/mlに希釈し、メーカーのアミンカップリングプロトコル(GEヘルスケア)に従ってCM5バイオセンサーのフローセルに固定化し、フローセルあたり2000RUのプロテインA固定化およびkd(koff)は、参照フローセルおよび0nMブランク差引センサーグラム密度を目標とした。アッセイを、PBST(137mM塩化ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、10mMリン酸緩衝液、0.05%Tween20)ランニング緩衝液を用いて、pH7.4、6.7および6.0で37℃で行った。抗体をPBST pH7.4で25nMに希釈し、活性バイオセンサーフローセル全体で5μl/minで40秒間捕捉した。100-10nMの一価のhVISTA-ECD(配列番号325)の濃度シリーズをpH7.4および6.0のランニング緩衝液中で調製し、40μl/minで捕捉した抗体に注入して、会合および解離を測定した。10mMグリシンpH1.5の2つの15秒の注入を使用して、アッセイサイクルの合間にプロテインAキャプチャー表面を再生した。速度定数ka(kon)およびkd(koff)は、参照フローセルおよび0nMブランク差引センサーグラムから導出し、Biacore(登録商標)T200評価ソフトウェアv.2.0で1:1結合モデルに当てはめた。

【0339】

親和定数KDは、各VISTA抗体の速度定数の比率koff/konとして算出された。%Rmaxは、pHが抗体のVISTAに対する結合能にどのように影響するかを比較するために算出され、予想最大VISTA結合能に対する測定された最大VISTA結合能を表す。%Rmaxは、予想VISTA結合応答(Rexp)に対する各抗体の100nMのVISTA注入の終了時の参照差引された「結合」報告点応答(Rmax)の比率と定義される。Rexpは、 $R_{exp} = [(VISTA-ECDF分子重量 / mAb分子重量) \times (mAb「捕捉」報告点応答(RU))] \times mAbあたりの2結合部位$ として算出される。

【0340】

P1-068761復帰変異体について得られたSPRの結果を、pH6.0のkoffを遅いものから速いものまでランク付けして、図10Aに示す。表中、100nMのhVISTAに対して弱い応答しか示さないかまたは結合応答を全く示さない(<10RU)抗体は、非結合(NB)として分類した。これらの結果は、これらのP1-061029親配列への復帰が生理的pH(%Rmax>10)での有意なhVISTA結合を可能にしたことから、32位のE(すなわち'761のVHCDR1のアミノ酸残基7)と100f('761のVHCDR3のアミノ酸残基12)の両方が酸性pH選択性を維持するために必要であることを示している。さらなる解析により、E55A('761のVHCDR2におけるアミノ酸残基6)の復帰を有する変異体は、酸性pH選択性を維持し、P

1-068761の2倍以内で同等の結合速度を示したことが明らかになった。対照的に、H100G、E56NおよびE30D（それぞれ'761のVH CDR3のアミノ酸残基12、VH CDR2のアミノ酸残基7およびVH CDR1のアミノ酸残基4）を持つ変異体は酸性pHでの選択性を維持していたが、これらのmAbはまた、酸性pHでP1-068761と比較して約3倍速い k_{off} を示し、酸性pHでのこれらの変異体のオフ速度をP1-061029親クローンに近づけた。このように、元のP1-061029クローンにG100H、N56Eおよび／またはD30E突然変異を加えることは、酸性選択的なP1-068761クローンで観察された酸性pHのVISTA親和性の改善に寄与した。

【0341】

P1-068767復帰変異体について得られたSPRの結果を、pH6.0の k_{off} を遅いものから速いものまでランク付けして、図10Bに示す。これらの結果は、102位のD（すなわち'767のVH CDR3のアミノ酸残基14）が酸性pH選択性を維持するために必要であり、D102VのP1-061029親配列への復帰が中性pHでの有意なhVISTA結合（%Rmax>10）を可能にしたことを示している。さらなる解析により、E30D、D52NおよびE55A（'767のVH CDR1のアミノ酸残基4、VH CDR2のアミノ酸残基3およびVH CDR3のアミノ酸残基6）の復帰を有する変異体は、酸性pH選択性を維持し、P1-068767の2倍以内で同等のpH6.0結合速度を示したことが明らかになった。対照的に、E100fF（'767のVH CDR3のアミノ酸残基12）の復帰を有する変異体は、酸性pHでの k_{off} がP1-068767と比較して3倍以上速いにもかかわらず、酸性pH選択性を維持した。注目すべきことに、E100fFの復帰を有する変異体は、親mAb P1-061029と比較して酸性pHでさらに速い k_{off} を示した。

【0342】

得られた確証的速度論的結合データは、（実施例9に記載の方法を用いて）いくつかの復帰変異体で得られたものであり、表22および23に示している。

【0343】

このように、P1-061029（pH耐性）に対するP1-068761およびP1-068767（酸性pH選択的）の復帰突然変異体の概要は、表13に示す通りである（HCDR1、HCDR2およびHCDR3はアンダースコア下線で区切られている）。

表13：

配列番号

P1-061029 GFTLDDYAMH_GINWNSANIGYADSVKG_VPGYSGGWIDAFDV 67

P1-068761 E.E...EE.....H.....E.. 51

P1-068767 E.....D...E.....E.D 55

アミノ酸位置26-35 50-66 99-110

【0344】

表13のP1-061029、P1-068761およびP1-068767についての上記VH CDR配列は、それぞれ配列番号67、51、55のアミノ酸（「アミノ酸位置」）26-35、50-66、99-110にある。酸性pH選択性に必要な主要な突然変異は太字で示され、P1-068761およびP1-068767と比較してpH6.0kdに3倍以上の影響を与える突然変異には下線が引かれている。

【0345】

次に、突然変異F100fE、V102DおよびY32Eを'029に単独でまたは一緒にして導入し、これらのアミノ酸置換が'029をpH選択的にするのに十分であるかどうかを決定した。抗体P1-061029__F100fE__V102D（P1-072000）；P1-061029__F100fE（P1-072002）；P1-061029__V102D（P1-072004）；P1-061029__Y32E（P1-072006）、およびP1-061029__Y32E__F100fE（P1-072008）を作製し、これらの結合速度を実施例9に記載したように決定した。これらの抗体のCDRのアミノ酸配列を表23に示す。表22に示す結果から、V102Dは'029をpH選択

的にするのに十分であるが、F100fEも存在すると結合速度が改善されることがわかる。しかし、F100fEまたはY32Eは、単独では、'029をpH選択的にすることはできない。

【0346】

実施例15：VISTA抗体エピトープのマッピング

IgG1.3抗体としてフォーマットされた'015、'029、'761および'767のhVISTAエピトープは、BLI（バイオレイヤー干渉法）競合と酵母表面ディスプレイの2つの異なる方法で決定された。

【0347】

競合BLIエピトープビニングアッセイを実施して、酸性pH選択的VISTA抗体P1-068761およびP1-068767がP1-061029親、P1-061015、ならびに関連するVISTAコントロール抗体1、2および3と比較してVISTA上に類似または重複するエピトープを保持しているかどうかを評価した。サンドイッチおよびタンデムフォーマットのビニングアッセイを、OctetRed384 BLI機器（PAL/forteBio）で実施した。全てのアッセイステップは30°Cで1000rpmの振盪速度で実施し、使用した緩衝液は酸性（pH6.0）または中性（pH7.4）のPBST（137mM塩化ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、10mMリン酸緩衝液、0.05%Tween20）であった。サンドイッチフォーマットの場合、抗ヒトIgG-Fcセンサー（AHC、PAL/forteBio）は、最初にpH7.4でVISTA抗体パネルを捕捉し、その後抗ヒト捕捉センサーを全ヒトIgG（Jackson #009-000-002）で遮断した。次に、ヒトVISTA-ECDをpH6.0で捕獲し、最後にpH6.0で全ての可能な抗体の組み合わせについての競合を評価した。タンデムフォーマットアッセイの場合、ストレプトアビジンでコーティングされたバイオセンサー（SAX、PAL/forteBio）が最初にpH7.4でビオチン化hVISTA-ECDを捕捉し、その後センサーがpH6.0で完全なVISTA抗体パネルを捕捉し、pH6.0で全ての可能な抗体の組み合わせとの競合を評価する前にVISTA上の各抗体の完全な結合飽和を確かなものにした。

【0348】

競合BLIエピトープビニングアッセイの結果は、競合マトリックス、図11Aにまとめられている。この図では、最初に捕捉された抗体が行に記載されており、（第2の）競合抗体に対するその結合または遮断活性が各列に示されている。競合マトリックスは、両方のアッセイフォーマットについて同一であった。サンドイッチアッセイの場合、競合抗体の結合（薄い灰色）は、0.4-1.2nmの間にわたるシグナルによって定義され、遮断された抗体（黒）は、非結合シグナル<0.1nmを示した。タンデムアッセイの場合、競合抗体の結合は、0.3-0.8nmの間にわたるシグナルによって定義され、遮断された抗体は、非結合シグナル<0.2nmを示した。「VISTA mAb 3」は、37°CでのSPRによるhVISTA-ECDからの速い酸性pH解離を示したが（図6C）、いずれのBLIアッセイフォーマット（30°Cで実施）でも迅速に解離しなかった。これらの競合アッセイは、P1-061015、P1-061029、酸性pH選択的抗体P1-068761およびP1-068767、ならびにVISTA抗体2および3が全てVISTA上の類似または重複エピトープについて互いに競合していることを示した。しかしながら、VISTA抗体1は、別個の異なるエピトープに結合する。したがって、酸性選択的クローンP1-068761およびP1-068767を生成するためにP1-061029のVH CDRに導入された荷電アミノ酸突然変異は、VISTA結合エピトープを大きくは変化させていない。

【0349】

抗体'029、'015、'761および'767のエピトープも、Chao et al. (2004) J. Mol. Biol. 342:539-550, Oliphant et al. (2006) J. Virol. 80:12149-12159、およびKowalsky et al. (2015) J. Biol. Chem. 290 (26457-26470)の方法に従って酵母表面ディスプレイおよびNGSを使用してマッピングされた。簡潔には、VISTA

10

20

30

40

50

E C Dの単一点突然変異体 (s i n g l e p o i n t m u t a n t) の飽和変異誘発ライブラリーが生成され、酵母の表面にディスプレイされた。マッピングされている抗体への結合は失ったが、非遮断抗体 (m A b 1) への結合を保持した V I S T A 突然変異体を選別し、配列決定した。これらの突然変異体は m A b 1 との結合を保持していたため、正しく折り畳まれていた可能性が高く、マッピングされている抗体に見られる結合の喪失は、エネルギー的に重要な接触残基の喪失によるものである可能性が高かった。これらの突然変異の位置は、抗体のエピトープ内のエネルギー的に重要な残基として指定され、表 1 4 に示されている。

表 14: 抗VISTA mAbのエピトープ残基として同定されているhuVISTAの残基

mAb	T 36	Y 37	K 38	T 39	Y 41	R 54	T 61	F 62	Q 63	L 65	H 66	L 67	H 68	H 69	F 97	L 115	V 117	I 119	H 121	H 122	S 124	E 125	R 127
P1-061015		X	X	X		X		X	X	X					X	X	X	X			X	X	
P1-061029		X		X		X	X	X	X	X	X		X			X	X	X			X	X	X
P1-068761	X	X		X		X	X	X	X		X	X	X	X		X	X	X			X	X	X
P1-068767		X		X	X	X	X	X	X	X	X					X	X	X	X			X	X

表 15 には、表 14 の詳細データが含まれ、酵母表面ディスプレイ／NGS 法で観察された残基頻度に基づいて、リスト上の各抗体の結合を低減させる可能性が高い h V I S T A のアミノ酸残基列挙されている。

表15: リスト上の抗体の結合を低減させる可能性の高いVISTAアミノ酸置換

	P1-061015 pH 6	P1-061015 pH 7	P1-061029 pH 6	P1-061029 pH 7	P1-068761 pH 6	P1-068767 pH 6
T35					P, Y, W	
Y37	P, G, A, S, T, K, R, H, N, D, E, Q	P, G, S, N, D, E, Q	Y, S, T, V, L, I, M, K, R, N, D, Q	P, G, S, T, V, L, I, M, K, R, N, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, I, M, K, R, N, D, E, Q	G, T, V, L, I, M, K, R, N, Q
K38	P, G, A, S, V					
T39	G, M, R, H, F, Y, W, N, D, E, Q	M, K, R, H, F, Y, W, D, E, Q	G, A, S, M, Y, W, N, D, E, Q	G, A, S, V, L, M, R, H, F, Y, W, N, D, E, Q	G, Y, D, E	G, A, S, H, Y, W, N, D, E, Q
Y41				A, S, T, I, M		P, I, M, H
R54	L, M, F, Y, E	M, E	P, A, T, V, I, M, F, Y, N, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, I, M, H, F, Y, W, N, D, E, Q	A, T, V, L, I, M, K, F, Y, E, Q	P, A, S, T, V, L, I, M, F, Y, W, D, E, Q
T61			G, L, R, H, F, Y, D, E, Q	V, L, K, R, H, F, Y	G, V, H, Y, D	L, R, H, F, Y, D, E
F62	G, A, S, M, K, R, N, D, E, Q	G, K, R, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, I, M, H, Y, W, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, I, M, K, R, H, Y, W, N, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, M, H, Y, W, D, E, Q	P, G, A, S, T, V, L, M, H, Y, W, N, D, E, Q
Q63	G, R, W, D, E	W, D, E	G, A, S, T, V, K, R, H, Y, W, N, D, E	P, G, S, T, L, M, K, R, H, F, Y, W, N, D, E	G, S, T, K, H, Y, N, D, E	P, G, A, S, T, V, L, I, M, K, H, F, Y, W, N, D, E
L65	P, G, A, S, T, K, R, H, W, N, D, E, Q	P, G, S, K, W, D, E, Q	G, T, Y, D, E, Q	P, G, A, S, T, H, Y, W, N, D, E, Q		P, G, S, H, D, E, Q
H66	P, T, V, L, I, M, K, R, F, Y, W	P, T, V, L, I, M, K, R, F, Y, W	T, V, L, I, Y, D, E, Q	G, S, T, V, L, I, M, K, R, W, N, D, E	T, I, K, W, D	T, V, I, K, W, D, E

10

20

30

40

50

	P1-061015 pH 6	P1-061015 pH 7	P1-061029 pH 6	P1-061029 pH 7	P1-068761 pH 6	P1-068767 pH 6
				Q		
L67					G, A	
H68			L, I, M, F, E	L, I, E	G, T, V, L, I, Y, W, D, E, Q	
F97	G, D, E					
L115	R, W		A, T, K, N, Q	A, T, K, F, N, Q	A, T, M, K, F, N	A, T, K, F, N, Q
V11 7	M, K, N, D	M, K, R, W, E	T, M, K, R, W, E	T, L, I, M, K, R, W, E	T, I, M, K, W	T, L, I, M, K, R, W, E
I119	F, P	P, N	P, M, E	P, M, E	M, H	P, M, H, F, N, E
H12 1						V, E, Q
H12 2						P, Y, N, D
S12 4	P, V, L, I, K, F, D, E	L, I, M, H, W, Q	L, I, M, H, W, Q		L, I, M, Q	L, I, M
E125	A, S, T, L, M, K, H, Y, D	A, T, V, I, M, K, H, F, Y, W, N, D	T, V, I, M, H, F, Y, W	G, T, K, H, Y, W, N, D	V, I, H, N	T, V, I, F, Y, W, N
R12 7			S, V, M, H	P, S, V, M, K, H, N	P, V, M, N	P, S, V, M, H, N

【0351】

図11Bと図11Cにより、非遮断hVISTA抗体(mAb1; 図11C)のエピトープと比較した、表14に列挙されているhVISTA抗体を遮断するための全残基を包含するエピトープの描写を示す。アミノ酸残基66(H)および162(A)は、分子の配向を示すために表示されている。ヒスチジン残基は灰色であり、エピトープ残基は黒色である。注目すべきことに、全ての遮断抗VISTA mAbは同じエピトープ領域を占めており、オクテットビニングデータと一致する(それらが互いに競合していることを示している)が、クエリ抗体間でわずかな残基の違いがある。対照的に、非遮断hVISTA抗体(mAb1)は、hVISTA分子上の異なるエピトープ領域を占めており、これは、オクテットビニングデータが、遮断mAbのいずれもmAb1と競合しなかったことを示すオクテットビニングデータによってさらにサポートされる。

【0352】

実施例16: ‘761および‘767の生物学的特性

P1-068761およびP1-068767の物理的および化学的特性を、以下の分析的小および生物物理学的手法により、親P1-061029(いずれもIgG1.3定数領域を有する)のものと比較した。

【0353】

分析用SECデータは、ShodexTM KW403-4Fカラム(4.6mmID×300mmL)を使用するAgilent 1260 HPLC機器を用い、0.30mL/minの流量で流れる、100mMリン酸ナトリウム、150mM塩化ナトリウムを含有する緩衝液(pH7.3)(0.2μm濾過済み)で取得された。データは、280nm

で収集するように設定されたAgilent 1260 Infinity Diode Array Detectorによって収集し、Agilent Chemstationソフトウェア（カリフォルニア州サンタクララのAgilent社）で分析した。

【0354】

画像キャピラリー等電気泳動（i c I E F）データAlcott 720 NVオートサンプラーを備えたProtein Simple i C E 3機器で取得した。抗体試料を、最終濃度が0.2 mg/ml抗体、0.35%メチルセルロース、2.0 M尿素、1% v/vファルマライト（pI 5-8）、および3% v/vファルマライト（pI 8-10.5）となるように、分離混合物（separation mixture）と混合した。これらの試料は、Protein Simple c I E FカートリッジFコーティング（製品# 101701）で、1500 Vで1分のプレ焦点化時間と3000 Vで10分の焦点化時間を用いて分析された。i C E C F Rソフトウェア V4.3.1.5352を使用して、データを分析した。

【0355】

抗体の流体力学的サイズは動的光散乱（D L S）によって決定され、熱安定性は蛍光分光法とUNcle分子特性評価機器（Unchained Labs）を使用した静的光散乱（S L S）によって特徴付けられた。抗体P1-061029、P1-068761およびP1-068767を、1 X P B S緩衝液中で2 mg/mlの濃度で調製し、その後、pH 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0または9.0の20 mMトリス/1 X P B S中1 mg/ml抗体または20 mMクエン酸塩/1 X P B S中1 mg/ml抗体の最終試料を得るために、異なるpH、1 X P B S中40 mMトリスまたは1 X P B S中40 mMクエン酸塩のいずれかで1:1希釈した。これら試料をUNiキュベットカートリッジにロードし、様々なpH製剤に希釈して1時間以内に解析した。D L Sデータは、5秒ずつ4回の取得を使用して、25℃で収集された。強度自己相関関数は、UNcle解析ソフトウェアバージョンV2.0を使用して当てはめられた。熱変性データは、25℃から90℃までの試料を0.50/minのスキャン速度でスキャンし、266 nmと473 nmで励起することによって得られた。蛍光データは、250 nm-720 nmの範囲で取得された。UNcle解析ソフトウェアバージョンV2.0を使用して、蛍光およびS L Sデータを解析した。

【0356】

抗体P1-061029、P1-068761およびP1-068767のみかけ粘度を、UNcle分子特性評価機器（Unchained Labs）で、Unchained Labs推奨プロトコルに従い、製剤化された抗体溶液の存在下でのポリスチレンビーズの拡散速度を測定するビーズベースのD L S法を用いて測定した。簡潔には、100 nmのポリスチレンビーズ（Thermo Scientific カタログ# 3100A）の10%溶液を、0.5%のtween 80を含む製剤緩衝液中で調製した。このポリスチレンビーズ混合物3 μlを30 μlの製剤化された抗体（20 mMヒスチジン、260 mMスクロース（pH 6.0）中の様々なAb濃度）に添加し、得られたタンパク質/ビーズ混合物をUNiキュベットカートリッジ（各レーン9 μl）の3つの独立したレーンにロードして、3回の解析を行った。データは、UNcle解析ソフトウェアバージョンV2.0を使用して、1.3 cPの参照粘度を使用して解析された。

【0357】

抗体P1-061029、P1-068761およびP1-068767の物理的安定性は、20 mMヒスチジン、260 mMスクロース（pH 6.0）で50 mg/mlの抗体試料を調製し、40℃の熱ストレスに4週間さらすことにより、加速ストレス条件下で研究された。アリコートを、40℃インキュベーションの直前（ゼロ時間 = t0）、および1週間（1w）の熱ストレスの後と4週間（4w）の熱ストレスの後に除去し、試料を製剤緩衝液を用いて2 mg/mlに希釈し、a S E Cで分析した。a S E Cデータは、Shodex KW403-4Fカラム（4.6 mm I D X 300 mm L）を使用するAgilent 1260 H P L C機器を用い、0.30 mL/minの流量で流れる、100 m

Mリン酸ナトリウム、150mM塩化ナトリウムを含有する緩衝液（pH7.3）（0.2μm濾過済み）で取得された。データは、280nmで収集するように設定されたAgilent 1260 Infinity Diode Array Detectorによって収集し、Agilent Chemstationソフトウェア（カリフォルニア州サンタクララのAgilent社）で分析した。

【0358】

結果は以下の通りであった。分析用サイズ排除クロマトグラフィー（aSEC）データは、各抗体試料が99.3%以上のモノマー（メインピーク）、0.7%未満の高分子量（HMW）種、および検出不可能なレベルの低分子量（LMW）種から構成されている3つの抗体（表16）全てを高純度に精製することができたことを示した。

表16： 高分子量種の割合(%HMW)、モノマー／メイン種の割合(%メイン)および低分子量種の割合(%LMW)を示す、抗VISTA抗体の分析用SECデータ

試料名	%HMW	%メイン	%LMW
P1-061029	0.4	99.6	0.0
P1-068761	0.6	99.4	0.0
P1-068767	0.5	99.5	0.0

【0359】

画像キャピラリー等電気泳動（icIEF）（icIEF）によって決定された抗体P1-061029の電荷変異体プロファイルは、8.56の等電点（pI）を有するメイン種（69.4%）と30.6%の酸性種の存在を示した。（図12A-C）P1-068761は、6.69の等電点（pI）を有するメイン種（66.4%）と33.6%の酸性種を示した。P1-068767は、6.63の等電点（pI）を有するメイン種（61.4%）と38.6%の酸性種を示した。したがって、酸性種、塩基性種およびメイン種の分布は、3つの抗体について類似しているが、操作された抗体P1-068761およびP1-068767は、親であるP1-061029抗体よりも著しく低い等電点を有している。

【0360】

P1-061029、P1-068761およびP1-068767のオリゴマーの状態を、異なるpHの緩衝液中で動的光散乱（DLS）を用いて3-9のpH範囲で測定した。各抗体の全ての流体力学的半径（Rh）値（表17）は4.8-5.7nmの範囲であり、これはモノマー抗体サンプルに典型的なものである。このことは、これらの抗体は、3-9の間のpHを有する製剤への希釈後最初の1時間以内に、1mg/mlで検出可能なレベルの高分子量凝集種を形成しないことを示唆している。

表17: pH3-pH9のpH範囲にわたる抗VISTA抗体の1mg/mlの試料について、DLSで決定された流体力学的半径

pH	緩衝液	Rh (nm) P1-061029	Rh (nm) P1-068761	Rh (nm) P1-068767
9	20mM トリス / 1 X PBS	5.2	4.8	5.2
8	20mM トリス / 1 X PBS	5.2	5.2	5.2
7	20mM トリス / 1 X PBS	4.8	5.2	5.2
7	20mM クエン酸塩 / 1 X PBS	4.8	5.2	5.7
6	20mM クエン酸塩 / 1 X PBS	5.2	5.2	4.8
5	20mM クエン酸塩 / 1 X PBS	5.2	4.8	5.2
4	20mM クエン酸塩 / 1 X PBS	4.8	4.8	5.2
3	20mM クエン酸塩 / 1 X PBS	5.2	5.2	5.2

【0361】

P1-061029、P1-068761およびP1-068767の熱安定性を、異なるpHの緩衝液中で温度に応じて蛍光および静的光散乱をモニターすることにより、3-9のpH範囲にわたって測定した。IgG1抗体のCH2ドメインの変性を通常表す第1の熱変性転移点(T_{m1})を蛍光によって決定し、表18に示し、また、IgG1抗体のFABドメインの変性を通常表す凝集開始点(T_{agg})を静的光散乱によって測定し、表19に示した。トリス/PBS製剤の中性pH(pH7.0)では、3種の抗体のT_{m1}値は、P1-061029(67.4℃)、P1-068761(67.0℃)およびP1-068767(65.3℃)であり、T_{agg}値は、P1-061029(67.8℃)、P1-068761(67.5℃)およびP1-068767(65.8℃)であった。同じ中性pH7.0またはやや酸性のpH6.0のクエン酸塩/PBS製剤中の各抗体のT_{m1}は、いずれもトリスPBS pH7.0の値の0.7°以内であった。しかし、T_{m1}の値は、各抗体とも、より塩基性のpH8-9ではわずかに低く(0.3°-1.1°の間)、より酸性のpH3-5では著しく低くなっていた。中性pHと比較して、P1-061029のT_{agg}は、より塩基性のpH8.0-9.0ではpH7.0での値の0.1°以内であり、pH5.0では1.0°低く、最も酸性のpH条件pH3.0-4.0ではかなり低かった(6.1°-19.6°低い)。P1-068761およびP1-068767のT_{agg}も、pH3.0-4.0で著しく低かった。ただし、pH5.0ではP1-068761のT_{agg}はpH6.0でのT_{agg}よりもわずかに0.2°低いだけであったのに対し、P1-068767のT_{agg}はpH5.0でpH6.0の場合よりも2.2°低く、各抗体のT_{agg}にいくらか違いがあることを示している(表19)。

10

20

30

40

50

表18： 蛍光分光法によって決定されたpH3-pH9のpH範囲にわたるP1-061029、P1-068761、P1-068767の熱安定性(T_m1値)

pH	緩衝液	T _m 1 (°C) P1-061029	T _m 1 (°C) P1-068761	T _m 1 (°C) P1-068767
9	20mM トリス/1 X PBS	66.6	65.9	65.0
8	20mM トリス/1 X PBS	67.0	66.5	64.8
7	20mM トリス/1 X PBS	67.4	67.0	65.3
7	20mM クエン酸塩 /1 X PBS	67.2	66.9	64.8
6	20mM クエン酸塩 /1 X PBS	67.6	67.5	65.0
5	20mM クエン酸塩 /1 X PBS	64.4	64.7	62.1
4	20mM クエン酸塩 /1 X PBS	51.8	52.0	50.8
3	20mM クエン酸塩 /1 X PBS	30.7	28.1	28.7

10

20

表19： 静的光散乱によって決定されたpH3-pH9のpH範囲にわたるP1-061029、P1-068761、P1-068767の熱安定性(T_{agg}値)

pH	緩衝液	T _{agg} (°C) P1-061029	T _{agg} (°C) P1-068761	T _{agg} (°C) P1-068767
9	20mM トリス/1 X PBS	67.7	67.1	66.0
8	20mM トリス/1 X PBS	67.8	67.5	65.8
7	20mM トリス/1 X PBS	67.8	68.2	65.9
7	20mM クエン酸塩 /1 X PBS	67.8	68.1	65.7
6	20mM クエン酸塩 /1 X PBS	68.1	68.9	65.6
5	20mM クエン酸塩 /1 X PBS	66.8	68.7	63.7
4	20mM クエン酸塩 /1 X PBS	61.7	63.6	56.9
3	20mM クエン酸塩 /1 X PBS	48.2	48.8	41.0

30

40

【0362】

P1-061029、P1-068761およびP1-068767のみかけ粘度を、製剤化された抗体溶液の存在下でポリスチレンビーズの拡散速度を測定するビーズベースのDLS法を用いて測定した。44mg/mlでの3種の抗体全ての比較は、これらの条件下で両方の操作された抗体の粘度が親抗体と同様であることを示している（表20）。第2の研究では、P1-068761およびP1-068767の追加のタンパク質材料を高濃度に濃縮して、136mg/ml、100mg/mlおよび50mg/mlの粘度を分析した。これらのデータは、抗体濃度が高くなるとみかけ粘度が増加することを示して

50

おり、136mg/mlでの最大みかけ粘度がP1-068761で 5.7 ± 0.7 、P1-068767で 5.3 ± 0.6 であった。

表20: ビーズベースのDLS法で測定した、25°Cでの20mMヒスチジン、260mMスクロース(pH6.0)における抗体のみかけの粘度(単位:cP)値は、3つのUNiレーンからのデータの平均と標準偏差を表す。

抗体	みかけ粘度(cP) @ 136mg/ml	みかけ粘度(cP) @ 100mg/ml	みかけ粘度(cP) @ 50mg/ml	みかけ粘度(cP) @ 44mg/ml
P1-061029				1.6 ± 0.1
P1-068761	5.7 ± 0.7	3.1 ± 0.0	1.4 ± 0.2	1.5 ± 0.4
P1-068767	5.3 ± 0.6	3.0 ± 0.3	1.7 ± 0.2	1.6 ± 0.2

10

【0363】

20mMヒスチジン、260mMスクロース(pH6.0)中のP1-061029、P1-068761およびP1-068767の試料50mg/mlの物理的安定性を、40°Cで4週間の加速ストレス条件下で研究した。抗体のオリゴマーの状態は、40°Cインキュベーションの直前(ゼロ時間=t0)、および1週間(1w)の40°Cストレスの後と4週間(4w)の40°Cストレスの後に、試料についてのaSECによりモニターされた。これらのデータは、3種の抗体全てが40°Cで4週間後も96%以上がモノマーのままであり、HMW種(<1.6% HMW)とLMW種(<2.0% LMW)は低レベルであったことを示している(表21)。

20

表21: t0、1wおよび4w試料について高分子量種の割合(%HMW)、モノマー/メイン種の割合(%メイン)および低分子量種の割合(%LMW)を示す、抗VISTA抗体加速安定性試料のaSECデータ

抗体	試料	%HMW	%メイン	%LMW
P1-061029	t0	0.4	99.7	0.0
	1w	0.5	99.4	0.2
	4w	0.8	97.2	2.0
P1-068761	t0	0.6	99.4	0.0
	1w	0.9	98.8	0.3
	4w	1.6	96.4	2.0
P1-068767	t0	0.5	99.5	0.0
	1w	0.8	98.9	0.3
	4w	1.6	96.4	2.0

30

【0364】

実施例17: 生殖系列重鎖フレームワーク領域置換を有する抗VISTA抗体の生成

40

重鎖可変領域フレームワーク領域がK16R置換とT84A置換の一方または両方によって修飾された抗VISTA抗体P1-061029またはその子孫、具体的にはP1-068761、P1-068767、P1-068761_E55A(P1-070868)、P1-068767_D52N(P1-070906)、P1-068767_E55A(P1-070908)およびP1-068767_D52N_E55A(P1-070916)が調製された。(すなわち、抗体P1-070868は、抗体P1-068761_E55AのVHおよびVLのアミノ酸配列を有するが、重鎖フレームワーク領域にK16RおよびT84Aの置換を有する。)これらの置換は、これらの抗体が残基16Rおよび84Aを含む重鎖フレームワーク領域の生殖系列配列にさらによく類似するように行われた。図14は、P1-068761のVHおよびそのCDR配列に対するこれらの

50

アミノ酸残基のそれぞれの位置を示すアライメントを提供する。P 1 - 0 6 8 7 6 1 および他の抗体の V H における K 1 6 R および T 8 4 A 置換は、配列表に示されている。

【 0 3 6 5 】

これらの置換は、' 0 2 9 重鎖が由来する生殖系列のアミノ酸と同じアミノ酸を含むように、これら 2 つの位置のアミノ酸残基を変化させる。1 6 R 残基および 8 4 A 残基は、P 1 - 6 1 0 1 5 V H フレームワーク領域にも存在する（配列番号 9 5 を参照）。

【 0 3 6 6 】

これらの抗体の h V I S T A への結合を、実施例 9 に記載されているように測定した。その結果を表 2 2 に示し、これらの抗体のアミノ酸置換を表 2 3 に示す。その結果は、K 1 6 R および T 8 4 A が ' 0 2 9 子孫の結合速度に著しい影響を与えないことを示している。

【 0 3 6 7 】

したがって、本明細書に記載の抗 h V I S T A 抗体のいずれも、K 1 6 R および／または T 8 4 A を含み得る。K 1 6 R および／または T 8 4 A を有する抗体 P 1 - 0 6 1 0 2 9 _ F 1 0 0 f E _ V 1 0 2 D (P 1 - 0 7 2 0 0 0) ; P 1 - 0 6 1 0 2 9 _ F 1 0 0 f E (P 1 - 0 7 2 0 0 2) ; P 1 - 0 6 1 0 2 9 _ V 1 0 2 D (P 1 - 0 7 2 0 0 4) ; P 1 - 0 6 1 0 2 9 _ Y 3 2 E (P 1 - 0 7 2 0 0 6) および P 1 - 0 6 1 0 2 9 _ Y 3 2 E _ F 1 0 0 f E (P 1 - 0 7 2 0 0 8) が、本明細書に記載のように構築され、それらの結合が試験される。

10

20

30

40

50

表22： 選択されたAbのhVISTAへの結合速度

ID	詳細情報	pH 7.4 ka (1/Ms)	pH 7.4 kd (1/s)	pH 7.4 KD (M)	pH 6.0 ka (1/Ms)	pH 6.0 kd (1/s)	pH 6.0 KD (M)
P1-071757	P1-061029_HC_K16R_T84A (FW 復帰突然変異)	1.3E+05	5.9E-03	4.5E-08	8.1E+05	5.9E-03	7.3E-09
P1-071759	P1-061029_HC_K16R (FW 復帰突然変異)	1.3E+05	6.0E-03	4.6E-08	8.0E+05	5.9E-03	7.4E-09
P1-071761	P1-061029_HC_T84A (FW 復帰突然変異)	1.5E+05	6.0E-03	4.0E-08	8.7E+05	6.0E-03	6.9E-09
P1-071763	P1-068761_HC_K16R_T84A (FW 復帰突然変異)	100nM での結合なし			2.9E+05	1.4E-03	4.9E-09
P1-071765	P1-068761_HC_K16R (FW 復帰突然変異)	100nM での結合なし			2.8E+05	1.4E-03	5.0E-09
P1-071767	P1-068761_HC_T84A (FW 復帰突然変異)	100nM での結合なし			3.1E+05	1.6E-03	5.1E-09
P1-071769	P1-068767_HC_K16R_T84A (FW 復帰突然変異)	100nM での結合なし			2.4E+05	2.6E-03	1.1E-08
P1-071771	P1-068767_HC_K16R (FW 復帰突然変異)	100nM での結合なし			2.5E+05	2.6E-03	1.1E-08
P1-071773	P1-068767_HC_T84A (FW 復帰突然変異)	100nM での結合なし			2.7E+05	2.6E-03	9.8E-09
P1-071775	P1-070868_HC_K16R_T84A	100nM での結合なし			2.5E+05	1.7E-03	6.9E-09

10

20

30

40

50

ID	詳細情報	pH 7.4 ka (1/Ms)	pH 7.4 kd (1/s)	pH 7.4 KD (M)	pH 6.0 ka (1/Ms)	pH 6.0 kd (1/s)	pH 6.0 KD (M)	
	(FW 復帰突然変異)							
P1-071777	P1-070868_HC_K16R (FW 復帰突然変異)	100nM	での結合なし		2.7E+05	1.7E-03	6.4E-09	
P1-071779	P1-070868_HC_T84A (FW 復帰突然変異)	100nM	での結合なし		2.6E+05	1.8E-03	7.0E-09	
	P1-070906_HC_K16R_T84A (FW 復帰突然変異)	100nM	での結合なし		2.2E+05	1.7E-03	7.7E-09	
P1-071781	P1-070906_HC_K16R (FW 復帰突然変異)	100nM	での結合なし		2.2E+05	1.7E-03	7.6E-09	
P1-071783	P1-070906_HC_T84A (FW 復帰突然変異)	100nM	での結合なし		2.5E+05	1.7E-03	6.7E-09	
P1-071785	P1-070908_HC_K16R_T84A (FW 復帰突然変異)	100nM	での結合なし		2.1E+05	2.7E-03	1.3E-08	
P1-071787	P1-070908_HC_K16R (FW 復帰突然変異)	100nM	での結合なし		2.1E+05	2.6E-03	1.3E-08	
P1-071789	P1-070908_HC_T84A (FW 復帰突然変異)	100nM	での結合なし		2.4E+05	2.7E-03	1.1E-08	
P1-071791	P1-070916_HC_K16R_T84A (FW 復帰突然変異)	100nM	での結合なし		2.1E+05	1.7E-03	8.1E-09	
P1-071793	P1-070916_HC_K16R (FW 復帰突然変異)	100nM	での結合なし		2.1E+05	1.7E-03	8.1E-09	
P1-071795	P1-070916_HC_K16R (FW 復帰突然変異)	100nM	での結合なし		2.1E+05	1.7E-03	8.1E-09	

10

20

30

40

50

ID	詳細情報	pH 7.4 ka (1/Ms)	pH 7.4 kd (1/s)	pH 7.4 KD (M)	pH 6.0 ka (1/Ms)	pH 6.0 kd (1/s)	pH 6.0 KD (M)
P1-071797	P1-070916_HC_T84A (FW 復帰突然変異)	100nM での結合なし			2.2E+05	1.7E-03	7.7E-09
P1-072000	P1-061029_F100fE_V102D	100nM での結合なし			2.0E+05	2.3E-03	1.2E-08
P1-072002	P1-061029_F100fE	4.4E+04	8.5E-03	1.9E-07	6.5E+05	1.6E-03	2.5E-09
P1-072004	P1-061029_V102D	100nM での結合なし			1.4E+05	2.5E-02	1.8E-07
P1-072006	P1-061029_Y32E	1.2E+04	6.3E-03	5.4E-07	3.4E+05	1.2E-03	3.5E-09
P1-072008	P1-061029_Y32E_F100fE	100nM での結合なし			2.7E+05	2.4E-02	8.8E-08
P1-070916	P1-068767_D52N_E55A	100nM での結合なし			2.3E+05	1.7E-03	7.4E-09
P1-070908	P1-068767_E55A	100nM での結合なし			2.2E+05	2.5E-03	1.1E-08
P1-070906	P1-068767_D52N	100nM での結合なし			2.4E+05	1.6E-03	6.7E-09
P1-070868	P1-068761_E55A	100nM での結合なし			2.6E+05	1.8E-03	7.0E-09
P1-0687677	酸性 pH 選択的 孫 , 767	100nM での結合なし			2.6E+05	2.6E-03	1.0E-08
P1-0687617	酸性 pH 選択的 孫 , 761	100nM での結合なし			2.8E+05	1.5E-03	5.5E-09
P1-0610296	GI 親	1.8E+05	6.4E-03	3.6E-08	7.8E+05	5.8E-03	7.4E-09

10

20

30

40

50

表23：表22の抗体のVH CDRのアミノ酸配列

ID	詳細情報	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
P1-071757	P1-061029_HC_K16R_T8 4A (FW 復帰突然変異)						
P1-071759	P1-061029_HC_K16R (FW 復帰突然変異)						
P1-071761	P1-061029_HC_T84A (FW 復帰突然変異)						
P1-071763	P1-068761_HC_K16R_T8 4A (FW 復帰突然変異)	...E.E...	...EE.....	...H...E..			
P1-071765	P1-068761_HC_K16R (FW 復帰突然変異)	...E.E...	...EE.....	...H...E..			
P1-071767	P1-068761_HC_T84A (FW 復帰突然変異)	...E.E...	...EE.....	...H...E..			
P1-071769	P1-068767_HC_K16R_T8 4A (FW 復帰突然変異)	...E.....	..D..E.....	ED			
P1-	P1-	...E.....	..D..E.....	ED			

10

20

30

40

50

ID	詳細情報	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
071771	068767_HC_K16R (FW 復帰突然変異)						
P1- 071773	P1- 068767_HC_T84A (FW 復帰突然変異)	E.....	..D..E.....	ED			
P1- 071775	P1- 070868_HC_K16R_T8 4A (FW 復帰突然変異)	...E.E...	E.....	...H...E..			
P1- 071777	P1- 070868_HC_K16R (FW 復帰突然変異)	...E.E...	E.....	...H...E..			
P1- 071779	P1- 070868_HC_T84A (FW 復帰突然変異)	...E.E...	E.....	...H...E..			
P1- 071781	P1- 070906_HC_K16R_T8 4A (FW 復帰突然変異)	...E.....	E.....	ED			
P1- 071783	P1- 070906_HC_K16R (FW 復帰突然変異)	E.....	E.....	ED			
P1- 071785	P1- 070906_HC_T84A (FW 復帰突然変異)	E.....	E.....	ED			
P1-	P1-	E.....	..D.....	ED			

10

20

30

40

50

ID	詳細情報	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
071787	070908_HC_K16R_T8 4A (FW 復帰突然変異)						
P1- 071789	P1- 070908_HC_K16R (FW 復帰突然変異)	...E....	..D.....	E.D			
P1- 071791	P1- 070908_HC_T84A (FW 復帰突然変異)	...E....	..D.....	E.D			
P1- 071793	P1- 070916_HC_K16R_T8 4A (FW 復帰突然変異)	...E....		E.D			
P1- 071795	P1- 070916_HC_K16R (FW 復帰突然変異)	...E....		E.D			
P1- 071797	P1- 070916_HC_T84A (FW 復帰突然変異)	...E....		E.D			
P1- 072000	P1- 061029_F100fE_V10 2D			E.D			
P1- 072002	P1-061029_F100fE			E..			
P1- 072004	P1-061029_V102D			D			

10

20

30

40

50

ID	詳細情報	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
P1-072006	P1-061029_Y32E	E...					
P1-072008	P1-061029_Y32E_F100fE	E...		E..			
P1-070916	P1-068767_D52N_E55A	E.....		E.D			
P1-070908	P1-068767_E55A	E.....	D.....	E.D			
P1-070906	P1-068767_D52N	E.....	E.....	E.D			
P1-070868	P1-068761_E55A	E.E...	E.....	H...E..			
P1-0687677	酸性 pH 選択的 子孫 '767	E.....	D..E.....	E.D			
P1-0687617	酸性 pH 選択的 子孫 '761	E.E...	EE.....	H...E..			
P1-0610296	GI 親	GFTLDDY AMH	GINWNSANIGYA DSVKG	VPGYSGGWI DAFDV	RASQSVSS SYLA	GASSR AT	QQYGSS PFT

【0368】

このように、本実施例は、酸性 pH において生理的 pH よりも 200-10000 倍の親和性でヒト VISTA に結合する抗ヒト VISTA 抗体を同定した。細胞結合アッセイにおいて、これらの酸性 pH 選択的 VISTA 抗体は、T 細胞への VISTA の結合について観察されたものと同様に、およそ pH 6.5 で結合強度の変曲点を示した。

【0369】

実施例 18：抗 VISTA 抗体と抗 PD-1 抗体は相乗的に作用して腫瘍拒絶反応を誘発する。

腫瘍における VISTA の酸性 pH 選択的リガンド界面遮断する効果の特徴づけるために

10

20

30

40

50

、酸性pHでのマウスT細胞へのマウスVISTA結合を遮断するマウスサロゲート抗体VISTA.10を作製した。(VISTA.10は生理的pHでmVISTAに結合する)Fc受容体結合とその後のエフェクター機能を回避するために、VISTA.10を点突然変異D265Aを含むIgG1アイソタイプに変換し、Fc受容体結合とエフェクター機能を回避した{Clynes, 2000}。マウスにMC38腫瘍を皮下移植し、腫瘍が約70mm²に達した時点で、マウスに対して次の処置を3日ごとに行った：1群：抗KLH mIgG1-D265Aを30mpkで4回投与；2群：抗PD-1 mIgG1-D265Aを5mg/kgで2回投与；3群：抗VISTAmIgG1-D265Aを30mg/kgで4回投与；および4群：抗PD-1+抗VISTAの組み合わせ。VISTA.10とPD-1遮断抗体の併用処置は、MC38大腸腺癌腫瘍(図15A-D)を移植したほとんどのマウスにおいて腫瘍拒絶反応を誘発し(図15A-D)、抗PD-1およびVISTA.10の単剤処置は腫瘍進行を中程度に遅らせたが、防ぎはしなかった(図15A-D)。

【0370】

これらの結果と一致して、処置されたマウスの腫瘍のex vivo分析は、VISTA.10および抗PD-1で処置されたマウスにおいて、それぞれ5倍および10倍の腫瘍浸潤CD8+ T細胞およびCD4+ T細胞の頻度を示した(図15E-F)。他の白血球サブセットはほとんど影響を受けなかった。併用療法はまた、腫瘍浸潤CD8+ T細胞において、T細胞枯渇および機能不全の全てのマーカーであるPD-1、LAG-3およびTIM-3の発現を有意に低下させた(図15E)。PD-1またはVISTA抗体単独での処理は、T細胞の頻度と表現型にわずかな影響しか与えなかった(図15E-F)。マクロファージ、単球性骨髄由来抑制因子細胞(MDSC)および顆粒球性MDSCを含む腫瘍内骨髄細胞サブセットの頻度は、VISTA抗体処理による影響をほとんど受けなかった。

【0371】

VISTA抗体活性を文脈によって解釈可能にするために、VISTAノックアウトマウスにMC38腫瘍を移植し、PD-1遮断抗体またはコントロール抗体で処置した。図15Iに示すように、コントロール処置群では、VISTAノックアウトマウスとその野生型同腹仔でMC38腫瘍が同等に成長した。VISTAノックアウトマウスは、VISTAとPD-1の組み合わせ効果を想起させる抗PD-1に対する応答性の増加を示した。この応答性は、腫瘍内CD4+およびCD8+ T細胞の増加と再び相関していた。これらのデータは、酸性pHでVISTA結合を遮断する抗体が、VISTAが媒介する免疫抑制を逆転させるのに十分であることを示している。

【0372】

VISTAは酸性pHで選択的に機能することから、本発明者らは、VISTAが媒介する抗腫瘍応答の抑制は、主に腫瘍床自体の内部で起こると仮定した。本発明者らは、内因性VISTA細胞外ドメインの代わりにヒトVISTA細胞外ドメインを発現するトランスジェニックマウス(ヒトVISTAノックインマウス、genOway)において、酸性pH選択的ヒトVISTA遮断抗体P1-068767('767)とその非pH選択的親抗体P1-061029('029)の活性を試験した。上述の組み合わせおよびVISTAノックアウト実験と一致してP1-061029とP1-068767は、マウスPD-1遮断抗体との組み合わせで同等の効力を引き出した(図15J-M)。

【0373】

ヒトVISTAノックインマウスにおけるP1-068767およびP1-061029の半減期を測定した。図15Nに示すように、P1-068767はP1-061029の20倍近い平均滞留時間(MRT)を示し、pH7.4でVISTAとの結合が弱く、結果としてTMDが減少した(それぞれ71時間と4.1時間)ことを示している。

【0374】

非トランスジェニックモデルにおける末梢性VISTAの抗体結合を評価するために、本発明者らは、P1-068767およびVISTA.4と呼ばれる中性pHを好む抗体(

10

20

30

40

50

同一出願人の別の特許出願ファミリーにはVISTA. 4のさらなる説明がある)でカニクイザルを以下のように処置した。VISTA. 4とP1-068767は、タンパク質ナイーブカニクイザル(抗体あたり $n=1$)への $5\text{mg}/\text{kg}$ 用量での10分間の静脈内注入後、評価された。注入後0.17、0.5、2、4、6、24、48、72、168、216、240、336時間後に連続血液試料を採取した。その後、組換えVISTAを捕捉剤として、抗ヒトIgG Fc mAbを検出剤として用いたリガンド結合アッセイを使って、抗体濃度分析のために血清試料を得た。アッセイの定量下限は $1\text{ng}/\text{mL}$ であった。平均滞留時間は、Kineticソフトウェア(バージョン5.0、Thermo Fisher Scientific)を用いた血清mAb濃度-時間データのノンコンパートメント分析によって推定した。結果は、P1-068767が再びかなり長いMRTを示した(それぞれ717時間と7.6時間、図6O)ことを示した。これらの結果は、血液および非酸性組織ではなく、腫瘍微小環境におけるVISTA遮断が抗腫瘍効果を促すことを示唆している。

【0375】

実施例19: VISTA. 4はVISTAのPSGL-1への結合を阻害する

刺激受容体P-セレクトイン糖タンパク質リガンド-1(PSGL-1)はVISTAリガンドとして以前に同定されていた(国際公開第2018132476号参照)。PSGL-1は、セレクトイン、特にP-セレクトインの受容体であり、その一次リガンドであるP-セレクトインへの結合は、白血球、血小板および内皮細胞間の接着相互作用の促進剤としてよく特徴づけられている(Carlow, D.A., et al., PSGL-1 function in immunity and steady state homeostasis. Immunol Rev, 2009. 230(1): p. 75-96、および Abadie r, M. and K. Ley, P-selectin glycoprotein ligand-1 in T cells. Curr Opin Hematol, 2017. 24(3): p. 265-273. 18)。また、PSGL-1は、慢性ウイルス感染、がん腫瘍免疫および一部の自己免疫疾患の状況において、T細胞応答のネガティブな制御因子として同定されている(Angiari, S., et al., Regulatory T cells suppress the late phase of the immune response in lymph nodes through P-selectin glycoprotein ligand-1. J Immunol, 2013. 191(11): p. 5489-500; Matsumoto, M., M. Miyasaka, and T. Hirata, P-selectin glycoprotein ligand-1 negatively regulates T-cell immune responses. J Immunol, 2009. 183(11): p. 7204-11; Nunez-Andrade, N., et al., P-selectin glycoprotein ligand-1 modulates immune inflammatory responses in the enteric lamina propria. J Pathol, 2011. 224(2): p. 212-21; Perez-Frias, A., et al., Development of an autoimmune syndrome affecting the skin and internal organs in P-selectin glycoprotein ligand 1 leukocyte receptor-deficient mice. Arthritis Rheumatol, 2014. 66(11): p. 3178-89; Tinoco, R., et al., PSGL-1 Is an Immune Checkpoint Regulator that Promotes T Cell Exhaustion. Immunity, 2016. 44(5): p. 1190-203)。この免疫抑制機能は、既知のPSGL-1リガンドとは無関係なようである(Tinoco, R., et al., PSGL-1: A New Player in the Immune Checkpoint Landscape. Trends Immunol, 2017. 38(5): p. 323-335)。

【0376】

細胞ベースのアッセイでは、組換えPSGL-1と組換えP-セレクトインの両方に活性化ヒトCD4+ T細胞へのVISTA多量体結合を遮断する能力があることが示された。活性化CD4+ T細胞からのPSGL-1のCRISPRによる欠失もVISTA多量体結合を切断した。さらに、PSGL-1の異所性発現は、酸性pHでCHO細胞へのVISTA結合を可能にするのに十分であり、VISTA発現は、酸性pHで293T細胞へのPSGL-1結合を可能にするのに十分であることが示された。

【0377】

この実施例は、PSGL-1が酸性および生理的pHで同等にP-セレクトインに結合したが、VISTAには酸性pHでのみ結合したことを示している(図17A)。実験は、VISTA、P-セレクトイン、および以前に高親和性P-セレクトイン結合を支持することが示された最小PSGL-1糖ペプチド(アミノ酸1-19、スルホチロシンおよびシアリ

10

20

30

40

50

ルルイスX (sialyl Lewis X) 炭水化物翻訳後修飾の両方を有する) を用いた Octet バイオセンサーアッセイを用いて実施した (Sako, D., et al., A sulfated peptide segment at the amino terminus of PSGL-1 is critical for P-selectin binding. Cell, 1995. 83(2): p. 323-319)。

【0378】

PSGL-1 のリガンド界面は、負に帯電したスルホチロシンとシアリルルイスXの翻訳後修飾に依存して、P-セレクトインに高い親和性で結合し (Sako et al. 1995 Cell 83(2): p. 323-319)、非シアリルルイスXで装飾されたPSGL-1を発現するナイーブT細胞は、結果的にP-セレクトインと効率的に結合することができない。シアリルルイスXで装飾されたPSGL-1は、循環している単球および好中球上で構成的に発現し、活性化T細胞上では誘導的に発現し、酸性pHでのこれらの細胞タイプへの強力なVISTA結合と一致する。ただし、VISTAは、ナイーブT細胞と活性化T細胞の両方に結合することがわかり、P-セレクトインとは異なって、VISTAはシアリルルイスXとは無関係にPSGL-1に結合することを示唆している。追加のOctet バイオセンサーアッセイでは、VISTAとP-セレクトインの両方がシアリルルイスX装飾を有するPSGL-1糖ペプチドに優先的に結合するのに対し、VISTAのみはシアリルルイスXなしでPSGL-1糖ペプチドに結合することが見出された。さらに、グルコサミニル(N-アセチル)転移酵素(GCNT1)およびアルファ(1, 3)-フコシル転移酵素-7酵素(FUT7)を発現していない細胞内で産生されたPSGL-1は、シアリルルイスX装飾を欠いており、P-セレクトインとの結合が不十分であった(図25A)。対照的に、VISTAはシアリルルイスXとは無関係にPSGL-1に結合した(図25A)。この結果は、P-セレクトインではなく、VISTAがシアリルルイスXを欠くナイーブT細胞に結合していることと一致している。

【0379】

また、P-セレクトインと同様に、VISTAは酸性pHでヘパラン硫酸と適度に結合した。

【0380】

さらに、P-セレクトイン結合を遮断するPSGL-1抗体はVISTA結合を遮断しなかった。これらのデータは、VISTAがPSGL-1の界面に結合しており、その界面はP-セレクトインが結合しているものと類似しているが異なることを示している。

【0381】

本実施例はさらに、T細胞へのVISTA結合を遮断する抗体P1-061029、P1-068761、P1-068767およびVISTA. 4がPSGL-1糖ペプチドへのVISTA結合も遮断したことを示している。

【0382】

競合Octetアッセイを実施して、酸性pH選択的 α -VISTA抗体P1-068761とP1-068767、pH非依存性親であるP1-061029、および酸性pH感受性VISTA. 4がVISTAのPSGL1への結合を遮断したかどうかを評価した。結合アッセイは、Octet Red 384 バイオレイヤー干渉法(BLI)機器(PALL/ForTEBio)で実施した。全てのアッセイステップは30°Cで1000rpmの振盪速度で実施し、使用した緩衝液はPBST(pH6.0)(137mM塩化ナトリウム、2.7mM塩化カリウム、10mMリン酸緩衝液、0.05%Tween20)であった。ヒトVISTA-Fc(R&D Systems #7126-B7)をPBST pH6.0で400nMに希釈し、0nM、40nMおよび400nMのP1-068761、P1-068767、P1-061029およびVISTA. 4の滴定シリーズで30分間予混合した。ヒトFcに融合した成熟PSGL1のアミノ末端の19のアミノ酸からなるヒトPSGL1 19-mer-huFcタンパク質を、抗ヒトIgG-Fcセンサー(AHC、PALL/ForTEBio)上に捕捉した。次に抗ヒト捕捉センサーは、全ヒトIgG(Jackson #009-0000-002)で遮断された。次に、捕捉されたPSGL1のVISTA-Fc/ α -VISTA抗体混合物への結合を測定して

、 α -VISTA抗体がVISTAのPSGL1への結合を妨げたかどうかを評価した。各抗体滴定シリーズについて、PSGL1に対するVISTA結合の大きさ（nmシフト）は、100%に設定された0 nMの遮断されていないVISTA：PSGL1応答に正規化された。このアッセイの結果は図17Bにまとめられている。このアッセイでは、400 nMの濃度のP1-061029、P1-068761、P1-068767およびVISTA.4の全てが遮断活性を示した。観察されたVISTA結合の減少によって示されるように、VISTA-Fcタンパク質は捕捉されたヒトPSGL1-19-mer-huFcタンパク質への結合が妨げられた。

【0383】

さらに、CHO-PSGL-1細胞へのVISTA結合は、VISTA.4およびP-セレクチン遮断PSGL-1抗体KPL-1の両方によって遮断されたことが実証された（図17C）。PSGL-1抗体遮断アッセイでは、細胞は、32 nMをロードしたVISTA多量体またはVISTA-Fcキメラタンパク質で標識する前に、示された抗体KPL-1（BD BiosciencesまたはBiolegend）またはPL2（MBL）と一緒にプレインキュベートされた。VISTA-Fc結合は、抗IgG（Jackson ImmunoResearch）または抗6xhis（Columbia Biosciences）抗体によって検出された。細胞は、フローサイトメトリーまたは均一時間分解蛍光（HTRF）によって取得された。

【0384】

実施例20：hVISTAに結合したP1-068767の結晶構造

VISTAの構造とVISTA抗体結合の分子決定因子を特徴づけるために、P1-068767断片抗原結合（Fab）とhVISTA IgVドメインの共結晶を作製した。得られた複合体の構造は、1.6 Åの分解能で決定された。VISTA IgVドメインは、一般に、そのファミリーの特徴であり、PD-L1にいくらか類似している（図18B）。ただし、PD-L1および他のほとんどのB7ファミリーまたは免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバーとは異なり、VISTA IgVドメインの2つのC末端β鎖は複数の付加的な残基を含み、その結果、異常に伸長したヒスチジンリッチな中央のβシートが生じる（図18B）。遮断抗体であるP1-068767は、このβシート伸長部でVISTAを結合する（図18C）が、非遮断抗体VISTA.5は異なる領域を結合する（図18E）。VISTAのβシート伸長部は、3つのヒスチジン残基H121、H122およびH123によってキャップされている。P1-068767残基E110およびD112は、それぞれVISTA残基H121およびH122と水素結合を形成する（図18D）。これらの相互作用は、P1-068767残基E110およびD112が酸性pH選択性に必要かつ十分であるという、先の実施例に記載された知見によく当てはまる。共結晶において、VISTA残基H123は、硫酸塩の非存在下でP1-068767と真の水素結合を形成することが可能であるにもかかわらず、沈殿剤の硫酸塩分子と相互作用して、P1-068767残基E1と塩橋を形成する（図18D）。さらなる相互作用を表24に示す。これらのデータは、VISTA IgVドメインの異常な、ヒスチジンリッチなβシート伸長部が、VISTAの酸性pH選択的受容体-リガンド界面の重要な構成要素であることを示唆している。

表24は、VISTA原子から4 Å以内の‘767 Fab HC原子間の距離をオングストローム（Å）で詳細に示している。

-----,-----,-----				
##		'767 Fab HC		Dist. VISTA
-----+-----+-----+-----				
1		H:GLU 1 [OE1]		3.1 V:HIS 123 [NE2]
2		H:VAL 2 [N]		3.2 V:HIS 123 [O]
3		H:GLY 26 [O]		3.1 V:GLU 125 [N]
4		H:GLU 30 [O]		3.3 V:ARG 54 [NH2]
5		H:GLU 30 [OE1]		3.8 V:ARG 127 [NE]

6		H:GLU 30 [OE1]		3.2		V:ARG 127 [NH2]
7		H:GLU 30 [OE2]		3.4		V:ARG 127 [NH1]
8		H:GLU 30 [OE2]		3.5		V:ARG 127 [NH2]
9		H:ASP 31 [OD1]		2.8		V:ARG 54 [NH1]
10		H:ASP 31 [OD1]		2.7		V:ARG 54 [NH2]
11		H:ASP 31 [OD1]		2.8		V:ARG 127 [NH1]
12		H:ASP 31 [OD2]		3.8		V:ARG 127 [NE]
13		H:ASP 31 [OD2]		3.1		V:ARG 127 [NH1]
14		H:TYR 32 [OH]		2.6		V:GLU 125 [OE1]
15		H:GLU 110 [OE2]		2.8		V:HIS 122 [N]
16		H:GLU 110 [OE1]		2.7		V:HIS 121 [ND1]
17		H:GLU 110 [OE2]		3.8		V:HIS 121 [ND1]
18		H:GLU 110 [OE2]		3.5		V:HIS 122 [ND1]
19		H:ASP 111 [OD1]		3.6		V:HIS 122 [NE2]
20		H:ASP 112 [OD1]		3.5		V:HIS 122 [ND1]

【 0 3 8 5】

実施例 21： V I S T A . 4 のエピトープマッピング

V I S T A . 4 は、実施例 15 で先に記載した競合 B L I エピトープビニングアッセイにおいて使用された。その結果、V I S T A . 4 は、ヒト V I S T A との結合について、上記の抗体 P 1 - 0 6 1 0 1 5、P 1 - 0 6 1 0 2 9、P 1 - 0 6 8 7 6 1 および P 1 - 0 6 8 7 6 7 と競合し、したがって、これらの抗体と同じエピトープ群（群 A）に属することが示された。V I S T A . 4 は、ヒト V I S T A との結合について V I S T A m A b 1 と競合しない（図 11 A 参照）。

【 0 3 8 6】

抗体 P 1 - 0 6 1 0 1 5、P 1 - 0 6 1 0 2 9、P 1 - 0 6 8 7 6 1 および P 1 - 0 6 8 7 6 7 について実施例 15 に記載しているように、V I S T A . 4 のエピトープも酵母表面ディスプレイおよび N G S を使用してマッピングした。マッピングされている抗体への結合は失ったが、非遮断抗体（m A b 1）への結合を保持した V I S T A 突然変異体を選別し、配列決定した。これらの突然変異体は m A b 1 との結合を保持していたため、正しく折り畳まれていた可能性が高く、マッピングされている抗体に見られる結合の喪失は、エネルギー的に重要な接触残基の喪失によるものである可能性が高かった。結合の喪失をもたらした変異の位置、および抗体のエピトープにおけるエネルギー的に重要な残基として指定された位置を、抗体 P 1 - 0 6 1 0 1 5、P 1 - 0 6 1 0 2 9、P 1 - 0 6 8 7 6 1 および P 1 - 0 6 8 7 6 7 のエネルギー的に重要な接触残基とともに表 31 に示す（上記の表 14 にも示す）。

10

20

30

40

50

表31: 抗体VISTA. 4、'029、'015、'761および'767のエネルギー的に重要な接触残基

mAb	V	T	Y	K	T	Y	S	R	T	F	Q	L	H	L	H	H	F	L	V	E	I	R	H	H	S	E	R
	3	3	3	3	3	3	4	5	6	6	6	6	6	6	6	6	9	11	11	11	12	12	12	12	12	12	12
	4	5	7	8	9	1	2	4	1	2	3	5	6	7	8	9	7	5	7	8	9	0	1	2	4	5	7
VISTA. 4	x	X	x	x	x	x	x	x		x		x	x		x			x	x		x	x	x	x	x		
'015				x	x			x		x	x	x	x				x	x	x		x			x	x		
'029					x	x		x	x	x	x	x	x		x	x		x	x		x			x	x	x	
'761		X	x		x			x	x	x	x		x	x	x	x		x	x		x			x	x	x	
'767			x		x			x	x	x	x	x	x				x	x	x		x		x	x	x	x	

【0387】

水素／重水素交換質量分析（HDX-MS）を利用して、mAb VISTA. 4でヒト VISTAの結合エピトープをプローブした。HDX-MSは、骨格アミド水素原子の重水素交換の速度と程度をモニターすることによって、溶液中のタンパク質のコンフォメーションとコンフォメーションのダイナミクスをプローブする（Huang and Chen (2014) Analytical and Bioanalytical Chemistry 406, 6541-6558; Wei, et al. Drug Discovery Today (2014) 19, 95-102）。HDXのレベルは、骨格アミド水素原子の溶媒接触度とタンパク質の水素結合に依存する。HDXでのタンパク質の質量増加は、MSで正確に測定できる。この手法を酵素消化と組み合わせると、ペプチドレベルでの構造の特徴

10

20

30

40

50

を解明でき、表面に露出したペプチドを、内側に折りたたまれたペプチド、またはタンパク質-タンパク質複合体の界面に隔離されたペプチドから区別することができる。通常、重水素標識とそれに続くクエンチング実験が行われ、その後、酵素消化、ペプチド分離およびMS分析が行われる。

【0388】

エピトープマッピング実験の前に、非重水素化実験を実施して、VISTA-mAb VISTA. 4タンパク質複合体（モル比1：1）と組換えヒトVISTA（15 μM）の共通（common）ペプチドのリストを作成した。HDX-MS実験では、5 μLの各サンプル（VISTAまたはVISTA-mAb VISTA. 4）を55 μLのD₂O緩衝液（10 mMリン酸緩衝液、D₂O、pH 7.0）で希釈して、標識反応を開始した。反応は、1分、10分および240分の異なる時間で実行された。各標識反応時間の終わりまでにクエンチング緩衝液（4 MのGdnClと0.4 MのTCEPを含む100 mMリン酸緩衝液、pH 2.5、1：1、v/v）を添加することにより反応をクエンチし、50 μLのクエンチした試料を分析のためにWaters HDX-MSシステムに注入した。共通する消化ペプチドの重水素取り込みレベルを、VISTA. 4の非存在下／存在下でモニターした。得られた配列カバレッジは82%であった。

【0389】

HDX-MS実験では、ヒトVISTAの85%の配列カバレッジが得られた。図19に示すように、ヒトVISTAのVISTA. 4のHDX-MSデータ分析は、VISTA. 4のエピトープはヒトVISTAの以下の3つの領域から構成されており、領域2が主要なエピトープであることを示す（残基番号はヒトVISTAのネイティブ配列に対応している；図20）。

領域1：⁵⁷LGPVDKGHDVTF⁶⁸（配列番号：566）

領域2：⁸⁶RRPIRNLTFQDL⁹⁷（配列番号：567）

領域3：¹⁴⁸VVEIRHHHSEHRVHGAME¹⁶⁵（配列番号：568）

【0390】

抗体VISTA. 4は、酸性および中性のpHで同等によく結合した。さらなる選択を繰り返すと、pH 6.0ではpH 7.4での200倍の高い親和性でVISTAに結合する変異体を得られた。VISTA遮断抗体を用いた同様の試みにより、pH 6.0ではpH 7.4と比較して最大10000倍の選択性を持つ変異体を得られた。これらの抗体を用いて、酸性および中性pHでのVISTAの受容体-リガンド結合界面をマッピングした。pH非依存性、中性pH選択的、および酸性pH選択的VISTA遮断抗体は、ほぼ同じエピトープに結合したが、このことは、顕著なコンフォメーション変化を伴わないヒスチジンプロトン化のみで酸性pHでのその対抗受容体との結合能力を制御していることを示唆している。（VISTA. 4は、同じ出願人による別の出願ファミリーで詳述されている）

【0391】

実施例22：VISTA. 4は酸性pHでのT細胞へのVISTA結合を阻害する。

本実施例は、エピトープ群AのVISTA. 4および他の抗体が酸性pHでのT細胞へのVISTA結合を遮断したのに対し、エピトープ群BのVISTA. 5（mAb 1）および他の抗体は遮断しなかったことを示している（図21AおよびB）。

【0392】

本実施例は、基本的には実施例4に記載した通りに実施した。

【0393】

実施例23：VISTA. 4は、T細胞の増殖およびIFN-γ産生を強化する。

本実施例は、VISTA遮断ブロッキングAb（エピトープ群A）がT細胞増殖およびIFN-γ産生を強化したことを示している（図22）。遮断抗体ではないVISTA. 5（mAb 1）は、T細胞の増殖およびIFN-γ産生を強化しなかった。VISTA. 4は、VISTAを発現しなかった293T-OKT3細胞とT細胞を共培養した場合には効果がなかった。

【0394】

この実験は、ヒトVISTAを発現するように操作された293T細胞と共培養したCD4+ T細胞と、T細胞受容体アゴニスト抗体OKT3の一本鎖可変断片とにVISTA抗体を添加することによって行われた(293T-OKT3-VISTA)。

【0395】

実施例24：VISTAはT細胞受容体媒介性NF-κBシグナル伝達を抑制した。

本実施例は、VISTA機能に対するpHの影響をさらに評価するために実施され、VISTAが、中性pHよりも酸性pHにおいて、T細胞受容体媒介性NF-κBシグナル伝達をより強力に抑制したことを示す(図23A)。最大の抑制はpH6.5以下で達成され、VISTA：T細胞結合と同様であった(図23Aおよび図4A)。

10

【0396】

NF-κBシグナル伝達は、基本的に実施例5および13に記載した通りに、NFκBを報告するJurkat T細胞を用いて測定した。Jurkat細胞を、NF-κB誘導性プロモーターの制御下でルシフェラーゼを発現するように操作した。これらのJurkat NFκB-ルシフェラーゼ細胞を、MESおよびヒト抗ヒトVISTA抗体を用いて様々なpHに酸性化したHBSS(ThermoFisher)中で4：1の比率で、非照射293T-OKT3-VISTA細胞と一緒に4時間共培養した。Jurkat細胞の活性化を、ルシフェラーゼ基質アッセイ(Promega)により測定した。

【0397】

VISTAを介した抑制は、pH7.0以上で中程度の活性が維持されたが、酸性pHで最も強力であった。同様に、組換えVISTAは、酸性pHではpH7.4の場合よりもT細胞NFκBリン酸化を抑制した(図23B)。これらの結果は、VISTAが酸性pHでT細胞を優先的に抑制することと、酸性pHでT細胞の結合を遮断する抗体によってこの活性が逆転されることを示している。

20

【0398】

したがって、これらのデータは、VISTAの酸性pH選択的受容体-リガンド界面の遮断が免疫抑制を逆転させる可能性があることを示唆している。

【0399】

実施例25：VISTA：PSGL-1結合特異性は、ヒスチジン残基およびスルホチロシン残基によって決定される。

30

本発明者らは、PSGL-1結合特異性を特徴付けるために、シアリルルイスX(実施例19に記載)によって提供されるものの他に、P-セレクチン結合に寄与するチロシン硫酸化翻訳後修飾を調べた。チロシン硫酸化の役割を試験するために、PSGL-1糖ペプチドを、陰イオン交換液体クロマトグラフィーにより、スルホチロシンに富む(>90%)ピーク(およびスルホチロシンに乏しい(<1%)ピークに分離した。VISTAもP-セレクチンも、スルホチロシンに乏しいPSGL-1に検出可能に結合しなかった(図25B)。また、VISTAは、チロシンがアラニンで置換されたPSGL-1糖ペプチドにも結合できなかった(図示せず)。これらの結果は、スルホチロシン残基がPSGL-1のVISTAへの結合の鍵となるメディエーターであることを示している。

【0400】

40

本発明者らは、VISTAの結合特異性はVISTA遮断抗体エピトープ内に見られるのと同じヒスチジン残基：H153、H154およびH155(実施例20参照)によって媒介されると仮定した。非荷電アラニンまたは負に帯電したアスパラギン酸でこれらのヒスチジン残基を置換することにより、組換えPSGL-1およびCHO-PSGL-1細胞へのVISTA結合が有意に低減された(図25C-D)。アラニン、アスパラギン酸またはアルギニンに突然変異したH153、H154およびH155残基を有するVISTA-Fcタンパク質が、Exp293細胞の一過性のトランスフェクションにより産生された。また、これらの突然変異体は、T細胞を機能的に抑制することができなかった(図示せず)。対照的に、正に帯電したアルギニン残基による置換は、VISTAの結合と機能を維持した(図25C-D)。遮断抗体VISTA.4およびP1-068767

50

は、アラニンおよびアルギニン突然変異体VISTAにはよく結合したが、アスパラギン酸突然変異体VISTAにはほとんど結合しなかった（図示せず）。非遮断抗体VISTA-5は、野生型および突然変異体型VISTAタンパク質に同等に結合した（図示せず）。

【0401】

そこで、本発明者らは、P-セレクトリンに結合されたPSGL-1の解析済みの構造と、P1-068767 Fabに結合されたVISTAの解析済みの構造（図18）を使用して、VISTAにドッキングしたPSGL-1 19-mer糖ペプチドの計算モデルを開発した（図25E）。このモデルでは、PSGL-1チロシン残基Y46およびY48は、VISTAヒスチジン残基H153およびH154（2.5-3.0 Åの距離）とイオンの相互作用を行う。PSGL-1 Y51はVISTAからさらに遠く（約4.5 Å）に存在するが、VISTA H100と意義深い相互作用をなし得る。PSGL-1 E56もまた、VISTA H98およびH100とイオン相互作用を形成する。PSGL-1 T57の水酸基は、シアリルルイスXで装飾することができ、VISTAとは別の方向を向いており、VISTA:PSGL-1結合に対するシアリルルイスXの影響がごくわずかであることと一致している。まとめると、これらのデータとモデル化は、酸性pHでのPSGL-1へのVISTsの結合が、主にVISTAヒスチジン残基とH153、H154およびH155、ならびにPSGL-1硫酸化チロシン残基Y46およびY48によって促進されることを示唆している。

【0402】

配列表

以下は、本願で参照される特定の配列の表である。配列番号2において、アミノ酸位置187は、DまたはEのいずれであってよい。

【0403】

以下の抗体配列において、VH CDR1、CDR2およびCDR3配列は、それぞれアミノ酸26-35、50-66、および99-110を含むアミノ酸位置に位置し、VL CDR1、CDR2およびCDR3配列はそれぞれアミノ酸24-35、51-57、および90-98を含むアミノ酸位置に位置する。VH CDR1は、AbM (AA 26-35; Abhinandan and Martin (2008 Mol. Immunol. 45:3832-3839; Swindells et al. (2017) J. Mol. Biol. 429:356-364) に従って番号付けされ、他の全てのCDR (VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1-3) は、Kabattに従って番号付けされている。特定の抗体種のCDR配列は太字であり、それらのVHおよびVL配列に太字および下線を付した。

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
1	hVISTA (リーダー配列あり)	MGVPTALEAG SWRWGSLLFA LFLAASLGPV <u>AAFKVATPYS</u> <u>LYVCPEGQNV</u> <u>TLTCRLLGPV</u> <u>DKGHDVTFYK</u> <u>TWYRSSRGEV</u> <u>QTCSERRPIR</u> <u>NLTFQDLHLH</u> <u>HGGHQAANTS</u> <u>HDLAQRHGLE</u> <u>SASDHHGNFS</u> <u>ITMRNLTLLD</u> <u>SGLYCCLVVE</u> <u>IRHHHSEHRV</u> <u>HGAMELQVQT</u> <u>GKDAPSNCVV</u> YPSSSQDSEN ITAAALATGA CIVGILCLPL ILLLVYKQRQ AASNRR AQEL VRMDSNIQGI ENPGFEASPP AQGIPEAKVR HPLSYVAQRQ PSESGRHLLS EPSTPLSPPG PGDVFFPSLD PVPDSPNFEV I
2	hVISTA (リーダー配列なし)	FKVATPYSLY VCPEGQNVTL TCRLLGPVDK <u>GHDVTFYKWT</u> <u>YRSSRGEVQT</u> <u>CSERRPIRNL</u> <u>TFQDLHLHHG</u> <u>GHQAANTSHD</u> <u>LAQRHGLESA</u> <u>SDHHGNFSIT</u> <u>MRNLTLLDSG</u> <u>LYCCLVVEIR</u> <u>HHHSEHRVHG</u> <u>AMELQVQTGK</u> <u>DAPSNCVVYP</u> <u>SSSQ[D/E]SENIT</u> <u>AAALATGACI</u> <u>VGILCLPLIL</u> <u>LLVYKQRQAA</u> <u>SNRR AQELVR</u> <u>MDSNIQGIEN</u> PGFEASPPAQ GIPEAKVRHP LSYVAQRQPS ESGRHLLSEP STPLSPPGPG DVFFPSLDPV PDSPNFEVI
3	ヒト PSGL-1 アイソフォーム2 前駆体、単一ヘプタドあり	MPLQLLLLLI LLGPGNSLQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEY EYLD YDFLPETEPP EMLRNSTD TT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTEL ANMG NLSTDSAAME IQTTQPAATE AQTTPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE AQTTPPAATE AQTQTPTGLE AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPPAAME AQTQT TAME AQT TAPEATE AQTQTPTATE AQTTPLAAME ALSTEPSATE ALSMEPTTKR GLFIPFSVSS VTHKGIPMAA SNLSVNYPVG APDHISVKQC LLAILILALV ATIFFVCTVV LAVRLSRKGH MYPVRNYSPT EMVCISSLLP DGEGGPSATA NGGLSKAKSP GLTPEPREDR EGDDLTLHSF LP

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
4	ヒト PSGL-1 アイソフォーム 2、単一ペプチドなし	LQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDTT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTQPAATE AQTTPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE AQTTPPAATE AQTTPQPTGLE AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPPAAME AQTTPQTAME AQTTPAPEATE AQTTPQPTATE AQTTPLAAME ALSTEPSATE ALSMEPTTKR GLFIPFSVSS VTHKGIPMAA SNLSVNYPVG APDHISVKQC LLAILILALV ATIFFVCTVV LAVRLSRKGH MYPVRNYSPT EMVCISLLP DGEGGPSATA NGGLSKAKSP GLTPEPREDR EGDDLTLHSF LP
5	ヒト PSGL-1 アイソフォーム 2 ECD、単一ペプチドあり	MPLQLLLLLLI LLGPGNSLQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDTT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTQPAATE AQTTPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE AQTTPPAATE AQTTPQPTGLE AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPPAAME AQTTPQT
6	ヒト PSGL-1 アイソフォーム 2 ECD、単一ペプチドなし	LQL WDTWADEAEK ALGPLLARDR RQATEYEYLD YDFLPETEPP EMLRNSTDTT PLTGPGTPES TTVEPAARRS TGLDAGGAVT ELTTELANMG NLSTDSAAME IQTTQPAATE AQTTPVPTE AQTTPLAATE AQTTRLTATE AQTTPLAATE AQTTPPAATE AQTTPQPTGLE AQTTPAAME AQTTPAAME AQTTPPAAME AQTTPQT
7	ヒト PSGL-1 ECD (全長ヒト PSGL-1 の N 末端 42-295 位 受入番号 AAC50061)	qateyeyld ydflpetepp emlrnstdtt pltgpgtpes ttvepaarrs tgldagavt elttelanmg nlstdsaame iqttqpaate aqttpaate aqtrltate aqttpaate aqttpaate aqtpqptgle aqtpaame aqtpaame aqtpaame aqtpqtame aqtapeate aqtpqtate aqtpaame alstepsate alsmepttkr glfipfvss

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		vthkgipmaa snlsv
8	ヒト PSGL-1 アイソフォーム1 前駆体、単一ヘプ チドあり NP_001193538	MAVGASGLEG DKMAGAMPLQ LLLLLILLGP GNSLQLWDTW ADEAEKALGP LLARDRRQAT EYEYLDYDFL PETEPPEMLR NSTDTTPLTG PGTPESTTVE PAARRSTGLD AGGAVTELT ELANMGNLST DSAAMEIQT QPAATEAQTT QPVPTEAQTT PLAATEAQTT RLTATEAQTT PLAATEAQTT PPAATEAQTT QPTGLEAQTT APAAMEAQTT APAAMEAQTT PPAAMEAQTT QTTAMEAQTT APEATEAQTT QPTATEAQTT PLAAMEALST EPSATEALSM EPTTKRGLFI PFSVSSVTHK GIPMAASNLS VNYPVGAPDH ISVKQCLLAI LILALVATIF FVCTVVLAVR LSRKGHMYPV RNYSPTMVC ISSLLPDGGE GPSATANGGL SKAKSPGLTP EPREDREGDD LTLHSFLP
9	ヒト PSGL-1、単一ヘ プチドなし	LQLWDTW ADEAEKALGP LLARDRRQAT EYEYLDYDFL PETEPPEMLR NSTDTTPLTG PGTPESTTVE PAARRSTGLD AGGAVTELT ELANMGNLST DSAAMEIQT QPAATEAQTT QPVPTEAQTT PLAATEAQTT RLTATEAQTT PLAATEAQTT PPAATEAQTT QPTGLEAQTT APAAMEAQTT APAAMEAQTT PPAAMEAQTT QTTAMEAQTT APEATEAQTT QPTATEAQTT PLAAMEALST EPSATEALSM EPTTKRGLFI PFSVSSVTHK GIPMAASNLS VNYPVGAPDH ISVKQCLLAI LILALVATIF FVCTVVLAVR LSRKGHMYPV RNYSPTMVC ISSLLPDGGE GPSATANGGL SKAKSPGLTP EPREDREGDD LTLHSFLP
10	ヒト PSGL-1 ECD、単 一ヘプチドあり	MAVGASGLEG DKMAGAMPLQ LLLLLILLGP GNSLQLWDTW ADEAEKALGP LLARDRRQAT EYEYLDYDFL PETEPPEMLR NSTDTTPLTG PGTPESTTVE PAARRSTGLD AGGAVTELT ELANMGNLST DSAAMEIQT QPAATEAQTT QPVPTEAQTT PLAATEAQTT RLTATEAQTT

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		PLAATEAQTTPPAATEAQTTPPTGLEAQT APAAMEAQTTPAAMEAQTTPAAMEAQTQT
11	P1-069059 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSDHIGYADSVKGRFTISRDN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
12	P1-069059 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
13	P1-069059 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSDHIGYADSVKGRFTISRDN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCCPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
14	P1-069059 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
15	P1-069061 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
16	P1-069061 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
17	P1-069061 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
18	P1-069061 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
19	P1-069063 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDADDE</u> WGQ GTMVTVSS
20	P1-069063 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
21	P1-069063 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDADDEWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
22	P1-069063 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
23	P1-069065 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSDDIGYADSVKGRFTISRDNACKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAFDVWGQ</u> GTMVTVSS
24	P1-069065 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
25	P1-069065 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSDDIGYADSVKGRFTISRDNACKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
26	P1-069065 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
27	P1-069067 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDADDEWGQ GTMVTVSS
28	P1-069067 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
29	P1-069067 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDADDEWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
30	P1-069067 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
31	P1-069069 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDADDVWGQ GTMVTVSS
32	P1-069069 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
33	P1-069069 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKN

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDADDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
34	P1-069069 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
35	P1-069071 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSADIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVP <u>GYSEGWIDAFDVWGQ</u> GTMVTVSS
36	P1-069071 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
37	P1-069071 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSADIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSEGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
38	P1-069071 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
39	P1-069073 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNACKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDVWGQ</u> GTMVTVSS
40	P1-069073 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QYQGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
41	P1-069073 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNACKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
42	P1-069073 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
43	P1-069075 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNACKN

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSHGWIDAEDVWGQ</u> GTMVTVSS
44	P1-069075 VL	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
45	P1-069075 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWDSAEIGYADSVKGRFTISRDNACKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
46	P1-069075 LC	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
47	P1-069077 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSDEIGYADSVKGRFTISRDNACKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAFDVWGQ</u> GTMVTVSS
48	P1-069077 VL	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
49	P1-069077 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSDEIGYADSVKGRFTISRDNACKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
50	P1-069077 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
51	P1-068761 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWN <u>SEEIGYADSVKGR</u> RFTISRDN AKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSHGWIDAEDVWGQ</u> GTMVTVSS
52	P1-068761 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISR EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
53	P1-068761 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
54	P1-068761 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
55	P1-068767 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>GIDWNS</u> ENIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDD</u> WGQ GTMVTVSS
56	P1-068767 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
57	P1-068767 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNS <u>ENIGYADSVKGRFTISRDN</u> AKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDD <u>WGQ</u> GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCTPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
58	P1-068767 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
59	P1-068773 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>GIDWNS</u> DNIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDD</u> WGQ GTMVTVSS

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
60	P1-068773 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
61	P1-068773 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSDNIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
62	P1-068773 LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
63	P1-068765 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTDE</u> YAMHWVR QAPGKGLEWVSG <u>GINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKN</u> SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDDWGQ</u> GTMVTVSS
64	P1-068765 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
65	P1-068765 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTDEYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
66	P1-068765 LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
67	P1-061029 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSS
68	P1-061029 VL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
69	P1-061029 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
70	P1-061029 LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
71	P1-068757 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>SGFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDDWGQ</u> GTMVTVSS
72	P1-068757 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
73	P1-068757 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
74	P1-068757 LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
75	P1-068771 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>SGFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSHEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDDWGQ</u> GTMVTVSS
76	P1-068771 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
77	P1-068771 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSHEIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
78	P1-068771 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNREGC
79	P1-068775 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGIDWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSHGWIDAEDDWGQ</u> GTMVTVSS
80	P1-068775 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIYG <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISR EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
81	P1-068775 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
82	P1-068775 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
83	P1-068769 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSDHIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
84	P1-068769 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
85	P1-068769 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSDHIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTH TCPGPCAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
86	P1-068769 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		VTHQGLSSPVTKSFNREGC
87	P1-068759 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>GIDWNS</u> ENIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDD</u> WGQ GTMVTVSS
88	P1-068759 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
89	P1-068759 IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>GIDWNS</u> ENIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
90	P1-068759 LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNREGC
91	P1-068763 VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVS <u>GIDWNS</u> ENIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSHGWIDAEDV</u> WGQ GTMVTVSS
92	P1-068763 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
93	P1-068763 IgG1.3	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDYAMHWVR</u>

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
	HC	QAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDN AKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
94	P1-068763 LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR L EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
95	P1-061015 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWV RQAPGKGLEWVAIIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRATEDAVYYCARDSGFYSSYYFDYWGQ G TLVTVSS
96	P1-061015 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTIS SL EPEDFATYYCQYNSYPYTFGQGTKLEIK
97	P1-061015 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWV RQAPGKGLEWVAIIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRATEDAVYYCARDSGFYSSYYFDYWGQ G TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCP PCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ P REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
98	P1-061015 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
99	P1-068748 VH	QVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAAS <u>GFTFSHAMHWV</u> RQAPGKGLEWVAIIWYDGSNDDYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD <u>SGFYDSYFDYWGQG</u> TLVTVSS
100	P1-068748 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYC <u>QQYNSYPYTFGQGTKLEIK</u>
101	P1-068748 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFTFSHAMHWV RQAPGKGLEWVAIIWYDGSNDDYADSVKGRFTISRDN SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD <u>SGFYDSYFDYWGQG</u> TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKCDKHTCP PCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
102	P1-068748 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
103	P1-068744 VH	QVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAAS <u>GFTFSEYAMHWV</u>

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		RQAPGKGLEWVAHIWYDGSNKYEADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD <u>DSGFYESYYFDE</u> WGQ GLVTVSS
104	P1-068744 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYL</u> AWYQQ KPGQAPRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLSEPEDFATYYC <u>QQYNSYPYT</u> FGQGTKLEIK
105	P1-068744 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAMHWVR QAPGKGLEWVAHIWYDGSNKYEADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYESYYFDEW GQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYPPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKHT TCPGCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
106	P1-068744 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYL</u> AWYQQ KPGQAPRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLSEPEDFATYYC <u>QQYNSYPYT</u> FGQGTKLEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
107	P1-068736 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAMHWV RQAPGKGLEWVAIDWYDGSNKDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD <u>DSGFYDSYYFDD</u> W GQGLVTVSS
108	P1-068736 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYL</u> AWYQQ KPGQAPRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLSEPEDFATYYC <u>QQYNSYPYT</u> FGQGTKLEIK
109	P1-068736 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEYAMHWVR QAPGKGLEWVAIDWYDGSNKDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYDSYYFDDW GQGT

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPVLDSGFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
110	P1-068736 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
111	P1-068752 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS <u>GFTFSSYAMHWV</u> RQAPGKGLEWVAE <u>EWYDGSNKDYADSVKGRFTISR</u> DNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD <u>SGFYDSYFDEW</u> GQG TLVTVSS
112	P1-068752 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>DASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISL</u> EPEDFATYYC <u>QQYNSYPYTFGQGKLEIK</u>
113	P1-068752 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWV RQAPGKGLEWVAE <u>EWYDGSNKDYADSVKGRFTISR</u> DNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD <u>SGFYDSYFDEW</u> GQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPVLDSGFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
114	P1-068752 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
115	P1-068740 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS <u>GFTFSDYAMHWV</u> RQAPGKGLEWVAIIWYDGSDKDYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD <u>SGFYDSYYFDDWGQG</u> TLVTVSS
116	P1-068740 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYC <u>QQYNSYPYTFGQGTKLEIK</u>
117	P1-068740 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYAMHWV RQAPGKGLEWVAIIWYDGSDKDYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYDSYYFDDWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCP PCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPG
118	P1-068740 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
119	P1-068742 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS <u>GFTFSDYAMHWV</u> RQAPGKGLEWVAIIWYDGSDKDYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD <u>SGFYEDYYFDYWGQG</u>

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		TLVTVSS
120	P1-068742 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYC <u>QQYNSYPYT</u> FGQGTKLEIK
121	P1-068742 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYAMHWV RQAPGKGLEWVAIIWYDGSDDYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD SGFYEDYYFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPG
122	P1-068742 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
123	P1-068746 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS <u>GFTFSSYAMHWV</u> RQAPGKGLEWVAIIWYDGSNNHHYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD <u>SGFYDSYYFDYWGQG</u> TLVTVSS
124	P1-068746 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYC <u>QQYNSYPYT</u> FGQGTKLEIK
125	P1-068746 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWV RQAPGKGLEWVAIIWYDGSNNHHYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD SGFYDSYYFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
126	P1-068746 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
127	P1-068750 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYDMHWV RQAPGKGLEWVAE <u>EWDDGSNKYYADSVKGRFTISRDN</u> SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>DEEFYSSYFDYWG</u> QG TLVTVSS
128	P1-068750 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWY</u> QQ KPGQAPRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYC <u>QQYNSYPYTFGQGTKLEIK</u>
129	P1-068750 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYDMHWV RQAPGKGLEWVAE <u>EWDDGSNKYYADSVKGRFTISRDN</u> SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>DEEFYSSYFDYWG</u> QG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
130	P1-068750 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISL

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		EPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
131	P1-068738 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS <u>SGFTFSEY</u> AHHWVR QAPGKGLEWVA <u>IIWDDGSNHYYADSVKGR</u> FTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD <u>DSGFYEDYYFDY</u> WGQGT LVTVSS
132	P1-068738 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWY</u> QQ KPGQAPRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYC <u>QQYNSYPYTFGQGTKLEIK</u>
133	P1-068738 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSEY AHHWVR QAPGKGLEWVAIIWDDGSNHYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFYEDYYFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCP PCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
134	P1-068738 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISL EPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
135	P1-068754 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS <u>SGFTFSDYDMHW</u> RQAPGKGLEWVA <u>EIWDDGSNKYYADSVKGR</u> FTISRDN SK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD <u>DSGFHSDYYFDY</u> WGQGT TLVTVSS
136	P1-068754 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWY</u> QQ

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		KPGQAPRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTISSE EPEDFATYYC <u>QQYNSYPYT</u> FGQGKLEIK
137	P1-068754 IgG1.3 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYDMHWV RQAPGKGLEWVAEIWDDGSNKYYADSVKGRFTISRDNK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSGFHSYYFDYWGGG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
138	P1-068754 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSE EPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
139	P1-069293 VH (P1-068761.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSHGWIDAEDVWGQ</u> GTMVTVSS
140	P1-069293 VL (P1-068761.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
141	P1-069293 HC (P1-068761.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
142	P1-069293 LC (P1-068761.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
143	P1-069298 VH (P1-068767.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGIDWSENIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDD</u> WGQ GTMVTVSS
144	P1-069298 VL (P1-068767.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
145	P1-069298 HC (P1-068767.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWSENIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
146	P1-069298 LC (P1-068767.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
147	P1-069302 VH (P1-061029.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>SGFTLDDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAFDVWGQ</u> GTMVTVSS
148	P1-069302 VL (P1-061029.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
149	P1-069302 HC (P1-061029.IgG1f)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TQPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
150	P1-069302 LC (P1-061029.IgG1f)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
151	P1-069312 VH (P1-068761.IgG1f ア フコシル化)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>SGFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSHGWIDAEDVWGQ</u> GTMVTVSS
152	P1-069312 VL (P1-068761.IgG1f ア フコシル化)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
153	P1-069312 HC (P1-068761.IgG1f ア フコシル化)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSIVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
154	P1-069312 LC (P1-068761.IgG1f ア フコシル化)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
155	P1-069309 VH (P1-068767.IgG1f ア フコシル化)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGIDWNS <u>ENIGYADSVKGRFTISRDNANK</u> SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDDWGQ</u> GTMVTVSS
156	P1-069309 VL (P1-068767.IgG1f ア フコシル化)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
157	P1-069309 HC (P1-068767.IgG1f ア フコシル化)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNS <u>ENIGYADSVKGRFTISRDNANK</u> SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
158	P1-069309 LC (P1-068767.IgG1f ア フコシル化)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
159	P1-069307 VH (P1-061029.IgG1f ア フコシル化)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLDDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAFDVWGQ</u> GTMVTVSS
160	P1-069307 VL (P1-061029.IgG1f ア フコシル化)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
161	P1-069307 HC (P1-061029.IgG1f ア フコシル化)	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
162	P1-069307 LC (P1-061029.IgG1f ア フコシル化)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		GNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
163	IgG1.3 (または IgG1.3f)重鎖定常領域 (L234A, L235E, G237A)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPCPAPE AEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
164	例示的軽鎖定常領域	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
165	ヒト VISTA NP_071436.1 (図 1B)	図 1B 参照
166	Cyno VISTA XP_005565644.1 (図 1B)	図 1B 参照
167	マウス VISTA NP_083008.1 (図 1B)	図 1B 参照
168	P1-061029 HDR チッ プ オリゴ (図 7A)	<u>X</u> PGYSGGWIDAFDV
169	P1-061029 HDR3 チッ プ オリゴ (図 7A)	<u>XX</u> GYSGGWIDAFDV
170	P1-061029 HDR3 チッ プ オリゴ (図 7A)	<u>XPX</u> YSGGWIDAFDV
171	P1-061029 HDR3 チッ プ オリゴ	<u>XPGX</u> SGGWIDAFDV

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
	(図 7A)	
172	P1-061029 HDR3 チッ プ オリコ [®] (図 7A)	<u>X</u> PGY <u>X</u> GGWIDAFDV
173	P1-061029 HDR3 チッ プ オリコ [®] (図 7A)	<u>X</u> PGYS <u>X</u> GWIDAFDV
174	P1-061029 HDR3 チッ プ オリコ [®] (図 7A)	<u>X</u> PGYSG <u>X</u> WIDAFDV
175	P1-061029 HDR3 チッ プ オリコ [®] (図 7A)	<u>X</u> PGYSGG <u>X</u> IDAFDV
176	P1-061029 HDR3 チッ プ オリコ [®] (図 7A)	<u>X</u> PGYSGGW <u>X</u> DAFDV
177	P1-061029 HDR3 チッ プ オリコ [®] (図 7A)	<u>X</u> PGYSGGW <u>X</u> AFDV
178	P1-061029 HDR3 チッ プ オリコ [®] (図 7A)	<u>X</u> PGYSGGWID <u>X</u> FDV
179	P1-061029 HDR3 チッ プ オリコ [®] (図 7A)	<u>X</u> PGYSGGWID <u>X</u> DV
180	P1-061029 HDR3 チッ プ オリコ [®] (図 7A)	<u>X</u> PGYSGGWIDAF <u>X</u> V
181	P1-061029 HDR3 チッ プ オリコ [®] (図 7A)	<u>X</u> PGYSGGWIDAFD <u>X</u>
182	IgG1f (ヒト野生型アロ イ [®] f) 重鎖定常領 域	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
183	IgG1.1f 重鎖定常領域 (L234A, L235E, G237A, A330S, P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
184	IgG1fa.P238K (また は IgG1.P238K)重鎖 定常領域	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGKSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
185	P1-070864 P1-068761_E30D VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
186	P1-070864 P1-068761_E30D VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
187	P1-070864 P1-068761_E30D IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
188	P1-070864 P1-068761_E30D LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
189	P1-070866 P1-068761_E32Y VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>SGFTLEDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSHGWIDAEDVWGQ</u> GTMVTVSS
190	P1-070866 P1-068761_E32Y VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QYQGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
191	P1-070866 P1-068761_E32Y IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
192	P1-070866 P1-068761_E32Y LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
193	P1-070868 P1-068761_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
194	P1-070868 P1-068761_E55A VL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIK
195	P1-070868 P1-068761_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCCPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
196	P1-070868 P1-068761_E55A LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
197	P1-070870 P1-068761_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		GTMVTVSS
198	P1-070870 P1-068761_E56N VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
199	P1-070870 P1-068761_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
200	P1-070870 P1-068761_E56N LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
201	P1-070872 P1-068761_H100G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
202	P1-070872 P1-068761_H100G VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
203	P1-070872 P1-068761_H100G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
204	P1-070872 P1-068761_H100G LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
205	P1-070874 P1-068761_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNACKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSHGWIDAFDVWGQ</u> GTMVTVSS
206	P1-070874 P1-068761_E100fF VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QYQGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
207	P1-070874 P1-068761_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNACKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
208	P1-070874 P1-068761_E100fF	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
	LC	EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
209	P1-070876 P1- 068761_E30D_E32Y VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLDDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSHGWIDAEDVWGQ</u> GTMVTVSS
210	P1-070876 P1- 068761_E30D_E32Y VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISR EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
211	P1-070876 P1- 068761_E30D_E32Y IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
212	P1-070876 P1- 068761_E30D_E32Y LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
213	P1-070878 P1- 068761_E55A_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSHGWIDAEDVWGQ</u> GTMVTVSS

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
214	P1-070878 P1- 068761_E55A_E56N VL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
215	P1-070878 P1- 068761_E55A_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
216	P1-070878 P1- 068761_E55A_E56N LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
217	P1-070880 P1- 068761_H100G_E100 fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWN <u>SEEIGYADSVKGR</u> FTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAFDVWGQ</u> GTMVTVSS
218	P1-070880 P1- 068761_H100G_E100 fF VL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
219	P1-070880 P1-	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWN <u>SEEIGYADSVKGR</u> FTISRDNAKN

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
	068761_H100G_E100 fF IgG1.3 HC	SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
220	P1-070880 P1- 068761_H100G_E100 fF LC	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
221	P1-070882 P1- 068761_E32Y_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
222	P1-070882 P1- 068761_E32Y_E55A VL	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
223	P1-070882 P1- 068761_E32Y_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
224	P1-070882 P1- 068761_E32Y_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
225	P1-070884 P1- 068761_E32Y_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWSENIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
226	P1-070884 P1- 068761_E32Y_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
227	P1-070884 P1- 068761_E32Y_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWSENIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
228	P1-070884 P1- 068761_E32Y_E56N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
229	P1-070886 P1- 068761_E32Y_H100 G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
230	P1-070886 P1- 068761_E32Y_H100 G VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
231	P1-070886 P1- 068761_E32Y_H100 G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTH TCTPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
232	P1-070886 P1- 068761_E32Y_H100 G LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
233	P1-070888 P1- 068761_E32Y_E100f F VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQ GTMVTVSS
234	P1-070888	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
	P1- 068761_E32Y_E100f F VL	KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
235	P1-070888 P1- 068761_E32Y_E100f F IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
236	P1-070888 P1- 068761_E32Y_E100f F LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
237	P1-070890 P1- 068761_E30D_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLDDEAM</u> HWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
238	P1-070890 P1- 068761_E30D_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
239	P1-070890 P1- 068761_E30D_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
240	P1-070890 P1- 068761_E30D_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
241	P1-070892 P1- 068761_E30D_E56N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
242	P1-070892 P1- 068761_E30D_E56N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIK
243	P1-070892 P1- 068761_E30D_E56N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
244	P1-070892 P1- 068761_E30D_E56N LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
245	P1-070894 P1- 068761_E30D_H100 G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLDDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDVWGQ</u> GTMVTVSS
246	P1-070894 P1- 068761_E30D_H100 G VL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
247	P1-070894 P1- 068761_E30D_H100 G IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCTPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
248	P1-070894 P1- 068761_E30D_H100 G LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
249	P1-070896 P1- 068761_E30D_E100f F VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQ GTMVTVSS
250	P1-070896 P1- 068761_E30D_E100f F VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIK
251	P1-070896 P1- 068761_E30D_E100f F IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
252	P1-070896 P1- 068761_E30D_E100f F LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
253	P1-070898 P1- 068761_E55A_E100f F VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQ GTMVTVSS
254	P1-070898	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
	P1- 068761_E55A_E100f F VL	KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
255	P1-070898 P1- 068761_E55A_E100f F IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
256	P1-070898 P1- 068761_E55A_E100f F LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
257	P1-070900 P1- 068761_E56N_H100 G VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDEAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWNS <u>ENIGYADSVKGRFTISRDNANKN</u> SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDVWGQ</u> GTMVTVSS
258	P1-070900 P1- 068761_E56N_H100 G VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
259	P1-070900 P1-	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNS <u>ENIGYADSVKGRFTISRDNANKN</u>

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
	068761_E56N_H100 G IgG1.3 HC	SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
260	P1-070900 P1- 068761_E56N_H100 G LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
261	P1-070902 P1- 068761_E56N_E100f F VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQ GTMVTVSS
262	P1-070902 P1- 068761_E56N_E100f F VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
263	P1-070902 P1- 068761_E56N_E100f F IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
264	P1-070902 P1- 068761_E56N_E100f F LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
265	P1-070904 P1-068767_E30D VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
266	P1-070904 P1-068767_E30D VL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
267	P1-070904 P1-068767_E30D IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
268	P1-070904 P1-068767_E30D LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		VTHQGLSSPVTKSFNREGC
269	P1-070906 P1-068767_D52N VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>SGFTLEDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWSENIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDD</u> WGQ GTMVTVSS
270	P1-070906 P1-068767_D52N VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
271	P1-070906 P1-068767_D52N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>SGFTLEDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWSENIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
272	P1-070906 P1-068767_D52N LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNREGC
273	P1-070908 P1-068767_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>SGFTLEDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
274	P1-070908 P1-068767_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
275	P1-070908	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>SGFTLEDYAMHWVR</u>

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
	P1-068767_E55A IgG1.3 HC	QAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
276	P1-070908 P1-068767_E55A LC	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
277	P1-070910 P1-068767_E100fF VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNS <u>ENIGYADSVKGRFTISRDNAKN</u> SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVP <u>PGYSGGWIDAFDDW</u> GQ GTMVTVSS
278	P1-070910 P1-068767_E100fF VL	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
279	P1-070910 P1-068767_E100fF IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNS <u>ENIGYADSVKGRFTISRDNAKN</u> SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
280	P1-070910 P1-068767_E100fF LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
281	P1-070912 P1-068767_D102V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLEDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGIDWNS <u>ENIGYADSVKGR</u> FTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDVWGQ</u> GTMVTVSS
282	P1-070912 P1-068767_D102V VL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQ</u> KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
283	P1-070912 P1-068767_D102V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNS <u>ENIGYADSVKGR</u> FTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAEDVWGQ</u> GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTH TCPGPCAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
284	P1-070912 P1-068767_D102V LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
285	P1-070914	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLDDYAMHWVR</u>

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
	P1- 068767_E30D_D52N VH	QAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
286	P1-070914 P1- 068767_E30D_D52N VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
287	P1-070914 P1- 068767_E30D_D52N IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSENIGYADSVKGRFTISRDN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
288	P1-070914 P1- 068767_E30D_D52N LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNREGC
289	P1-070916 P1- 068767_D52N_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
290	P1-070916 P1- 068767_D52N_E55A VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
291	P1-070916	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
	P1- 068767_D52N_E55A IgG1.3 HC	QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
292	P1-070916 P1- 068767_D52N_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNREGC
293	P1-070918 P1- 068767_E55A_E100f F VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQ GTMVTVSS
294	P1-070918 P1- 068767_E55A_E100f F VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIK
295	P1-070918 P1- 068767_E55A_E100f F IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
296	P1-070918 P1- 068767_E55A_E100f F LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
297	P1-070920 P1- 068767_E100fF_D10 2V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSS
298	P1-070920 P1- 068767_E100fF_D10 2V VL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIK
299	P1-070920 P1- 068767_E100fF_D10 2V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
300	P1-070920	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
	P1- 068767_E100f_D10 2V LC	KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
301	P1-070922 P1- 068767_E30D_E55A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
302	P1-070922 P1- 068767_E30D_E55A VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
303	P1-070922 P1- 068767_E30D_E55A IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
304	P1-070922 P1- 068767_E30D_E55A LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
305	P1-070924 P1- 068767_E30D_E100f	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQ

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
	F VH	GTMVTVSS
306	P1-070924 P1- 068767_E30D_E100f F VL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYL</u> AWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
307	P1-070924 P1- 068767_E30D_E100f F IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNS ~~ENIGY~~ ADSVKGRFTISRDN ~~AKN~~ SLYLQMNSLRTE ~~DTALYYCAK~~ VPGYSGGWIDAFDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPS ~~SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR~~ VEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVS ~~VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG~~ QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
308	P1-070924 P1- 068767_E30D_E100f F LC	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYL</u> AWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
309	P1-070926 P1- 068767_E30D_D102 V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>GFTLDDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGIDWNS ~~ENIGY~~ ADSVKGRFTISRDN ~~AKN~~ SLYLQMNSLRTE ~~DTALYYCAK~~ VPGYSGGWIDAE <u>DVWGQ</u> GTMVTVSS
310	P1-070926 P1- 068767_E30D_D102 V	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYL</u> AWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
	VL	
311	P1-070926 P1- 068767_E30D_D102 V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWSENIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
312	P1-070926 P1- 068767_E30D_D102 V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
313	P1-070928 P1- 068767_D52N_E100f F VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWSENIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQ GTMVTVSS
314	P1-070928 P1- 068767_D52N_E100f F VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
315	P1-070928 P1- 068767_D52N_E100f F IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWSENIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		VTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
316	P1-070928 P1- 068767_D52N_E100F F LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
317	P1-070930 P1- 068767_D52N_D102 V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAAS <u>SGFTLEDYAMHWVR</u> QAPGKGLEWVSGINWSENIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAK <u>VPGYSGGWIDAED</u> VWGQ GTMVTVSS
318	P1-070930 P1- 068767_D52N_D102 V VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYC <u>QQYGSSPFT</u> FGPGTKVDIK
319	P1-070930 P1- 068767_D52N_D102 V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWSENIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
320	P1-070930 P1- 068767_D52N_D102 V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
321	P1-070932 P1- 068767_E55A_D102 V VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
322	P1-070932 P1- 068767_E55A_D102 V VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
323	P1-070932 P1- 068767_E55A_D102 V IgG1.3 HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
324	P1-070932 P1- 068767_E55A_D102 V LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
325	hVISTA-ECD 6-His 変	AFKVATPYSL YVCPEGQNV LTCLLLGPVD KGHDVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHH GGHQAANTSH DLAQRHGLES ASDHHGNFSI TMRNLTLDS GLYCCLVVEI RHHHSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSNVCVY PSSSQESEN TAHHHHHHH
326	Cyno VISTA-ECD 6-His 変	AFKVATLYSL YVCPEGQNV LTRVFGPVD KGHDVTFYKT WYRSSRGEVQ TCSERRPIRN LTFQDLHLHH GGHQAANTSH DLAQRHGLES ASDHHGNFSI TMRNLTLDS GLYCCLVVEI RHHHSEHRVH GAMELQVQTG KDAPSSCVAY PSSSQESEN TAHHHHHHH
327	P1-069059 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACCTTGAAGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGACCATATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
328	P1-069059 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
329	P1-069061 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAAGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAAATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
330	P1-069061 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
331	P1-069063 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAAGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAAATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA CGATGAATGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
332	P1-069063 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
333	P1-069065 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAAGATGAAGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGACGACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTT TGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT TCA
334	P1-069065 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
335	P1-069067 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAAATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		CGATGAATGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
336	P1-069067 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
337	P1-069069 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAAATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA CGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
338	P1-069069 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
339	P1-069071 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTGAAGATGAAGCCATGCACTGGG

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGAAGGCTGGATTGACGCTTT TGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT TCA
340	P1-069071 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
341	P1-069073 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTGAAGATGAAGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAAATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
342	P1-069073 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
343	P1-069075 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAAGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGGACAGTGCTGAAATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
344	P1-069075 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
345	P1-069077 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAAGATGAAGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGACGAAATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTT TGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT TCA

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
346	P1-069077 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
347	P1-068761 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
348	P1-068761 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
349	P1-068761 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGAACATAGGCTATGC

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
350	P1-068767 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
351	P1-068773 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGATAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
352	P1-068773 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
353	P1-068765 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCGATGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
354	P1-068765 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
355	P1-061029 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTT TGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT TCA
356	P1-061029 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
357	P1-068757 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
358	P1-068757 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
359	P1-068771 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTCATGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGAAATGAACAGT

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
360	P1-068771 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
361	P1-068775 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
362	P1-068775 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
363	P1-068769 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGATCACATAGGCTATGC GGA CTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
364	P1-068769 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTGCGAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
365	P1-068759 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGA CTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
366	P1-068759 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
367	P1-068763 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGA CTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
368	P1-068763 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
369	P1-061015 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCG TCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGCCATGCACTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGG CAATTATATGGTATGATGGAAGTAATAAAATACTATGC AGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG AGAGATAGTGGTTTTTACTCCTCGTACTACTTTGACT

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		ACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA
370	P1-061015 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGC CAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGAA CTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACAC TTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
371	P1-068748 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCG TCTGGATTACCTTCAGTCACCATGCCATGCACTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGG CAATTATATGGTATGATGGAAGTAATGACGACTATGC AGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG AGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACTACTTTGACT ACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA
372	P1-068748 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGC CAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGAA CTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACAC TTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
373	P1-068744 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCG TCTGGATTACCTTCAGTGAGTATGCCATGCACTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGG CACATATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACGAGGC

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		AGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG AGAGATAGTGGTTTTTACGAATCGTACTACTTTGACG AGTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
374	P1-068744 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGC CAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAA CTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACAC TTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
375	P1-068736 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCG TCTGGATTACCTTCAGTGAGTATGCCATGCACTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGG CAATTGATTGGTATGATGGAAGTAATAAAGACTATGC AGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG AGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACTACTTTGACG ACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
376	P1-068736 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGC CAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAA CTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACAC TTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
377	P1-068752 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCG TCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGCCATGCACTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGG CAGAGATATGGTATGATGGAAGTAATAAAGACTATGC AGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG AGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACTACTTTGACG AGTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA
378	P1-068752 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGC CAGGTTACAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGAA CTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACAC TTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
379	P1-068740 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCG TCTGGATTACCTTCAGTGAATATGCCATGCACTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGG CAATTATATGGTATGATGGAAGTGATAAAGACTATGC AGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG AGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACTACTTTGACG ACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA
380	P1-068740 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGC CAGGTTACAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		CTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAA CTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACAC TTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
381	P1-068742 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCG TCTGGATTACCTTCAGTGACTATGCCATGCACTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGG CAATTATATGGTATGATGGAAGTGATAAAGACTATGC AGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG AGAGATAGTGGTTTTTACGAAGATTACTACTTTGACT ACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA
382	P1-068742 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGC CAGGTTACAGCGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAA CTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACAC TTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
383	P1-068746 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCG TCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGCCATGCACTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGG CAATTATATGGTATGATGGAAGTAATCACCACTATGC AGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG AGAGATAGTGGTTTTTACGACTCGTACTACTTTGACT ACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA
384	P1-068746 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGC CAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAA CTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACAC TTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
385	P1-068750 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCG TCTGGATTACCTTCAGTGAATGACATGCACTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGG CAGAGATATGGGATGATGGAAGTAATAAATACTATGC AGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG AGAGATGAGGAATTTTACTCCTCGTACTACTTTGACT ACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
386	P1-068750 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGC CAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAA CTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACAC TTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
387	P1-068738 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCG TCTGGATTACCTTCAGTGAATGCCCATCACTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGG CAATTATATGGGATGATGGAAGTAATCACTACTATGC AGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		AGAGATAGTGGTTTTTACGAAGATTACTACTTTGACT ACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
388	P1-068738 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGC CAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAA CTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACAC TTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
389	P1-068754 VH DNA	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCG TCTGGATTCACCTTCAGTGACTATGACATGCACTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGG CAGAGATATGGGATGATGGAAGTAATAAATACTATGC AGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGC CTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG AGAGATAGTGGTTTTTCACTCCGATTACTACTTTGACT ACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
390	P1-068754 VL DNA	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGC CAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAA CTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCGTACAC TTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
391	P1-070864 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
392	P1-070864 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
393	P1-070866 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
394	P1-070866 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
395	P1-070868 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
396	P1-070868 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
397	P1-070870 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
398	P1-070870 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
399	P1-070872 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
400	P1-070872 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
401	P1-070874 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTTT TGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT TCA
402	P1-070874 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
403	P1-070876 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
404	P1-070876 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
405	P1-070878 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
406	P1-070878 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
407	P1-070880 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTT TGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT TCA
408	P1-070880 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
409	P1-070882 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
410	P1-070882 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
411	P1-070884 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
412	P1-070884 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
413	P1-070886 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGA CTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
414	P1-070886 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
415	P1-070888 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTTT TGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT TCA
416	P1-070888 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCGTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
417	P1-070890 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
418	P1-070890 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCGTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		CAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
419	P1-070892 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
420	P1-070892 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
421	P1-070894 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		TTCA
422	P1-070894 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
423	P1-070896 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTTT TGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT TCA
424	P1-070896 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
425	P1-070898 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTGAGATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTTTTGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTCA
426	P1-070898 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTACATTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
427	P1-070900 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
428	P1-070900 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
429	P1-070902 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTTT TGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT TCA
430	P1-070902 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
431	P1-070904 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
432	P1-070904 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
433	P1-070906 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
434	P1-070906 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
435	P1-070908 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
436	P1-070908 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
437	P1-070910 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTT TGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
438	P1-070910 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
439	P1-070912 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
440	P1-070912 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
441	P1-070914 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
442	P1-070914 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
443	P1-070916 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
444	P1-070916 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
445	P1-070918 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTT TGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
446	P1-070918 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
447	P1-070920 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGAACATAGGCTATGC GGA CTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTT TGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT TCA
448	P1-070920 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
449	P1-070922 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		TCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
450	P1-070922 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
451	P1-070924 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTT TGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
452	P1-070924 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
453	P1-070926 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
454	P1-070926 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
455	P1-070928 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTT TGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		TTCA
456	P1-070928 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
457	P1-070930 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
458	P1-070930 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
459	P1-070932 VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		CAGGTATTGATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA AGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
460	P1-070932 VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
461	IgG1.3 重鎖定常領域 DNA	GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG GTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGC GGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACAT GCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCC CGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCACATGCGT GGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAA GTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA

10

20

30

40

50

配 列 番号	名称	配列
		ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA CAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAA GGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCT ATAGCAAGCTCACCGTGGCGTCGACCAAGGGCCCAT CGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCT CTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAACT CAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGG CTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCA GACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTG ACAAAACCTCACACATGCCACCCGTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCGTCAGTCTTCCTCTTCCCC CAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCC CTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCA AGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCC CAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAG GGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCC CATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCC TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACAT CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAA CAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
462	例示の輕鎖定常領域 DNA	CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGC CATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGT TGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC AAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCG GGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACG CTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCG TCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
463	P1-068761 K16R T84A	VH EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRRAEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
464	P1-068761 K16R	VH EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRRTEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
465	P1-068761 T84A	VH EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSEEIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRRAEDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
466	P1-068761 T84A DNA	K16R GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTACCCCTTGAGGATGAGGCCATGCACTGGGT CCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC AGGTATTAATTGGAACAGTGAAGAGATAGGCTATGCG GACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACA ACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT GAGA _g CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAA GTTCTGAGGTATAGCCATGGCTGGATTGACGCTGAAG ATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
467	P1-061029 K16R T84A	VH EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNKN

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		SLYLQMNSLR <u>A</u> EDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSS
468	P1-061029 K16R	VH EVQLVESGGGLVQPG <u>R</u> SLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTE <u>D</u> TALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSS
469	P1-061029 T84A	VH EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLR <u>A</u> EDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSS
470	P1-061029 K16R T84A DNA	VH GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGC <u>A</u> GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTCA <u>C</u> CTTGATGATTATGCCATGCACTGGGT CCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGTCTC AGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCG GACTCTGTGAAGGGCCGATTCA <u>C</u> CATCTCCAGAGACA ACGCCAAGA <u>A</u> CTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT GAG <u>A</u> gCTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAAAA GTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTG ATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
471	P1-068767 K16R T84A	VH EVQLVESGGGLVQPG <u>R</u> SLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNS <u>E</u> NIYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLR <u>A</u> EDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
472	P1-068767 K16R	VH EVQLVESGGGLVQPG <u>R</u> SLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNS <u>E</u> NIYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTE <u>D</u> TALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
473	P1-068767 T84A	VH EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNS <u>E</u> NIYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLR <u>A</u> EDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
474	P1-068767	VH GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
	K16R T84A DNA	CAGCCTGGCA _g GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTCA _g CCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGGT CCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC AGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCG GACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACA ACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT GAGA _g CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAA GTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAG ATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
475	P1-070868 (P1- 068761_E55A) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPG _R SLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLR _A EDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
476	P1-070868 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPG _R SLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLR _T EDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
477	P1-070868 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPG _K SLRLSCAASGFTLEDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSAEIGYADSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLR _A EDTALYYCAKVPGYSHGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
478	P1-070868 VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCA _g GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTCA _g CCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGGT CCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC AGGTATTGATTGGAACAGTGAAAACATAGGCTATGCG GACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACA ACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT GAGA _g CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAA GTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAG ATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
479	P1-70906 (P1-	EVQLVESGGGLVQPG _R SLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
	068767_D52N) VH K16R T84A	QAPGKGLEWVSGINWNS ^{EN} IGYADSVKGRFTISR ^{DN} AKN SLYLQMNSLR <u>A</u> EDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
480	P1-70906 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPG <u>R</u> SLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNS ^{EN} IGYADSVKGRFTISR ^{DN} AKN SLYLQMNSLR <u>T</u> EDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
481	P1-70906 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNS ^{EN} IGYADSVKGRFTISR ^{DN} AKN SLYLQMNSLR <u>A</u> EDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
482	P1-70906 VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAG _g GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTCACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGGT CCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC AGGTATTAATTGGAACAGTGA ^{AA} ACATAGGCTATGCG GACTCTGTGAAGGGCCGATTCA ^{CC} ATCTCCAGAGACA ACGCCAAGA ^{ACT} CCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT GAGA _g CTGAGGACACGGCCTTG ^T ATTACTGTGCA ^{AAA} GTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAG ATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
483	P1-70908 (P1-068767_E55A) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPG <u>R</u> SLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISR ^{DN} AKN SLYLQMNSLR <u>A</u> EDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
484	P1-70908 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPG <u>R</u> SLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISR ^{DN} AKN SLYLQMNSLR <u>T</u> EDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
485	P1-70908 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGIDWNSANIGYADSVKGRFTISR ^{DN} AKN SLYLQMNSLR <u>A</u> EDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
486	P1-70908 VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTA CAGCCTGGCA _g GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTCACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGGT CCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC AGGTATTGATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCG GACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACA ACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT GAGA _g CTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAAAA GTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAG ATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
487	P1-70916 (P1-068767_D52N_E55A) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPG _R SLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDN AKN SLYLQMNSLR _A EDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
488	P1-70916 VH K16R	EVQLVESGGGLVQPG _R SLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDN AKN SLYLQMNSLR _T EDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
489	P1-70916 VH T84A	EVQLVESGGGLVQPG _K SLRLSCAASGFTLEDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDN AKN SLYLQMNSLR _A EDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
490	P1-70916 VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTA CAGCCTGGCA _g GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTCACCCCTTGAGGATTATGCCATGCACTGGGT CCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC AGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCG GACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACA ACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT GAGA _g CTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAAAA GTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAAG ATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
491	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V10 2D) VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
492	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V10 2D) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIK
493	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V10 2D) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
494	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V10 2D) LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
495	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V10 2D) VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		GGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
496	P1-72000 (P1- 061029_F100fE_V10 2D) VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCGTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCGTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
497	P1-72000 (P1- 061029_F100fE_V10 2D) HC DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCGCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA GGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT GGCACCGTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTC CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTG CAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGACAAAACCTCAC ACATGCCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGG GCCCCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATC GAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAG GAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGA CCACGCCTCCCGTGCTGGAAGTCCGACGGCTCCTTCT TCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCCCCGGGTTGA
498	P1-72000 (P1-061029_F100fE_V10 2D) LC DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAACGTACG GTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTG ATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTG CCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGAC AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGC AAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACA AAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
499	P1-72000 (P1-	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
	061029_F100fE_V10 2D) VH K16R T84A	QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
500	P1-72000 (P1- 061029_F100fE_V10 2D) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
501	P1-72000 (P1- 061029_F100fE_V10 2D) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
502	P1-72000 (P1- 061029_F100fE_V10 2D) VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCA _g GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGGT CCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC AGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCG GACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACA ACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT GAGA _g CTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAAAA GTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAG GATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT TCA
503	P1-72002 (P1- 061029_F100fE) VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
504	P1-72002 (P1- 061029_F100fE) VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
505	P1-72002 (P1- 061029_F100fE) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
506	P1-72002 (P1-061029_F100fE) LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
507	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAAAGTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAGGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
508	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTACATTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
509	P1-72002 (P1-	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTACATTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
	061029_F100fE) HC DNA	CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA GGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT GGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTC CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTG CAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCAC ACATGCCCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGG GCCCCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATC GAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAG GAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGA CCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCT TCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCCCCGGGTTGA
510	P1-72002 (P1-061029_F100fE) LC DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAACGTACG GTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTG ATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTG CCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGAC AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGC AAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACA AAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
511	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
512	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
513	P1-72002 (P1-061029_F100fE) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDDWGQ GTMVTVSS
514	P1-72002 (P1-	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
	061029_F100fE) VH K16R T84A DNA	CAGCCTGGCA _g GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTCA _g CCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGGT CCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC AGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCG GACTCTGTGAAGGGCCGATTCA _g CCATCTCCAGAGACA ACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT GAGA _g CTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAA GTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAG GATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTT CA
515	P1-72004 (P1- 061029_V102D) VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTE _D TALYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQ GTMVTVSS
516	P1-72004 (P1- 061029_V102D) VL	EIVLTQSPGTL _S LSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLISRL EPEDFAVYYCQ _Q YGSSPFTFGPGTKVDIK
517	P1-72004 (P1- 061029_V102D) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTE _D TALYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV _E PKSODKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVS _V LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYK _T TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSV _M HEALHNHYTQKSLSLSPG
518	P1-72004 (P1- 061029_V102D) LC	EIVLTQSPGTL _S LSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLISRL EPEDFAVYYCQ _Q YGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASV _V CLLN _N FYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSK _D STYSL _S STLTLSKADYEKHKVYACE

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
519	P1-72004 (P1-061029_V102D) VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTT TGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
520	P1-72004 (P1-061029_V102D) VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
521	P1-72004 (P1-061029_V102D) HC DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTT TGATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT GGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		ACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTC CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTG CAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCAC ACATGCCCCACCGTGCCCGAGCACCTGAAGCCGAAGGG GCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAGAAACCCAAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATC GAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAG GAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGA CCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCT TCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCCCCGGGTTGA
522	P1-72004 (P1-061029_ V102D) LC DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGATATCAAACGTACG

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		GTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTG ATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTG CCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGAC AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGC AAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACA AAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
523	P1-72004 (P1-061029_V102D) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLR AEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQ GTMVTVSS
524	P1-72004 (P1-061029_V102D) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLR TEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQ GTMVTVSS
525	P1-72004 (P1-061029_V102D) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLR AEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDDWGQ GTMVTVSS
526	P1-72004 (P1-061029_V102D) VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAgGTCCTTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTCACCCTTGATGATTATGCCATGCACTGGGT CCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC AGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCG GACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACA ACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT GAGAgCTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAAAA GTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTG ATGACTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
527	P1-72006 (P1-061029_Y32E) VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSS
528	P1-72006 (P1-061029_Y32E) VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
529	P1-72006 (P1-061029_Y32E) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
530	P1-72006 (P1-061029_Y32E) LC	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNREGC
531	P1-72006 (P1-061029_Y32E) VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACCCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTT TGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT TCA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
532	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
533	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) HC DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTACCCCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTT TGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCT TCAGCGTCGACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTG GCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCG GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAA CCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACC AGCGGCGTGACACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCC TCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC AAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGACAAAACCTCACA CATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGG CCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCC AAAACCCAAGGA CACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA TAATGCCAAGACAAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAA

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCT GCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGA GAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGA GATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGAC CACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCCCCGGGTTGA
534	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) LC DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAACGTACG GTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTG ATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTG CCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGAC AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGC AAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACA AAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
535	P1-72006 (P1-061029_ Y32E) VH K16R T84A	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		GTMVTVSS
536	P1-72006 (P1-061029_Y32E) VH K16R	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSS
537	P1-72006 (P1-061029_Y32E) VH T84A	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAFDVWGQ GTMVTVSS
538	P1-72006 (P1-061029_Y32E) VH K16R T84A DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGCTA CAGCCTGGCA _g GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTACCCCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGGT CCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC AGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCG GACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACA ACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT GAGA _g CTGAGGACACGGCCTTGATTACTGTGCAAAA GTTCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTTTTG ATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC A
539	P1-72008 (P1-061029_Y32E_F100fE) VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
540	P1-72008 (P1-061029_Y32E_F100fE) VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIK
541	P1-72008 (P1-061029_Y32E_F100fE) HC	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
542	P1-72008 (P1- 061029_ Y32E_F100fE) LC	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQYQGSSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
543	P1-72008 (P1- 061029_ Y32E_F100fE) VH DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACCCCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGG TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA GGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCA
544	P1-72008 (P1- 061029_ Y32E_F100fE) VL DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
545	P1-72008 (P1- 061029_ Y32E_F100fE) HC	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGCAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACCCCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGG

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
	DNA	TCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCT CAGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGC GGA CTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGA CAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGT CTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAA AAGTTCCTGGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGA GGATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTC TTCAGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT GGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCGTGGAATCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTC CTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT GCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTG CAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCAC ACATGCCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGG GCCCCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCC AAAACCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAG GTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATC GAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAG GAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGA CCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCT TCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC

10

20

30

40

50

配列 番号	名称	配列
		TCCCTGTCCCCGGGTTGA
546	P1-72008 (P1-061029_Y32E_F100fE) LC DNA	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGG CCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTA CCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGA CAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAG TGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCATTAC TTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAACGTACG GTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTG ATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTG CCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGAC AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGC AAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACA AAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
547	P1-72008 (P1-061029_Y32E_F100fE) K16R T84A VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
548	P1-72008 (P1-061029_Y32E_F100fE) K16R VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRTEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
549	P1-72008 (P1-061029_Y32E_F100fE) T84A VH	EVQLVESGGGLVQPGKSLRLSCAASGFTLDDEAMHWVR QAPGKGLEWVSGINWNSANIGYADSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRAEDTALYYCAKVPGYSGGWIDAEDVWGQ GTMVTVSS
550	P1-72008 (P1-061029_Y32E_F100fE) VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTA CAGCCTGGCAgGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTCAACCCTTGATGATGAGGCCATGCACTGGGT

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
	K16R T84A DNA	CCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTC AGGTATTAATTGGAACAGTGCTAACATAGGCTATGCG GACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACA ACGCCAAGAAGTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCT GAGAgCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAAA GTTCTGCGGTATAGCGGTGGCTGGATTGACGCTGAG GATGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTT CA
551	VISTA.4 VH 41F11 下線部、シグナル配列あり	MEFGLSWVFLVAIIKGVQCQVQLVESGGGLVKPGGSLRL SCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYSISNGSPIYY ADSVKGRFTISRDNALNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD LPGWYFDLWGRGTLTVSS
552	VISTA.4 VK1 VL 41F11 下線部、シグナル配列あり	MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP ARFSASGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRNNWPRTF GQGTKVEIK
553	VISTA.4 VK2 VL 41F11 下線部、シグナル配列あり	MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARCDIQMTQSPSSLSASVG DRVITICRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYNSYP RTFGQGTKVEIK
554	VISTA.4 VK3 VL 41F11 下線部、シグナル配列あり	METPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPGTLSLSPGERAT LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQSSPWT FGQGTKVEIK
555	VISTA.4 VH DNA 41F11 下線部、シグナル配列あり	ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTTGTGCTA TTATAAAAGGTGTCCAGTGTCAGGTGCAGTTGGTGGA GTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCT GAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGT GACTATTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGG AAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAATAGTG GTAGTCCCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCG ATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGTCACTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACG GCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCTCCCGGGCTGGT

10

20

30

40

50

配列番号	名称	配列
		ACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCCTGGTCACTGTCTCCTCA
556	VISTA.4 VK1 VL DNA 下線部、シグナル配列あり	<u>ATGGAAGCCCCAGCTCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCA</u> <u>CCGGAGAAATTGTGTTGAC</u> ACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCACTGCCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAACAACCTGGCCTCGGACGTTCCGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
557	VISTA.4.A64G VK1 VL 下線部、シグナル配列あり	<u>MEAPAQLLFLLLLWLP</u> <u>DTTGEIVLTQSPATLSLSPGERAT</u> LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRNNWPRTFGQGTKVEIK
558	VISTA.4.A64G LC 下線部、シグナル配列あり	<u>MEAPAQLLFLLLLWLP</u> <u>DTTGEIVLTQSPATLSLSPGERAT</u> LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRNNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
559	VISTA.5 VH	AVQLQESGPGLVRPSQSLSLTCTVTDYSITSDYAWNWIQQFPGSKLEWLGFIGYSGNTNYNPSLESISRITRHTSKNQFFLHLNSMTTEDTATYYCARSLYGGSHWYFDVWGAGTTVTVSS
560	VISTA.5 VK1, VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRGSESVEYYGTILMQWYQQKPGQPPKLLIYGASNVESGVPARFSGSGSGTDFTSLNIHPVEEDDIAMYFCQQSRKVPWTFGGGTKLEIK
561	VISTA.5 VH DNA	GCTGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGGTGAGACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACTGTCACTGACTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAACCTGATCCGGCAGTTTCCAGGAAGCAAACCTGGAGTGGCT

10

20

30

40

50

配 列 番号	名称	配列
		GGGCTTCATAGGCTACAGTGGTAACACTAACTACAAC CCATCTCTCGAAAGTCGAATCTCTATCACTCGACACA CATCCAAGAACCAGTTCTTCCTGCACTTGAATTCTAT GACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAAGA TCCCTCTACGGTGGTAGTCACTGGTACTTCGATGTCT GGGGCGCAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA
562	VISTA.5 VK1, VL DNA	GACATTGTGCTCACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTG TGTCTCTAGGGCAGAGAGCCACCATCTCCTGCAGAG GCAGTGAAAGTGTTGAATATTATGGCACAATTTAAT GCAGTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAA ACTCCTCATCTATGGTGCATCCAACGTAGAATCTGGG GTCCCTGCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA GACTTCAGCCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGATG ATATTGCAATGTATTTCTGTCAGCAAAGTAGGAAGGT TCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAAT CAAA

10

20

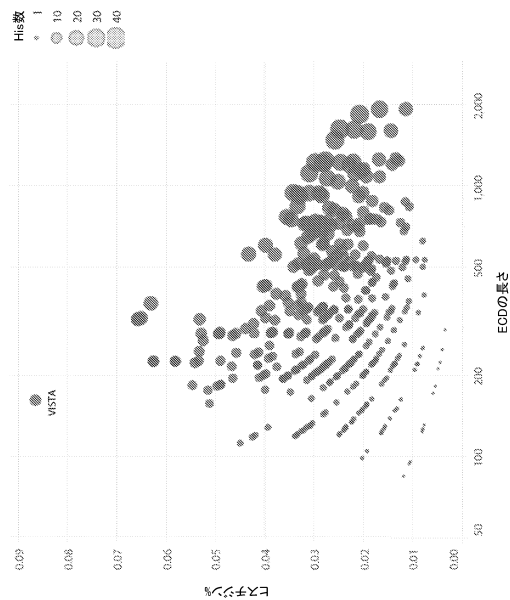
30

40

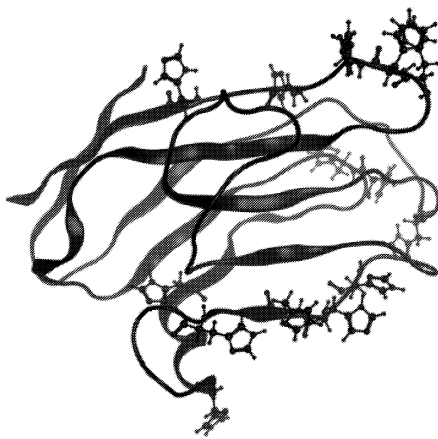
50

【図面】

【図 1 A】



【図 1 C】

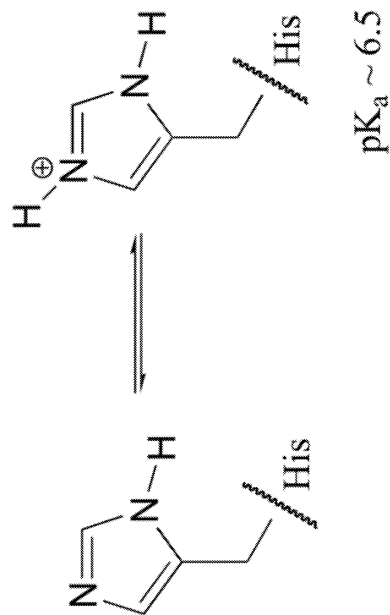


【図 1 B】

Hu/Cy/Ms保存ヒスチジン(本字、下線)
Hu/Cy保存ヒスチジン(本字)

Human NP_071436.1	Sig- FKVATPYSLYVCP	EQNVTLTCRLGPDVGK	HDVTYFKTWYR
Cyno XP_005565644.1	Sig- FKVATLYSLYVCP	EQNVTLTCRVFVGDKG	HDVTYFKTWYR
Mouse NP_083008.1	Sig- FKVTTPYSLYVCP	EQNATLTCLILGFVSKG	HDVTYIKTWYL
Human NP_071436.1	SSRGEVQTCSERRPIR	NLTFDLH ¹ HHGGQ	QAANTSD ² DLAQR ³ HGLES
Cyno XP_005565644.1	SSRGEVQTCSERRPIR	NLTFDLH ¹ HHGGQ	QAANTSD ² DLAQR ³ HGLES
Mouse NP_083008.1	SSRGEVQCKEHRPIR	NFTLQHLQ- ⁴ HHGS ⁵ HLKANAS ⁶ HD ⁷ QPK ⁸ HGLEL	
Human NP_071436.1	ASDHHGNFSITMRNL	TLLDSGLYCCLVVEIR	HHHSEH ⁹ RKH ¹⁰ GAMELQV
Cyno XP_005565644.1	ASDHHGNFSITMRNL	TLLDSGLYCCLVVEIR	HHHSEH ⁹ RKH ¹⁰ GAMELQV
Mouse NP_083008.1	ASDHHGNFSITLRN	VTPRDSGLYCCLVIELKN ¹¹ HH ¹² PEQRFYGSMEIQV	
Human NP_071436.1	QTGKDAPNCVVPSSSQ	DSSENITAA	-TMD
Cyno XP_005565644.1	QTGKDAPNCVVPSSSQ	DSSENITAA	-TMD
Mouse NP_083008.1	QAGKGSSTCMA--SNEQ	DSDSITAA	-TMD

【図 2 A】



10

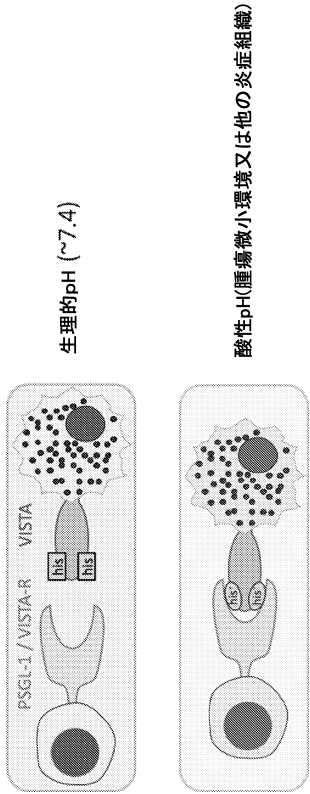
20

30

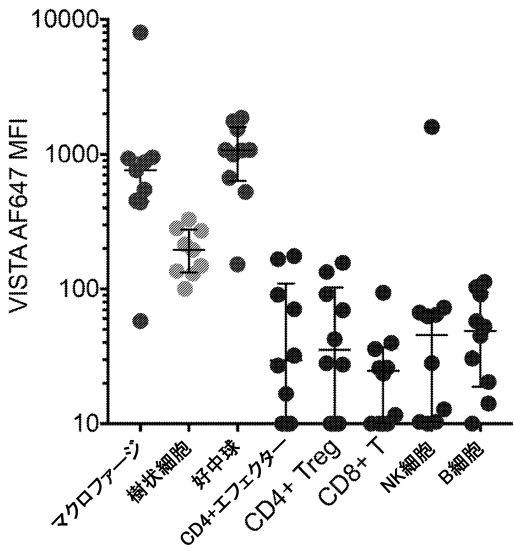
40

50

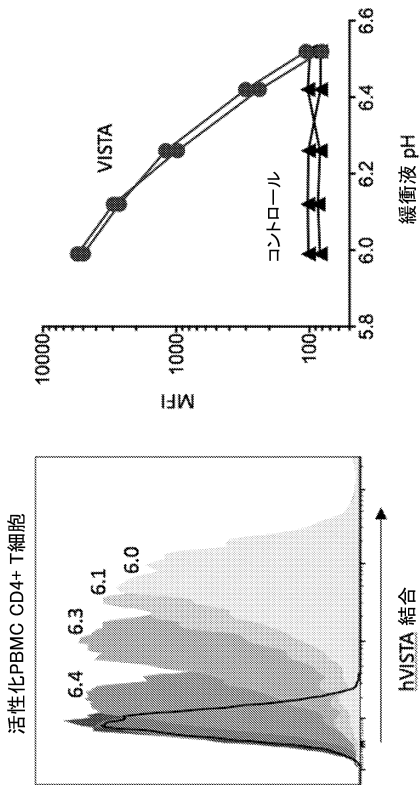
【図 2 B】



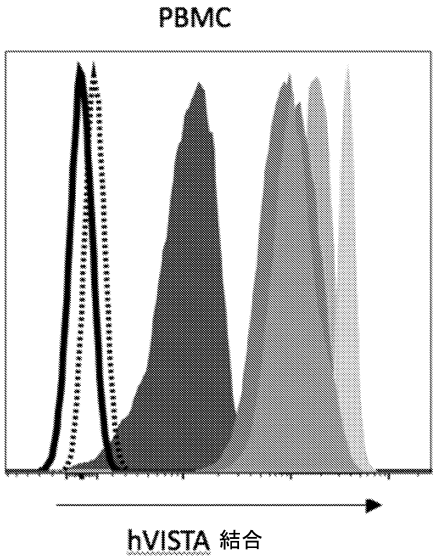
【図 3】



【図 4 A】



【図 4 B】



10

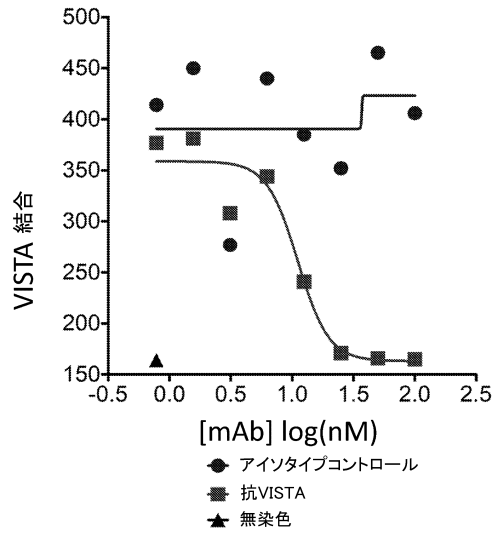
20

30

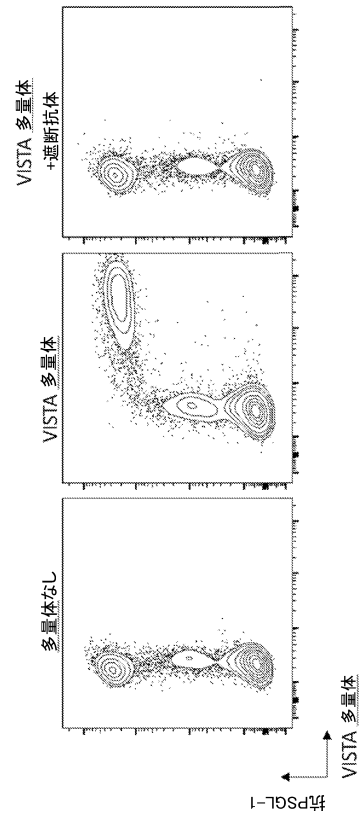
40

50

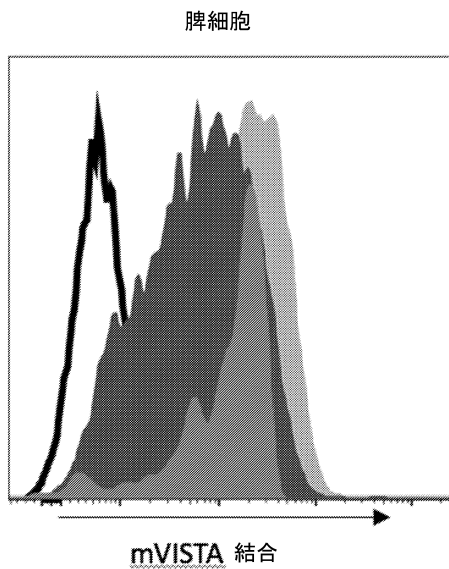
【図 4 C】



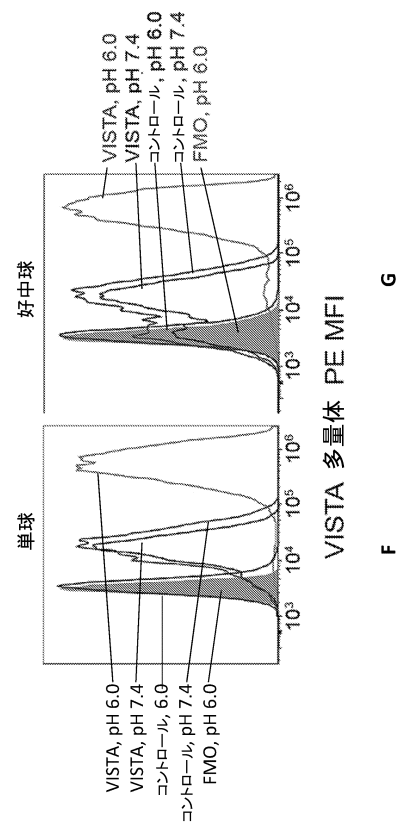
【図 4 D】



【図 4 E】



【図 4 F - G】



10

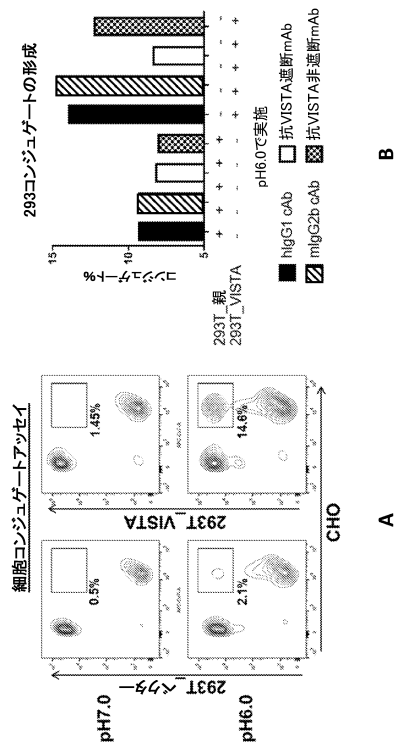
20

30

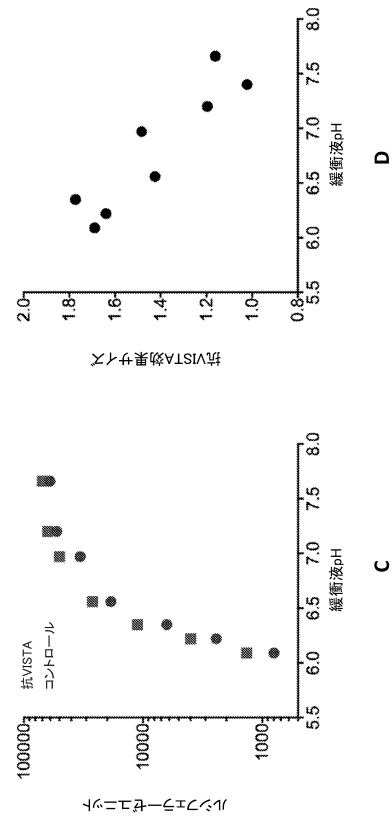
40

50

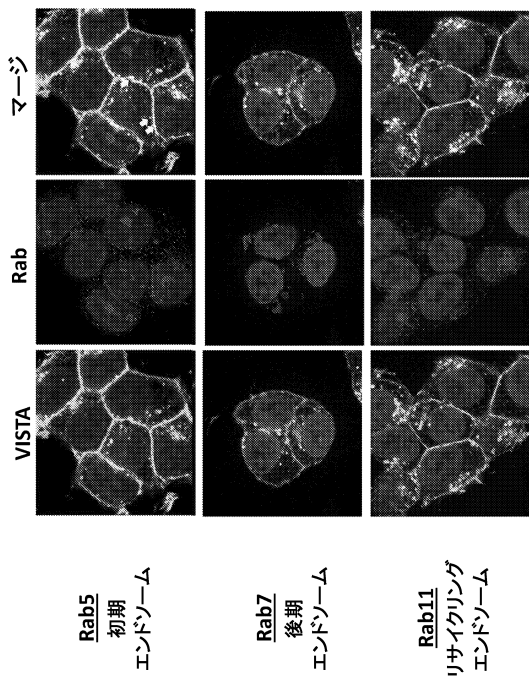
【図 5 A - B】



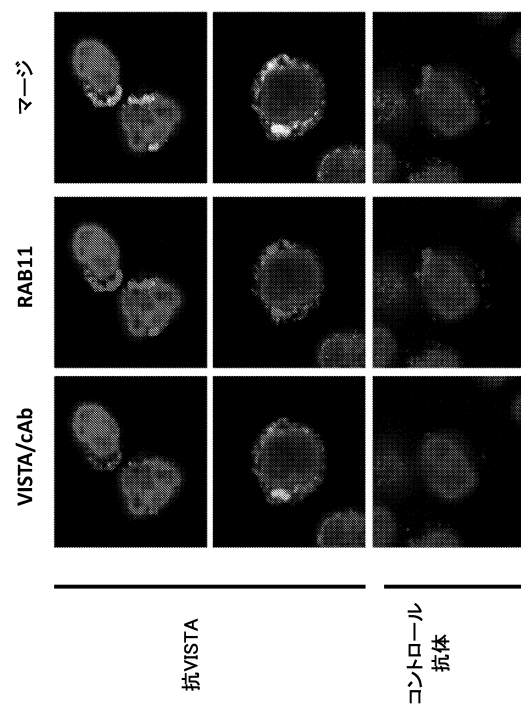
【図 5 C - D】



【図 6 A】



【図 6 B】



10

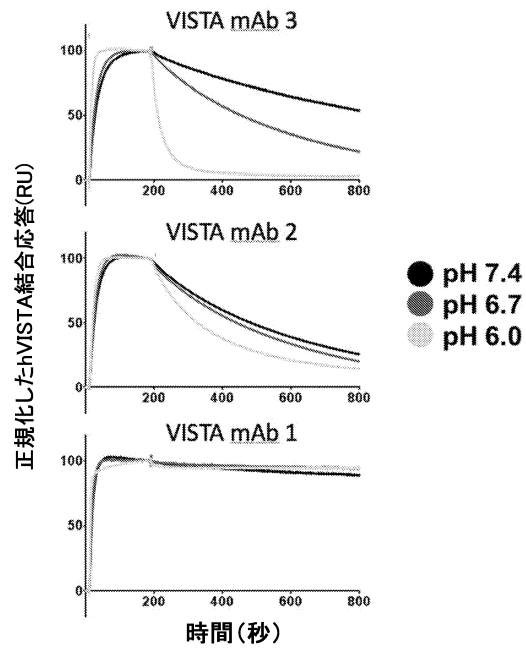
20

30

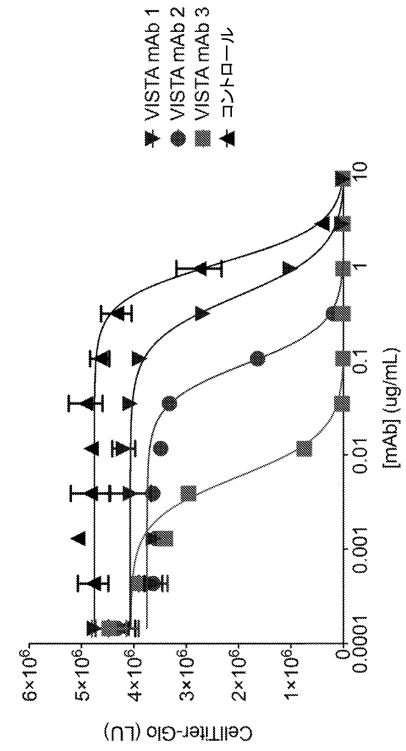
40

50

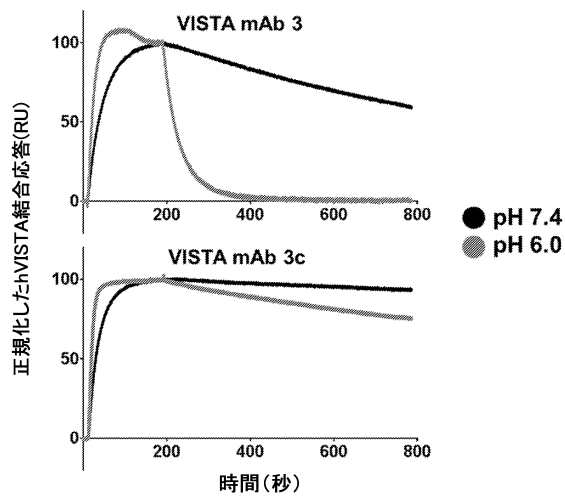
【図 6 C】



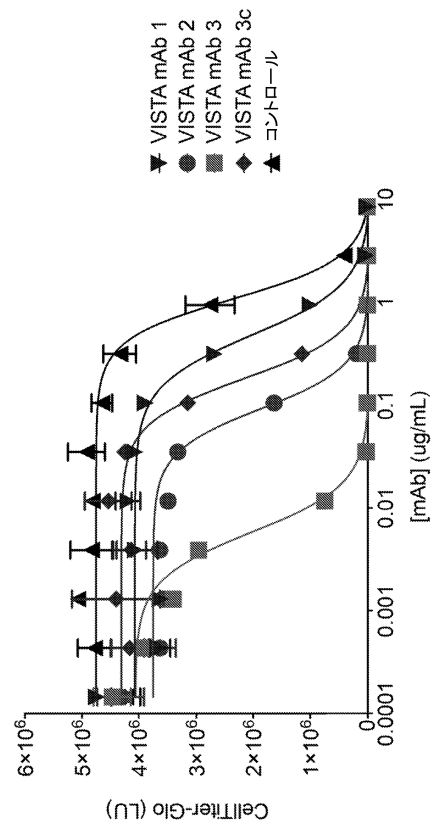
【図 6 D】



【図 6 E】



【図 6 F】



10

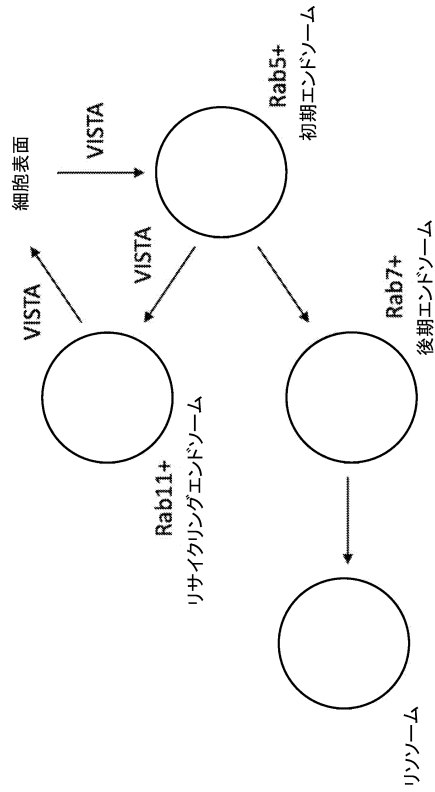
20

30

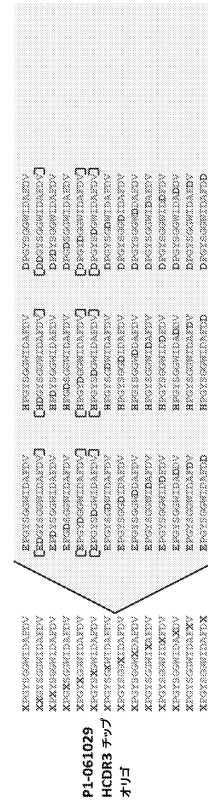
40

50

【図 6 G】



【図 7 A】

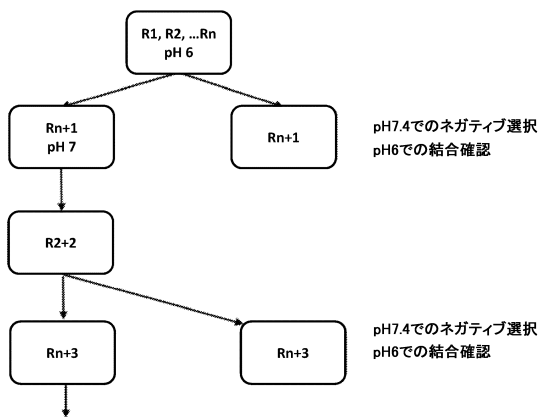


1. $X = H, D, \text{ or } E$
2. 結晶の付いた配列は、傾向性の導入を避けるために合成から排除した
3. 1-2個の変異を有するP1-061029 HCDR3の合計647個のユニークな配列を合成した

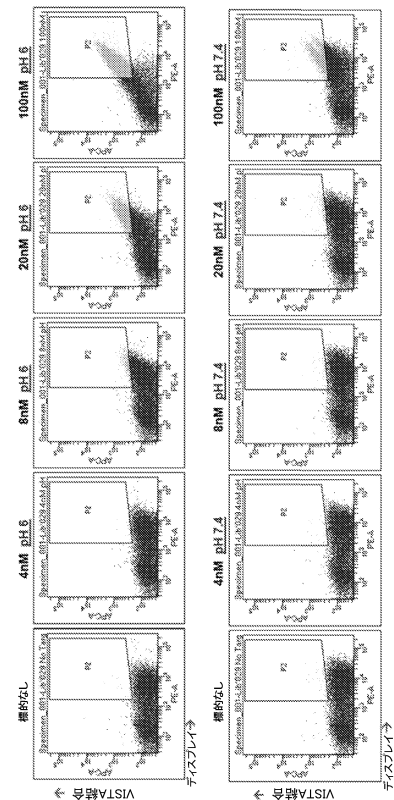
10

20

【図 7 B】



【図 7 C】

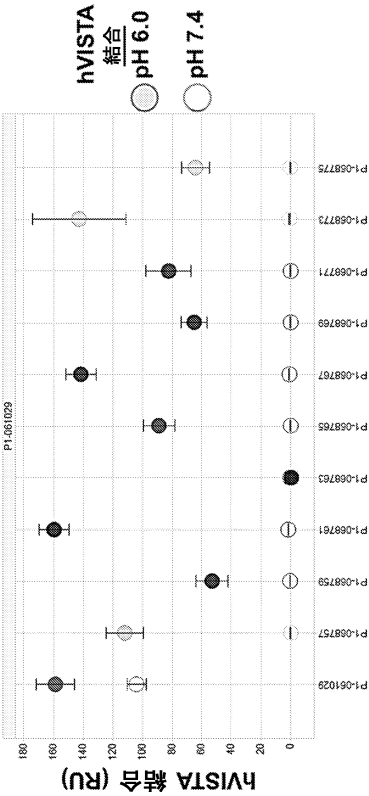


30

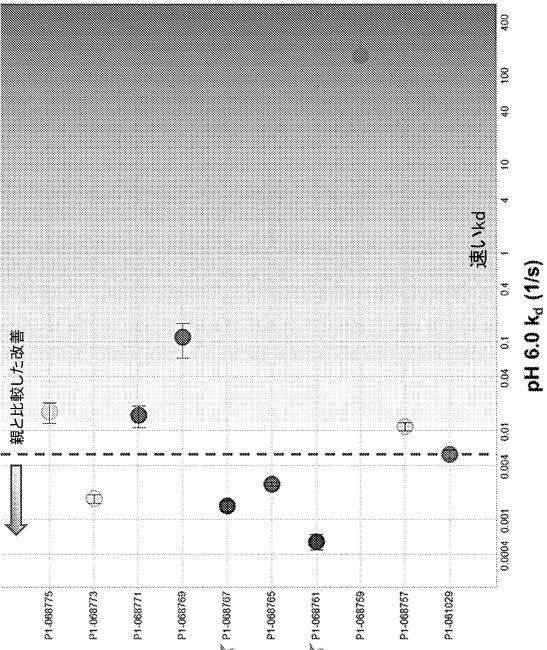
40

50

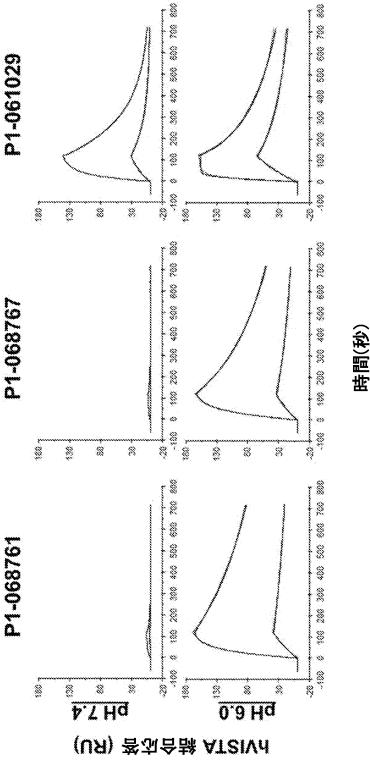
【図 7 D】



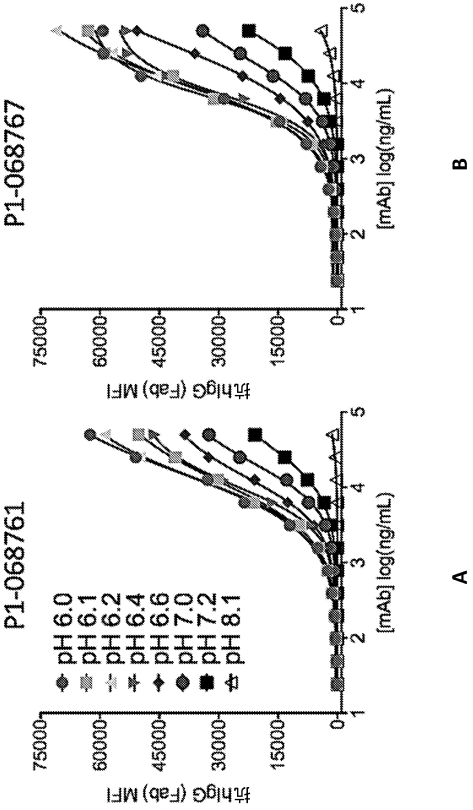
【図 7 E】



【図 7 F】



【図 8 A - B】



10

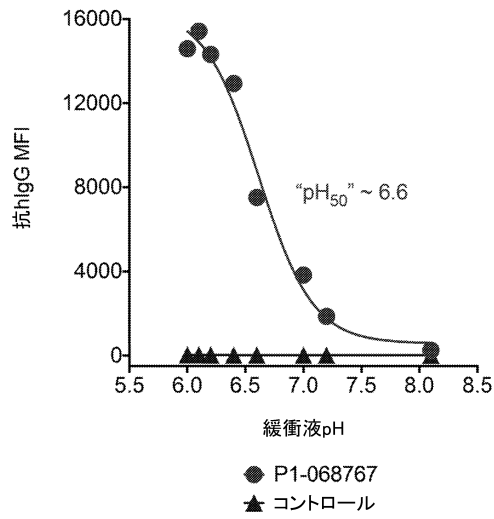
20

30

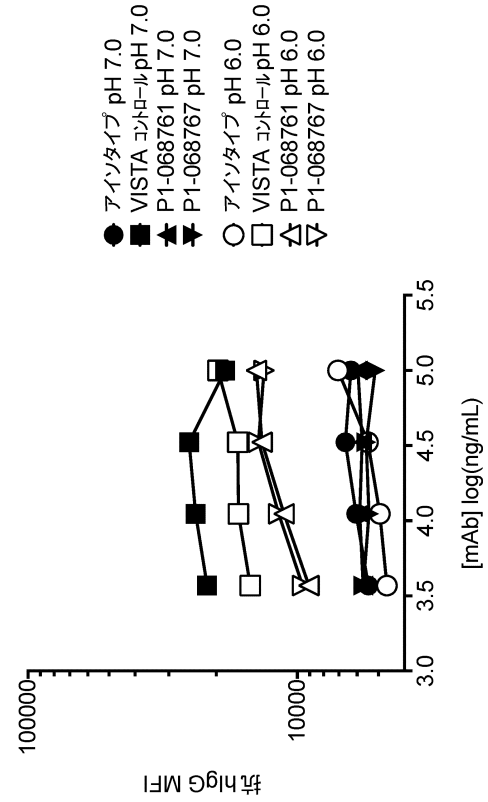
40

50

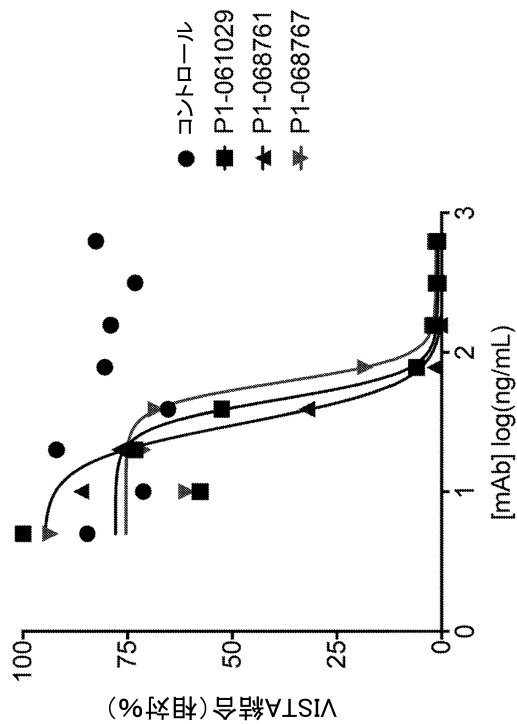
【図 8 C】



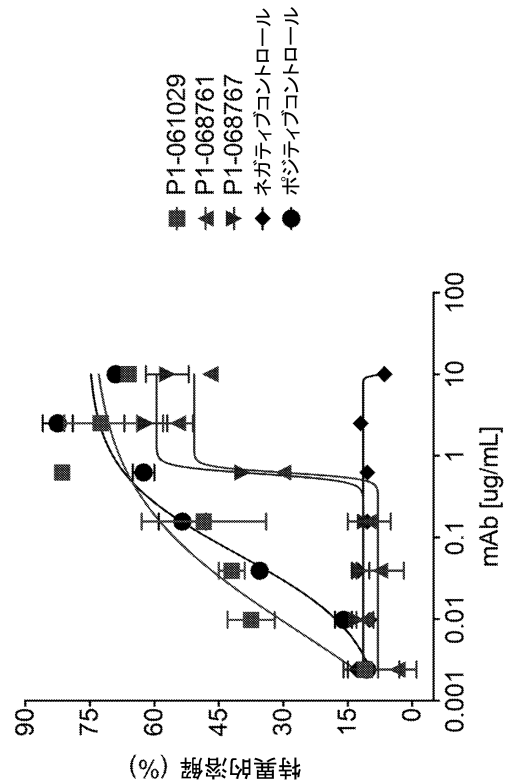
【図 8 D】



【図 8 E】



【図 8 F】



10

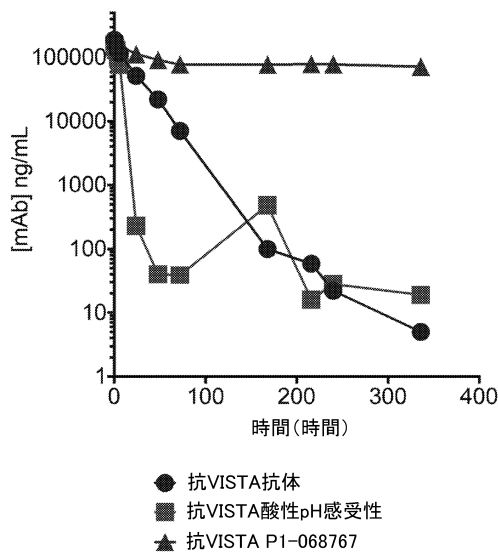
20

30

40

50

【図 9】



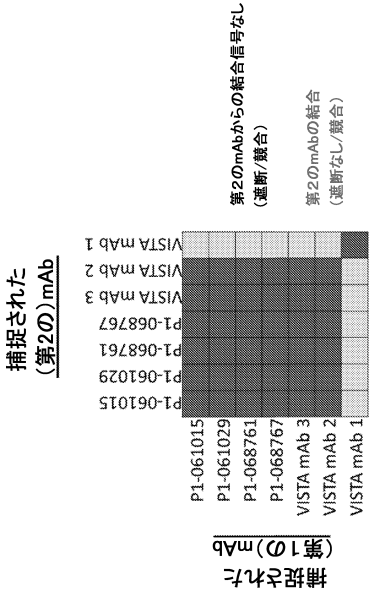
【図 1 0 A】

抗体	P1 ID	pH 7.4		pH 6.7		pH 6.0		HCDR1	HCDR2	HCDR3
		KD (M)	%max	KD (M)	%max	KD (M)	%max			
P1-068761_E100F	P1-070074	1.3E-03	2.0E-08	7.3	2.2E-04	1.1E-09	117.0	1.1E-04	1.0E-10	130.1
P1-068761_E50A_E100F	P1-070084	1.7E-03	1.4E-08	62.1	2.8E-04	1.5E-09	113.8	1.8E-04	2.6E-10	133.7
P1-068761_E100C_E100F	P1-070080	2.2E-03	1.1E-08	61.8	4.9E-04	2.8E-09	115.7	2.1E-04	2.3E-10	128.7
P1-068761_E50A_E100C	P1-070082	1.5E-03	1.5E-08	67.4	6.1E-04	5.4E-09	105.9	3.1E-04	1.4E-09	116.5
P1-068761_E50A_E100F	P1-070066	2.5E-03	1.8E-08	103.5	6.6E-04	1.6E-09	120.9	4.1E-04	2.1E-10	123.1
P1-068761_E3V	P1-070082	2.7E-03	1.3E-08	89.3	6.9E-04	2.0E-09	115.3	5.7E-04	3.1E-10	117.6
P1-068761_E3V_E50A	P1-070084	3.7E-03	4.7E-08	73.7	8.3E-04	5.1E-09	104.4	7.6E-04	1.2E-09	115.8
P1-068761_E3V_E100F	P1-070076	3.1E-03	2.1E-08	110.8	9.8E-04	2.0E-09	124.0	7.1E-04	2.4E-10	124.9
P1-068761_E3V_E100C	P1-070086	5.5E-03	7.2E-08	88.0	1.3E-03	5.0E-09	113.4	9.2E-04	4.8E-10	120.4
P1-068761_E3V_E100F	P1-070088	1.5E-03	3.7E-09	132.1	9.5E-04	1.1E-09	125.0	1.1E-03	2.5E-10	120.8
P1-068761_E55A	P1-070081	NB	NB	0.7	6.6E-03	7.1E-08	49.7	1.4E-03	2.6E-09	122.5
P1-068761_E55A	P1-070084	NB	NB	2.8	6.4E-03	1.3E-07	41.2	1.7E-03	3.4E-09	113.1
P1-068761_E100C	P1-070072	NB	NB	2.9	1.4E-02	2.3E-07	36.1	5.2E-03	4.4E-09	121.0
P1-068761_E50A	P1-070079	NB	NB	1.7	>1E-02	>3E-06	17.6	5.9E-03	1.9E-08	86.3
P1-068761_E55A_E50A	P1-070078	NB	NB	0.9	2.8E-02	2.1E-07	18.4	5.4E-03	2.1E-08	79.3
P1-068761_E50C_E100F	P1-070083	NB	NB	1.8	>1E-02	>3E-06	17.6	5.9E-03	1.9E-08	86.3
P1-068761_E50C_E55A	P1-070080	NB	NB	1.9	>1E-02	>1E-07	21.1	7.4E-03	1.2E-09	90.5
P1-061029	P1-070029	7.5E-03	3.2E-08	93.4	4.4E-03	1.1E-08	96.9	8.2E-03	4.5E-09	98.5
P1-068761_E50A_H100C	P1-070080	NB	NB	3.4	NB	NB	19.4	8.1E-03	1.0E-08	110.9
P1-068761_E3V_H100C	P1-070084	NB	NB	3.1	>1E-02	>3E-08	14.6	2.1E-02	1.5E-08	91.9
P1-068761_E3V_E50A	P1-070082	NB	NB	0.4	>1E-02	>3E-08	8.3	3.4E-02	5.0E-08	96.3

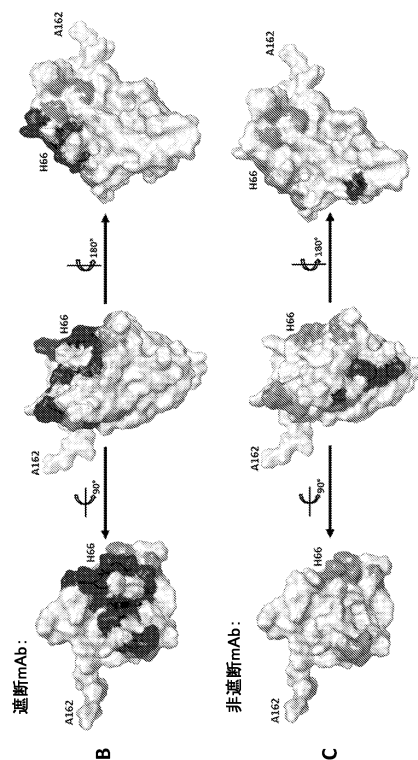
【図 1 0 B】

抗体	P1 ID	pH 7.4		pH 6.7		pH 6.0		HCDR1	HCDR2	HCDR3
		KD (M)	%max	KD (M)	%max	KD (M)	%max			
P1-068761_E55A_E100F	P1-070030	5.7E-03	8.7E-08	50.0	1.8E-03	1.2E-09	8.8E-10	114.6	E.....	E.....
P1-068761_E50A	P1-070096	NB	NB	3.9	6.7E-03	2.1E-07	38.9	3.2E-09	E.....	E.....
P1-068761_E50A_E55A	P1-070016	NB	2.1	5.5E-03	1.2E-07	33.7	1.5E-03	4.0E-09	E.....	E.....
P1-068761_E50A_E100F	P1-070024	1.0E-02	2.8E-07	35.1	3.1E-03	1.5E-08	85.7	2.8E-09	E.....	E.....
P1-068761_E100F	P1-070012	9.7E-03	1.7E-07	46.7	2.8E-03	1.4E-08	96.5	2.8E-09	E.....	E.....
P1-068761_E50A	P1-070088	NB	NB	2.8	8.5E-03	3.8E-07	29.8	2.4E-03	E.....	E.....
P1-068761_E3V_E100F	P1-070014	NB	NB	4.5	1.1E-02	2.2E-07	35.8	2.4E-03	E.....	E.....
P1-068761_E3V_E100C	P1-070017	NB	NB	1.9	7.4E-03	1.7E-08	31.1	2.4E-03	E.....	E.....
P1-068761_E3V_E100F	P1-070020	1.1E-02	2.2E-07	35.8	3.1E-03	1.7E-08	37.0	3.4E-09	E.....	E.....
P1-068761_E3V_E55A	P1-070025	NB	NB	5.0	NB	NB	22.0	3.4E-09	E.....	E.....
P1-068761_E3V_E55A	P1-070027	NB	NB	3.5	NB	NB	22.0	3.4E-09	E.....	E.....
P1-068761_E3V_E100F	P1-070029	7.5E-03	3.2E-08	93.4	4.4E-03	1.1E-08	96.9	8.2E-03	E.....	E.....
P1-068761_E3V_E100C	P1-070030	8.7E-03	4.1E-08	86.3	4.2E-03	1.1E-08	101.4	8.1E-03	E.....	E.....
P1-068761_E55A_E100F	P1-070018	NB	NB	1.8	NB	NB	8.6	1.8E-02	E.....	E.....
P1-068761_E55A_E100F	P1-070028	NB	NB	8.4	>1E-02	>3E-08	22.7	6.6E-02	E.....	E.....
P1-068761_E100F	P1-070010	NB	NB	1.8	2.8E-02	5.3E-06	9.6	>1E-02	E.....	E.....
P1-068761_E3V_E100F	P1-070024	NB	NB	1.0	2.7E-02	1.0E-05	7.0	>1E-02	E.....	E.....

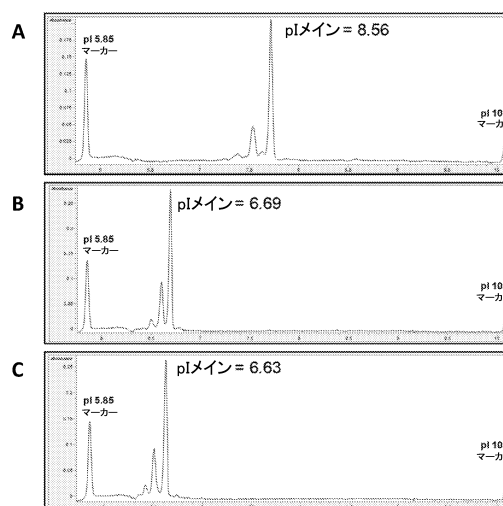
【図 1 1 A】



【図 1 1 B - C】



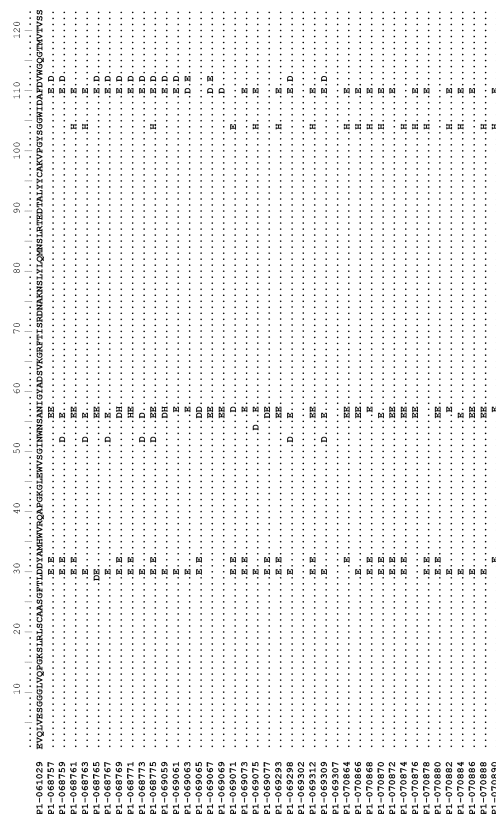
【図 12 A - C】



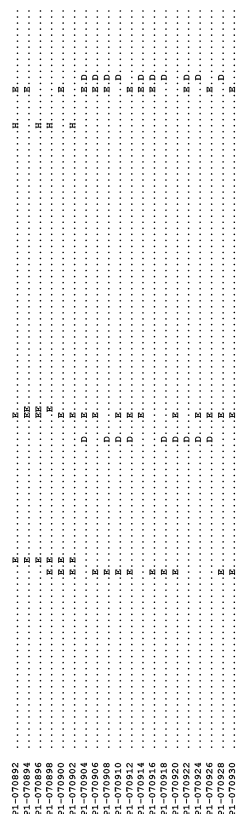
10

20

【図 13 A - 1】



【図 13 A - 2】

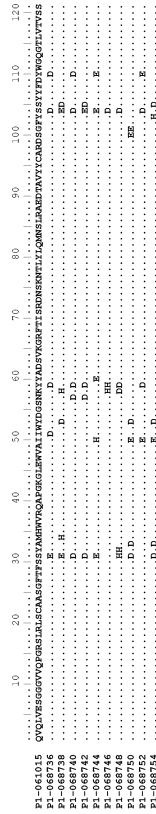


30

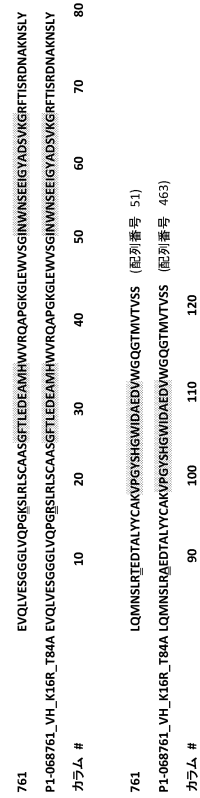
40

50

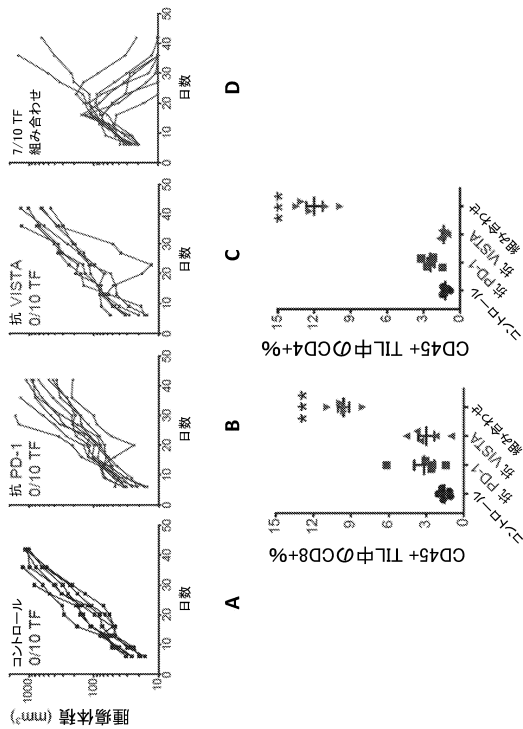
【図 1 3 B】



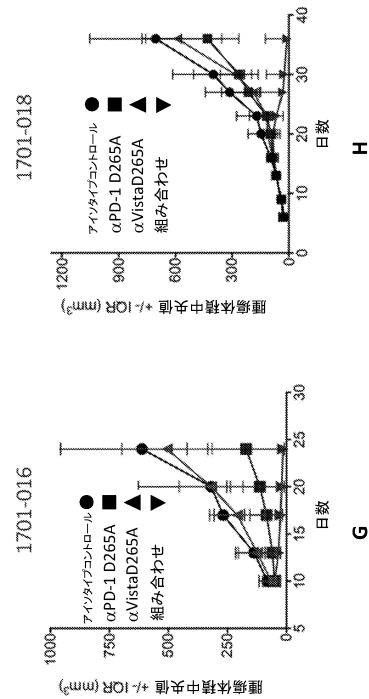
【図 1 4】



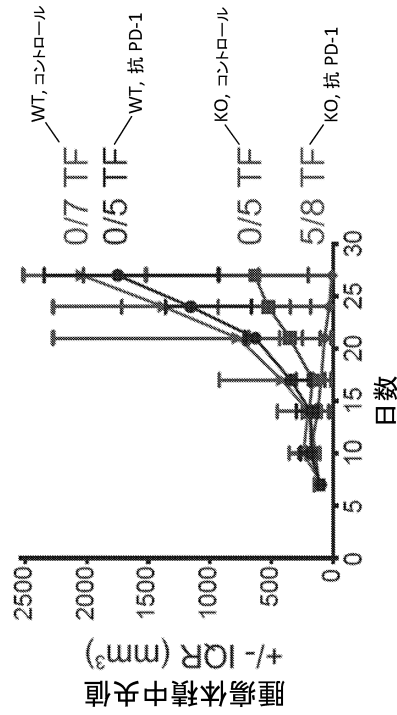
【図 1 5 A - F】



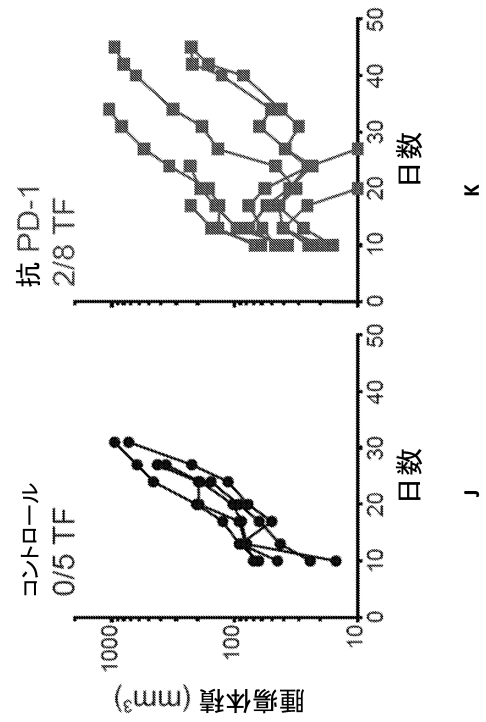
【図 1 5 G - H】



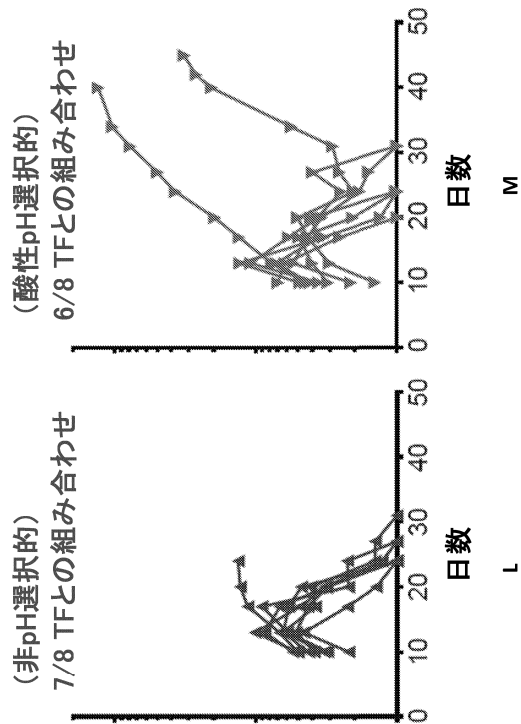
【図 1 5 I】



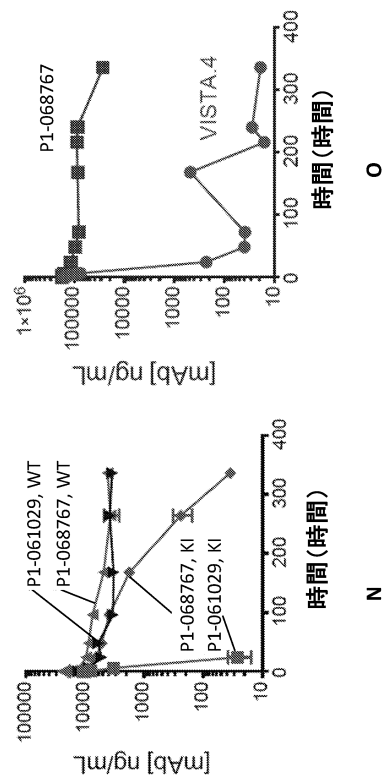
【図 1 5 J - K】



【図 1 5 L - M】



【図 1 5 N - O】



10

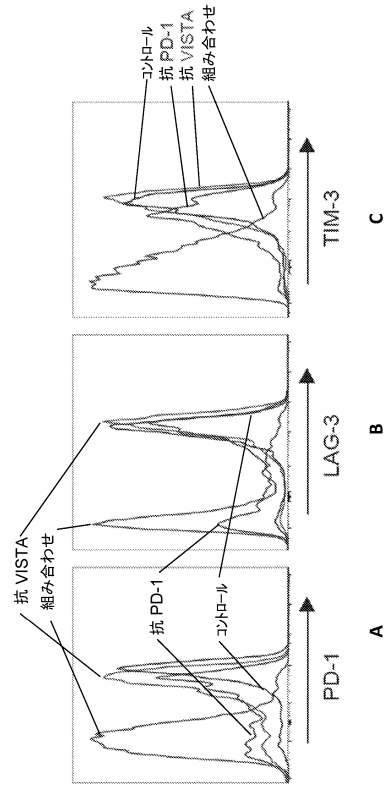
20

30

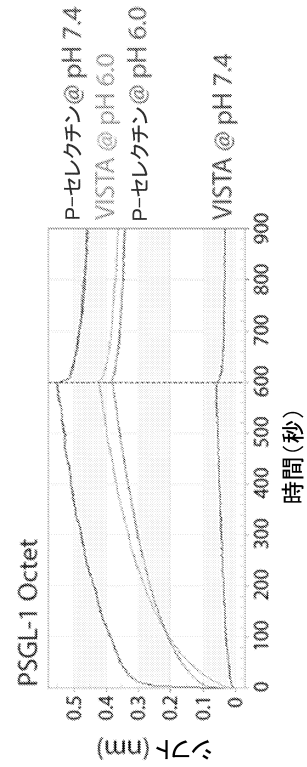
40

50

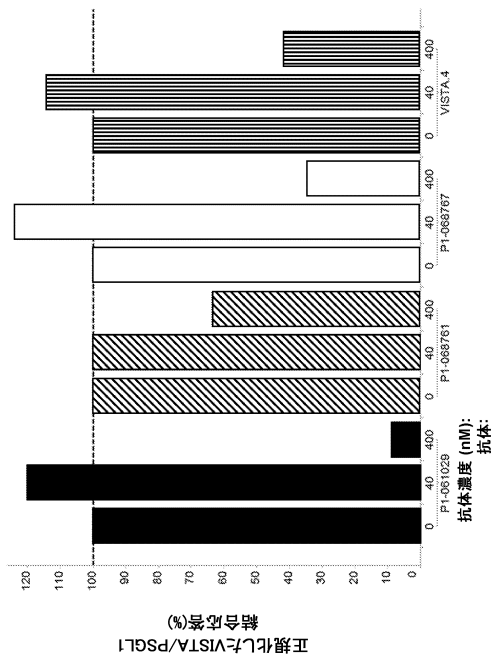
【図 16 A - C】



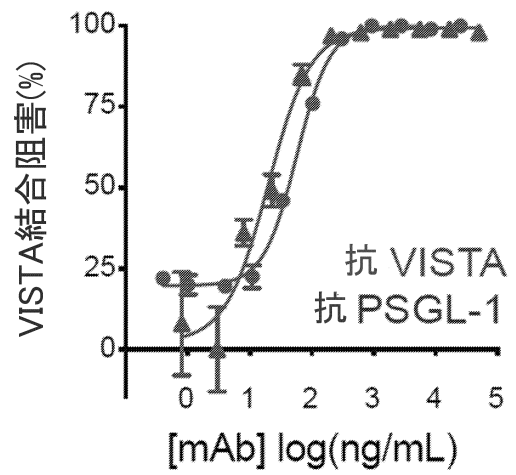
【図 17 A】



【図 17 B】



【図 17 C】



10

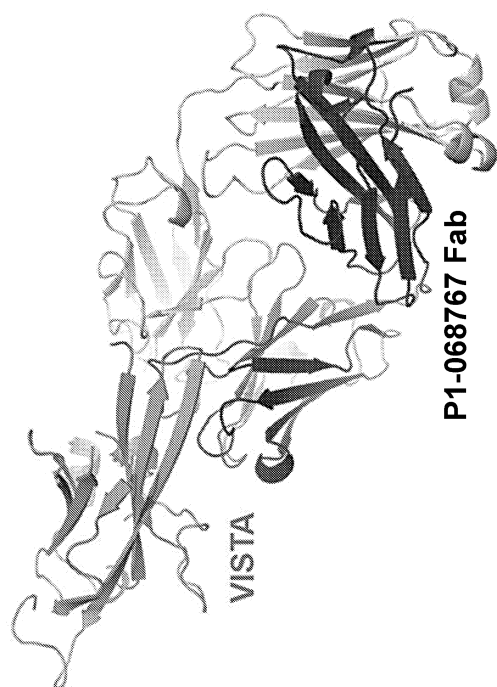
20

30

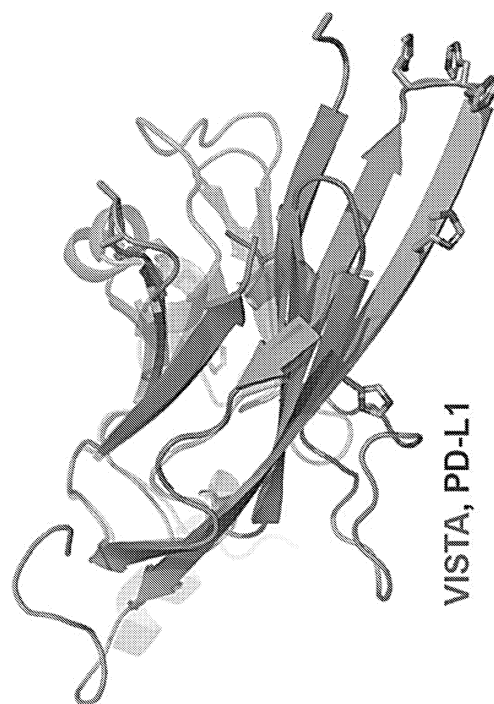
40

50

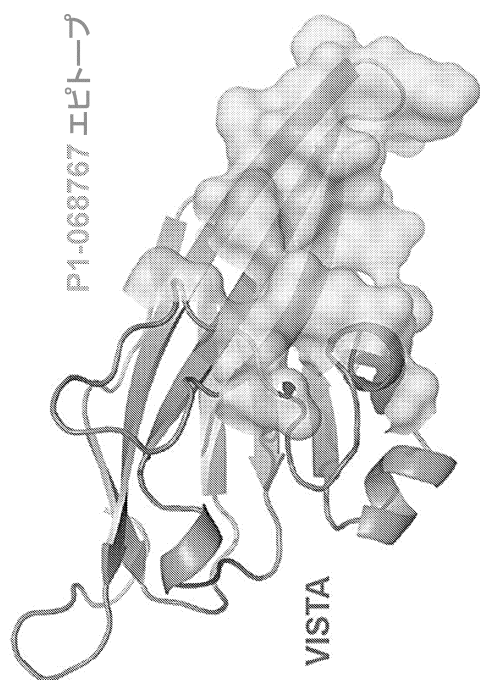
【図 18 A】



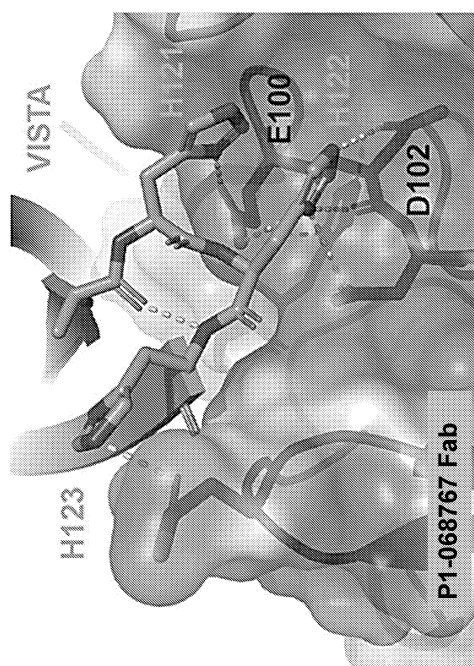
【図 18 B】



【図 18 C】



【図 18 D】



10

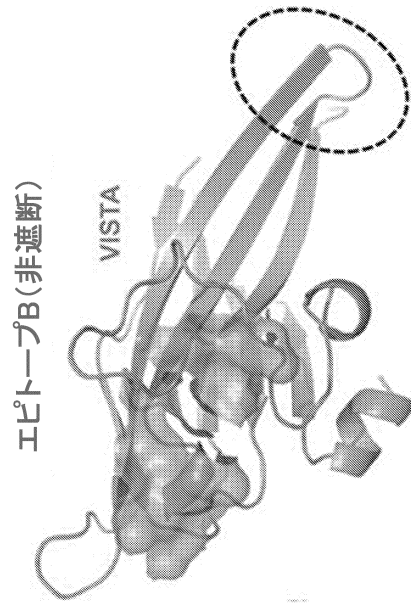
20

30

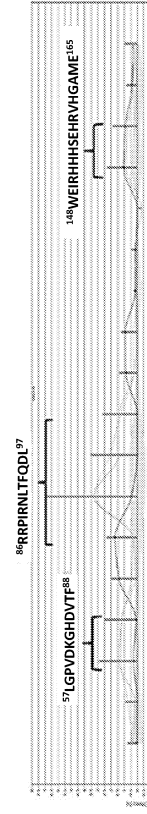
40

50

【図 18 E】



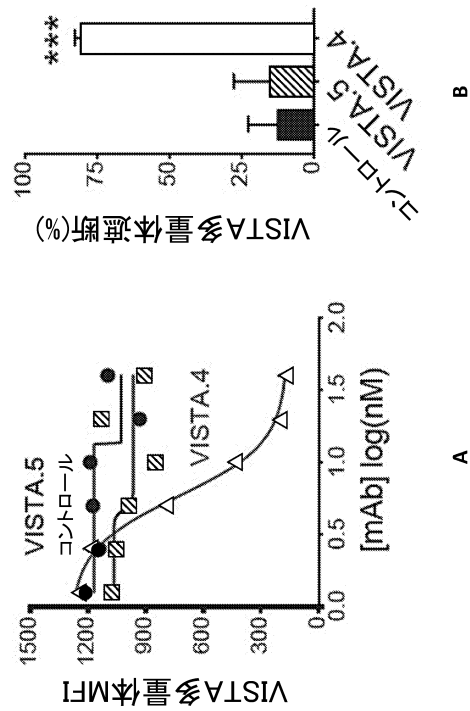
【図 19】



【図 20】

MGVPTALEAG SMRWGSLLEA LFLAASLGEV AAFKVATPYS LYVCEGQNV 10 20 30 40 50
TLTCRLLGPE DKGHVDVTFYK TWYRSSRGEV QTCSERRPIR NLTFODLHLH 60 70 80 90 100
HGGHQAANTS HDLAQRHGLE SASDHHGNFS ITMRNLTLID SGLYCCLVVE 110 120 130 140 150
TKHHHSEHRV HGAMELOVQT GKDAFNCVV YPSSSQDSN ITAAALATGA 160 170 180 190 200

【図 21 A - B】



10

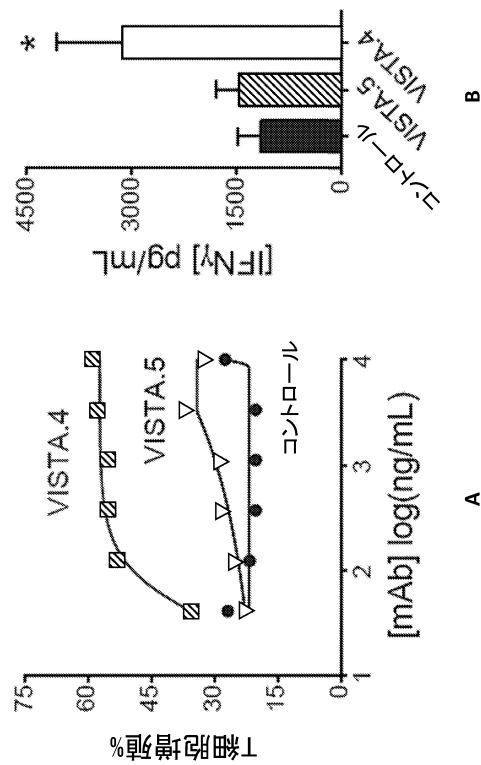
20

30

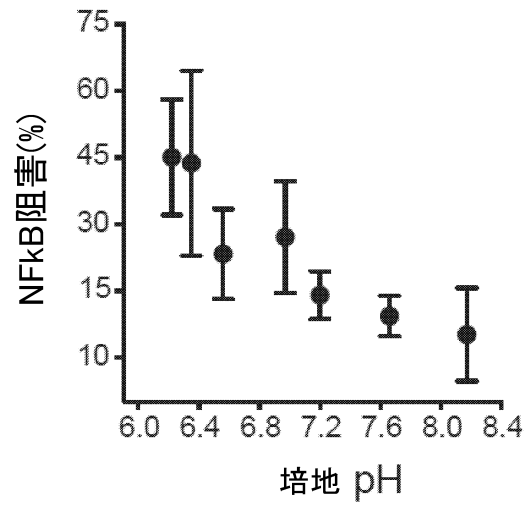
40

50

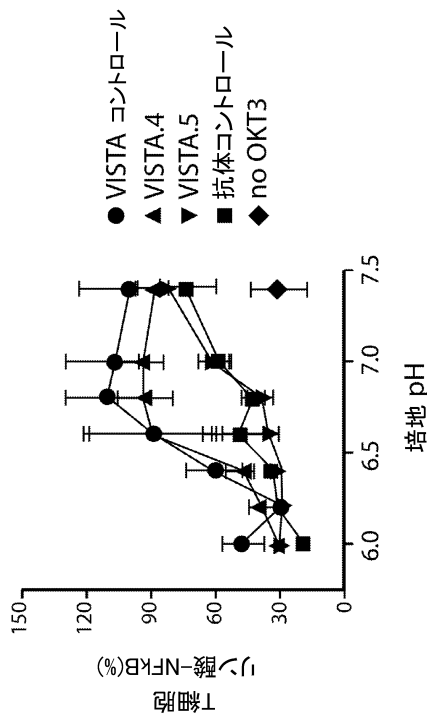
【図 2 2 A - B】



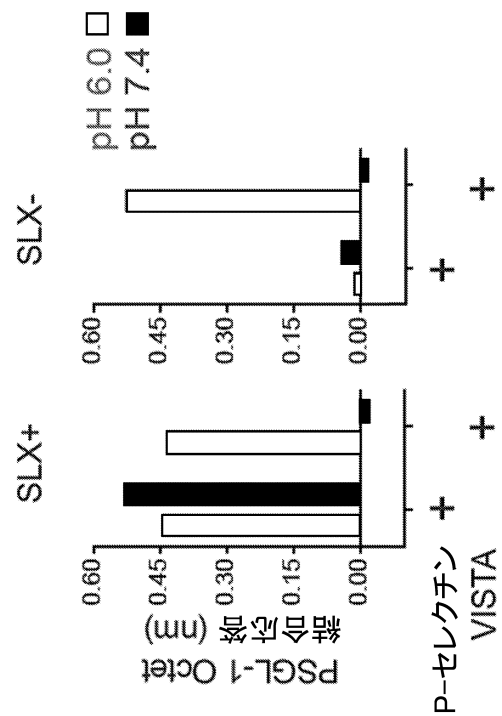
【図 2 3】



【図 2 4】



【図 2 5 A】



10

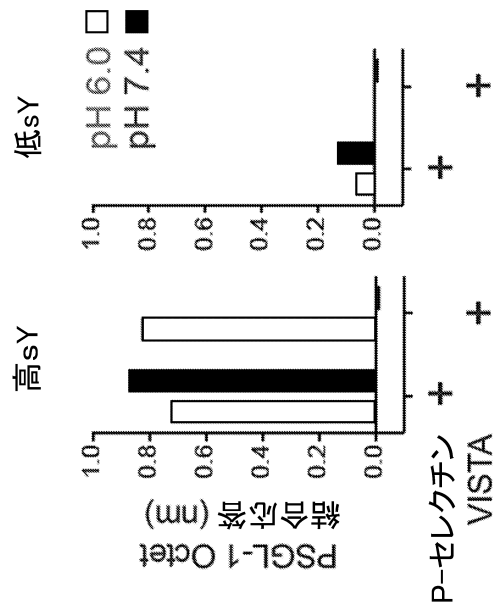
20

30

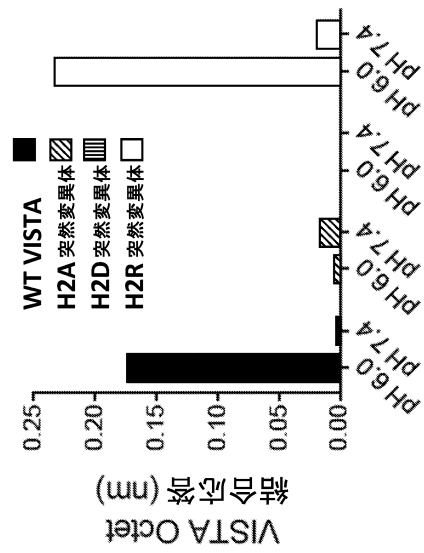
40

50

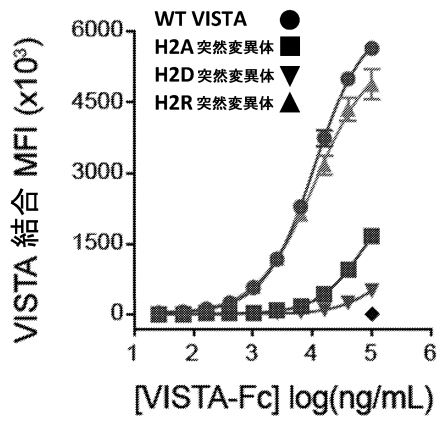
【図 2 5 B】



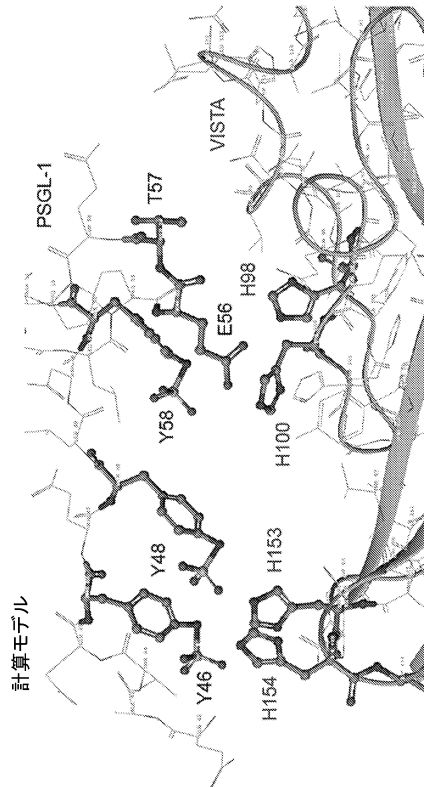
【図 2 5 C】



【図 2 5 D】



【図 2 5 E】



10

20

30

40

50

【配列表】
0007510879000001.app

10

20

30

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	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 Q	1/02 (2006.01)	C 1 2 Q	1/02	
A 6 1 P	31/12 (2006.01)	A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/04	
A 6 1 P	37/02 (2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	37/06 (2006.01)	A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	
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	N
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	35/17 (2015.01)	A 6 1 K	35/17	
A 6 1 K	35/15 (2015.01)	A 6 1 K	35/15	
A 6 1 K	31/7088 (2006.01)	A 6 1 K	31/7088	
G 0 1 N	33/53 (2006.01)	G 0 1 N	33/53	N
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	G 0 1 N	33/53	D
		C 1 2 N	15/13	

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/733,462

(32)優先日 平成30年9月19日(2018.9.19)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

前置審査

アメリカ合衆国 ニュージャージー 0 8 5 4 3, プリンストン, ピー.オー.ボックス 4 0 0 0, ルート 2 0 6 アンド プロビンス ライン ロード

(72)発明者 ラジパル, アルヴィンド

アメリカ合衆国 ニュージャージー 0 8 5 4 3, プリンストン, ピー.オー.ボックス 4 0 0 0, ルート 2 0 6 アンド プロビンス ライン ロード

(72)発明者 シェーパード, ポール オー.

アメリカ合衆国 ニュージャージー 0 8 5 4 3, プリンストン, ピー.オー.ボックス 4 0 0 0, ルート 2 0 6 アンド プロビンス ライン ロード

(72)発明者 ボルヘス, ルイス

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント ブールヴァード 1 1 1

(72)発明者 ランキン, アンドリュー

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント ブールヴァード 1 1 1

(72)発明者 バハジャト, キース サアダウン

アメリカ合衆国 ニュージャージー 0 8 5 4 3, プリンストン, ピー.オー.ボックス 4 0 0 0, ルート 2 0 6 アンド プロビンス ライン ロード

(72)発明者 コーマン, アラン ジェー.

アメリカ合衆国 ニュージャージー 0 8 5 4 3, プリンストン, ピー.オー.ボックス 4 0 0 0, ルート 2 0 6 アンド プロビンス ライン ロード

(72)発明者 トン, シアオティ

アメリカ合衆国 ニュージャージー 0 8 5 4 3, プリンストン, ピー.オー.ボックス 4 0 0 0, ルート 2 0 6 アンド プロビンス ライン ロード

(72)発明者 スー, リン ホイ

アメリカ合衆国 ニュージャージー 0 8 5 4 3, プリンストン, ピー.オー.ボックス 4 0 0 0, ルート 2 0 6 アンド プロビンス ライン ロード

- (72)発明者 レイクストロー, ジンジャー
アメリカ合衆国 ニュージャージー 08543, プリンストン, ピー.オー.ボックス 400
0, ルート 206 アンド プロビンス ライン ロード
- (72)発明者 ピンクニー, ジェーソン アール.
アメリカ合衆国 ニュージャージー 08543, プリンストン, ピー.オー.ボックス 400
0, ルート 206 アンド プロビンス ライン ロード
- (72)発明者 クリットン, デーヴィッド エー.
アメリカ合衆国 ニュージャージー 08543, プリンストン, ピー.オー.ボックス 400
0, ルート 206 アンド プロビンス ライン ロード
- (72)発明者 チェン, クオトン
アメリカ合衆国 ニュージャージー 08543, プリンストン, ピー.オー.ボックス 400
0, ルート 206 アンド プロビンス ライン ロード
- (72)発明者 ホアン, リチャード ワイ.
アメリカ合衆国 ニュージャージー 08543, プリンストン, ピー.オー.ボックス 400
0, ルート 206 アンド プロビンス ライン ロード
- (72)発明者 デヤノヴァ, エカテリーナ ジー.
アメリカ合衆国 ニュージャージー 08543, プリンストン, ピー.オー.ボックス 400
0, ルート 206 アンド プロビンス ライン ロード
- 審査官 松井 一泰
- (56)参考文献 国際公開第2014/190356 (WO, A1)
特表2020-509756 (JP, A)
Journal for ImmunoTherapy of Cancer, 2016, Vol.4, No.86, pp.1-7
- (58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)
C12N 15/13
C07K 16/18
C12P 21/08
C07K 16/46
C12N 1/15
C12N 1/19
C12N 1/21
C12N 5/10
C12Q 1/02
A61P 31/12
A61P 37/04
A61P 37/02
A61P 37/06
A61P 29/00
A61P 35/00
A61K 39/395
A61K 48/00
A61K 45/00
A61K 35/17
A61K 35/15
A61K 31/7088
G01N 33/53