(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2016-505633
(P2016-505633A)
(43)公表日　平成28年2月25日(2016.2.25)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 38/00	***(2006.01)***	A61K	37/02	4C076
A61K 9/08	***(2006.01)***	A61K	9/08	4C084
A61K 47/22	***(2006.01)***	A61K	47/22	4C085
A61K 47/02	***(2006.01)***	A61K	47/02	4C086
A61K 47/18	***(2006.01)***	A61K	47/18	4H045

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 109 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2015-554130 (P2015-554130)
(86)(22)出願日　平成26年1月22日 (2014.1.22)
(85)翻訳文提出日　平成27年9月10日 (2015.9.10)
(86)国際出願番号　PCT/EP2014/051160
(87)国際公開番号　WO2014/114651
(87)国際公開日　平成26年7月31日 (2014.7.31)
(31)優先権主張番号　61/756,135
(32)優先日　平成25年1月24日 (2013.1.24)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　513032275
グラクソスミスクライン、インテレクチュアル、プロパティー、ディベロップメント、リミテッド
ＧＬＡＸＯＳＭＩＴＨＫＬＩＮＥ　ＩＮＴＥＬＬＥＣＴＵＡＬ　ＰＲＯＰＥＲＴＹ　ＤＥＶＥＬＯＰＭＥＮＴ　ＬＩＭＩＴＥＤ
イギリス国ミドルセックス、ブレントフォード、グレート、ウエスト、ロード、９８Ｏ
(74)代理人　100091096
弁理士　平木　祐輔
(74)代理人　100118773
弁理士　藤田　節

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＴＮＦα抗原結合性タンパク質

(57)【要約】
本発明は、TNFαに特異的に結合する抗原結合性タンパク質およびヒスチジンバッファーを含む液体製剤を提供する。例えば、アダリムマブと比較してFcRn受容体に対する増大した結合性または増大した半減期を示す、アダリムマブなどの抗TNF抗体の新規変異体である。抗原結合性タンパク質を含む組成物ならびに障害および疾患の治療でのそのような組成物の使用もまた提供される。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
TNFα抗原結合性タンパク質およびヒスチジンバッファーを含む液体製剤。
【請求項２】
塩を含まない、請求項1に記載の製剤。
【請求項３】
前記バッファーが、界面活性剤；キレート剤；ポリオール；抗酸化剤およびアミノ酸のうちの1種類以上、組み合わせ、またはすべてをさらに含む、請求項1または2に記載の製剤。
【請求項４】
前記TNFα抗原結合性タンパク質が20～300mg/mLの濃度である、請求項1～3のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項５】
(a) 5～100mMヒスチジン；および/または
(b) 0～150mM塩化ナトリウム；および/または
(c) 0～100mMアルギニン遊離塩基；および/または
(d) 0～0.2mM EDTA；および/または
(e) 0～0.1％ポリソルベート80；および/または
(f) 0～300mMトレハロース；および/または
(g) 0～30mMメチオニン
を含み、
pH5.0～7.0に調整されている、
請求項1～4のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項６】
(a)ヒスチジンが約30mMの濃度であり；かつ/または
(b)トレハロースが150mM～225mMの濃度であり；かつ/または
(c)アルギニン遊離塩基が50mM～75mMの濃度であり；かつ/または
(d) EDTAが約0.05mMの濃度であり；かつ/または
(e)ポリソルベート80が約0.02％の濃度であり、かつ/または
(f)メチオニンが約10mMの濃度である、
請求項5に記載の製剤。
【請求項７】
約pH6.0に調整されたpHである、請求項1～6のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項８】
前記TNFα抗原結合性タンパク質が50mg/mLの濃度である、請求項1～7のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項９】
約1週間後に室温（約25℃）にて、少なくとも95％、または少なくとも96％、または少なくとも97％、または少なくとも98％、または少なくとも99％の単量体含有量を有する、請求項1～8のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項１０】
(a) 30mMの濃度のヒスチジン；
(b) 150mMの濃度のトレハロース；
(c) 50mMの濃度のアルギニン；
(d) 10mMの濃度のメチオニン；
(e) 0.05mMの濃度のEDTA；
(f) 0.02％の濃度のPS80
を含有し、
pHが約pH6.0に調整されている、
請求項1～9のいずれか1項に記載の製剤。

【請求項１１】
(a) 30mMの濃度のヒスチジン；
(b) 225mMの濃度のトレハロース；
(c) 75mMの濃度のアルギニン；
(d) 10mMの濃度のメチオニン；
(e) 0.05mMの濃度のEDTA；
(f) 0.02％の濃度のPS80
を含有し、
pHが約pH6.0に調整されている、
請求項1～9のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項１２】
前記TNFα抗原結合性タンパク質が、
(i) CDRH1（配列番号27）、CDRH2（配列番号28）、CDRH3（配列番号29）、CDRL1（配列番号30）、CDRL2（配列番号31）、およびCDRL3（配列番号32）；あるいはCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、またはCDRL3と比較した場合に、1、2、3もしくは4箇所のアミノ酸置換、挿入または欠失を含むそのCDR変異体；ならびに
(ii)ヒトIgG1定常ドメインに対して、1箇所以上のアミノ酸置換を含むヒトIgG1定常ドメインの新生児Fc受容体（FcRn）結合性部分
を含む、
請求項1～11のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項１３】
前記TNFα抗原結合性タンパク質が、
(i) CDRH1（配列番号27）、CDRH2（配列番号28）、CDRH3（配列番号29）、CDRL1（配列番号30）、CDRL2（配列番号31）、およびCDRL3（配列番号32）；ならびに
(ii)ヒトIgG1定常ドメインに対して、1箇所以上のアミノ酸置換を含むヒトIgG1定常ドメインの新生児Fc受容体（FcRn）結合性部分
を含む、
請求項12に記載の製剤。
【請求項１４】
前記抗原結合性タンパク質が、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含むIgGと比較した場合に、pH6での増大したFcRn結合親和性、および/または増大した半減期、を有する、請求項12または13に記載の製剤。
【請求項１５】
前記TNFα抗原結合性タンパク質を4週間毎に1回以下の頻度で投与して、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含む同じ用量のIgGの2週間毎に1回の投与により達成されるものと同等の平均定常状態トラフ濃度を達成することができる、請求項12～14のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項１６】
前記TNFα抗原結合性タンパク質が、チップ上に固定化された抗原結合性タンパク質を有するアレイシステムであるProteOn XPR36タンパク質相互作用アレイシステムにより25℃で評価した場合に、pH6にて、そのような改変を含まない同じCDRを有する抗TNF抗原結合性タンパク質よりも4倍高いFcRnに対する親和性を有する、請求項1～15のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項１７】
前記TNFα抗原結合性タンパク質が、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含むIgGの変異体であり、該抗原結合性タンパク質変異体がIgG定常ドメインの新生児Fc受容体（FcRn）結合性部分に1箇所以上の置換を含んで、該抗原結合性タンパク質変異体の半減期が該IgGと比較して増大しており、該変異体が4～8週間の間隔で40mgの単回用量で患者に投与される場合に、患者集団での平均定常状態トラフ抗体濃度が、投与間隔の間に、5μg/mL未満、好ましくは6μg/mL未満に低下しない、請求項1～11のいずれか1項に記

載の製剤。
【請求項１８】
前記TNFα抗原結合性タンパク質のヒトIgG1定常ドメインが、アミノ酸置換が導入される前に、配列番号13の配列を有する、請求項1～17のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項１９】
前記抗原結合性タンパク質を4週間毎に1回以下の頻度で患者に投与して、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含む同じ用量のIgGの2週間毎に1回の投与により達成されるものと同等の平均定常状態トラフ濃度を達成することができる、疾患の治療のための医薬としての使用のための、請求項1～18のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項２０】
4～8週間の間隔で、約35～約45mgの単回用量にて患者に投与される、疾患の治療のための、請求項1～19のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項２１】
4週間毎に1回以下の頻度で単回40mg用量として皮下的に患者に投与される、請求項1～20のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項２２】
患者での4週間毎に1回以下の頻度の前記製剤の投与が、患者集団での約4μg/mL～約7μg/mLの平均定常状態トラフ濃度を達成する、請求項1～21のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項２３】
前記平均定常状態トラフ濃度が、約5μg/mL～約6μg/mLである、請求項22に記載の製剤。
【請求項２４】
8週間毎に1回以下の頻度で単回40mg用量として皮下的に患者に投与される、請求項21～23のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項２５】
前記TNFα抗原結合性タンパク質の半減期が、ネイティブIgGと比較した場合に2倍、3倍、4倍または5倍増大している、請求項1～24のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項２６】
前記TNFα抗原結合性タンパク質のクリアランスが、約2mL/時～約4mL/時である、請求項1～25のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項２７】
前記TNFα抗原結合性タンパク質が、KabatのEUインデックスに従って番号付けされた250位、252位、254位、256位、257位、259位、308位、428位または434位のうちの1箇所以上で、ヒトIgG1定常ドメインに対するアミノ酸置換を含む、請求項1～26のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項２８】
前記TNFα抗原結合性タンパク質の1箇所以上のアミノ酸置換が、KabatのEUインデックスに従って番号付けされたアミノ酸残基252、254および256でのものであり、残基252での置換はtyr、phe、trpまたはthrによる置換であり；残基254での置換はthrによる置換であり；かつ残基256での置換はser、arg、glu、aspまたはthrによる置換である、請求項12～27のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項２９】
残基252での置換がtyrによるmetの置換であり；残基254での置換がthrによるserの置換であり；かつ残基256での置換がgluによるthrの置換である、請求項28に記載の製剤。
【請求項３０】
前記TNFα抗原結合性タンパク質が、配列番号7に示される定常ドメインを含む、請求項1～29のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項３１】
前記1箇所以上のアミノ酸置換が、KabatのEUインデックスに従って番号付けされたアミノ酸残基250および428でのものであり、残基250での置換がgluまたはglnによる置換であ

り；残基428での置換がleuまたはpheによる置換である、請求項12～27のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項３２】
残基250での置換がgluによるthrの置換であり；残基428での置換がleuによるmetの置換である、請求項31に記載の製剤。
【請求項３３】
前記TNFα結合性タンパク質が、配列番号16に示される定常ドメインを含む、請求項32に記載の製剤。
【請求項３４】
前記TNFα結合性タンパク質の1箇所以上のアミノ酸置換が、KabatのEUインデックスに従い番号付けされたアミノ酸残基428および434でのものであり、残基428でのaa置換がleuによるmetの置換であり、残基434でのaa置換がserによるasnの置換である、請求項12～27のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項３５】
前記TNFα結合性タンパク質が、配列番号10に示される定常ドメインを含む、請求項34に記載の製剤。
【請求項３６】
前記抗原結合性タンパク質が抗体である、請求項1～35のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項３７】
前記TNFα結合性タンパク質がメトトレキサートと共に投与されるものであり、好ましくは、該抗原結合性タンパク質が関節リウマチの治療のために投与される、請求項1～36のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項３８】
前記TNFα結合性タンパク質が、配列番号6および/もしくは配列番号3の可変ドメイン、あるいは1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10箇所のアミノ酸置換、挿入もしくは欠失を含むかまたは配列番号6もしくは配列番号3の長さにわたって少なくとも90％の同一性を共有するその変異体を含む、請求項1～37のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項３９】
前記TNFα結合性タンパク質が、配列番号2に示される軽鎖配列を任意により伴って、配列番号5、9または15に示される重鎖配列を含む、請求項1～38のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項４０】
前記TNFα結合性タンパク質が、配列番号78または80に示される可変重鎖ドメイン配列を含む、請求項1～37のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項４１】
前記TNFα結合性タンパク質が、配列番号145または配列番号146に示される重鎖配列を含む、請求項1～37のいずれか1項に記載の製剤。
【請求項４２】
請求項1～41のいずれか1項に記載の製剤を投与するステップを含む、疾患を有する患者を治療する方法。
【請求項４３】
4～8週間の間隔で、約35～約45mgの単回用量として皮下的に患者に請求項1～42のいずれか1項に記載の製剤を投与するステップを含む、疾患を有する患者を治療する方法。
【請求項４４】
前記疾患が、関節リウマチ、多関節性若年性特発性関節炎、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、クローン病または乾癬である、請求項42または43に記載の方法。
【請求項４５】
関節リウマチ、多関節性若年性特発性関節炎、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、クローン病または乾癬の治療のための医薬の製造での使用のための、請求項1～41のいずれか1項に記載の製剤の使用。

【請求項４６】
請求項1～41のいずれか1項に記載の製剤を含み、かつ前記TNFα結合性タンパク質とメトトレキサートとの同時送達のためのメトトレキサートを任意により含むキット。
【請求項４７】
TNFα抗原結合性タンパク質を含む液体製剤であって、前記TNFα抗原結合性タンパク質が、配列番号5に従う重鎖および配列番号2に従う軽鎖を含み、該製剤が、以下の成分：
(a) 30mMの濃度のヒスチジン；
(b) 150mMの濃度のトレハロース；
(c) 50mMの濃度のアルギニン；
(d) 10mMの濃度のメチオニン；
(e) 0.05mMの濃度のEDTA；
(f) 0.02％の濃度のPS80
を含有し、
pHが約pH6.0に調整されている、上記液体製剤。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、抗TNF抗体の新規変異体およびそのような抗原結合性タンパク質の製剤に関する。
【背景技術】
【０００２】
成体哺乳動物では、新生児Fc受容体としても知られるFcRnが、IgGアイソタイプの抗体に結合し、それらを分解から救出する保護的受容体として作用することにより、血清抗体レベルの維持で重要な役割を果たす。IgG分子は内皮細胞によりエンドサイトーシスされ、それらがFcRnに結合する場合には、血液循環へと排出されて再利用される。対照的に、FcRnに結合しないIgG分子は細胞に侵入し、リソソーム経路へと標的化されて、ここで分解される。
【０００３】
新生児FcRn受容体は、抗体クリアランスおよび組織にまたがるトランスサイトーシスの両方に関与すると考えられている（Junghans R.P (1997) Immunol.Res 16. 29-57およびGhetie et al (2000) Annu.Rev.Immunol. 18, 739-766を参照されたい）。
【０００４】
国際公開第9734631号には、増大した血清半減期およびFcヒンジ領域中の少なくとも1箇所のアミノ酸置換を有する突然変異型IgG分子を含む組成物が開示されている。CH2ドメイン中の252、254、256、309、311もしくは315番またはCH3ドメイン中の433もしくは434番から選択されるアミノ酸のうちの1箇所以上でのアミノ酸置換が開示されている。
【０００５】
国際公開第00/42072号には、改変されたFcRn結合親和性を有する変異型Fc領域を含むポリペプチドが開示され、該ポリペプチドは、Fc領域のアミノ酸位置238、252、253、254、255、256、265、272、286、288、303、305、307、309、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、386、388、400、413、415、424、433、434、435、436、439、および447のうちのいずれか1箇所以上でのアミノ酸改変を含む。
【０００６】
国際公開第02/060919号には、251、253、255、285～290、308～314、385～389、および428～435位のうちの1箇所以上でのアミノ酸改変を含むIgG定常ドメインを含む、改変型IgGが開示されている。
【０００７】
国際公開第2004035752号には、アミノ酸残基250、314、および428からなる群より選択される重鎖定常領域由来の少なくとも1個のアミノ酸残基が、未改変クラスIgG抗体に存在するものとは異なる、IgGクラスの改変型抗体が開示されている。

【０００８】
Shieldsら（2001, J Biol Chem ; 276:6591-604）は、ヒトIgG1抗体のFc領域中の残基を変化させるためにアラニン走査突然変異誘発を用い、続いて、ヒトFcRnに対する結合性を評価した。アラニンへと変化させられた場合にFcRnに対する結合性を効果的に無効にする位置は、I253、S254、H435、およびY436を含む。以下の通りの他の位置は、より目立たない結合性の低下を示した：E233～G236、R255、K288、L309、S415、およびH433。数箇所のアミノ酸位置が、アラニンへと変化させられた場合に、FcRn結合性の改善を示した。
【０００９】
Dall'Acquaら（2002, J Immunol.;169:5171-80）は、ランダム突然変異誘発およびマウスFcRnに対するヒトIgG1ヒンジ-Fc断片ファージディスプレイライブラリーのスクリーニングを記載している。著者らは、251、252、254～256、308、309、311、312、314、385～387、389、428、433、434、および436位のランダム突然変異誘発を開示している。
【００１０】
国際公開第2006130834号には、252、254、256、433、434および436位のうちの1箇所以上でのアミノ酸改変を含むIgG定常ドメインを含むIgGを含む、改変型IgGが開示されている。
【００１１】
したがって、IgG抗体のFcドメインの改変は、治療用抗体の血清半減期を増大させる手段として、議論されてきた。しかしながら、多数のそのような改変は、異なる抗体では様々な、時には矛盾する結果を伴って記載されている。
【００１２】
治療剤としての抗原結合性タンパク質の投与は、該タンパク質のクリアランスおよび半減期特性に関連する所定の頻度での注入を要する。
【００１３】
アダリムマブは、関節リウマチ、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、およびクローン病の治療のために用いられる、TNFαに対するモノクローナル抗体である。これは、哺乳動物細胞発現系を用いて、組み換えDNA技術により製造される。アダリムマブは330個のアミノ酸からなり、約148キロダルトンの分子量を有する。米国特許第6090382号を参照されたい。0.5mg/kg（約40mg）の用量では、アダリムマブのクリアランスは11～15mL/時の範囲であると言われており、分布容積（V_{ss}）は5～6リットルの範囲であり、平均終末相半減期は約2週間であった（www.medicines.org.ukから入手可能なSummary of Product Characteristics）。これらの半減期およびクリアランス特性は、現在のところ、アダリムマブは2週間毎に1回投与する必要があることを意味する。疾患によっては一部の患者では、例えば乾癬患者などでは、負荷用量を投与することが必要である場合がある。この投与量は、維持用量とは異なる場合がある。
【００１４】
アダリムマブは製剤化が困難であり、クエン酸系バッファーの使用を必要とした。本発明者らは、ここで、本発明の抗体が、非クエン酸系バッファーへとより容易に製剤化することができること、つまり、注入部位反応の副作用プロフィールおよび注入時の痛みを低減することができることを見出した。
【先行技術文献】
【特許文献】
【００１５】
【特許文献１】国際公開第9734631号
【特許文献２】国際公開第00/42072号
【特許文献３】国際公開第02/060919号
【特許文献４】国際公開第2004035752号
【特許文献５】国際公開第2006130834号
【特許文献６】米国特許第6090382号
【非特許文献】

【００１６】
【非特許文献１】Junghans R.P (1997) Immunol.Res 16. 29-57
【非特許文献２】Ghetie et al (2000) Annu.Rev.Immunol. 18, 739-766
【非特許文献３】Shields et al (2001) J Biol Chem ; 276:6591-604
【非特許文献４】Dall'Acqua et al (2002) J Immunol.;169:5171-80
【発明の概要】
【００１７】
一態様では、本発明は、TNFα抗原結合性タンパク質およびヒスチジンバッファーを含む液体製剤に関する。さらなる態様では、製剤は、塩を含まず、またさらに、バッファーは、以下の成分のうちの1種以上、組み合わせ、またはすべてを含み得る：界面活性剤；キレート剤；ポリオール；抗酸化剤およびアミノ酸。
【００１８】
一態様では、本発明は、以下の構成要素を含む、TNFαに特異的に結合する抗原結合性タンパク質に関する：CDRH1（配列番号27）、CDRH2（配列番号28）、CDRH3（配列番号29）、CDRL1（配列番号30）、CDRL2（配列番号31）、およびCDRL3（配列番号32）またはそれらの変異体であって、該変異体は、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、またはCDRL3と比較した場合に、1、2、3もしくは4箇所のアミノ酸置換、挿入または欠失を含むことができる、変異体；およびヒトIgG1定常ドメインと比較して、1箇所以上のアミノ酸置換を含む、ヒトIgG1定常ドメインの新生児Fc受容体（FcRn）結合性部分。
【００１９】
さらなる態様では、抗原結合性タンパク質は、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含むIgGと比較した場合に、pH6での増大したFcRn結合親和性および/または増大した半減期を有する。
【００２０】
本明細書全体を通して、「ヒトIgG1定常ドメイン」との用語は、当業者に公知のすべてのアロタイプおよびその変異体を包含する。
【００２１】
一態様では、本発明は、以下の構成要素を含む、TNFαに特異的に結合する抗原結合性タンパク質に関し：CDRH1（配列番号27）、CDRH2（配列番号28）、CDRH3（配列番号29）、CDRL1（配列番号30）、CDRL2（配列番号31）、およびCDRL3（配列番号32）；またはそれらの変異体であって、該変異体は、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、またはCDRL3と比較した場合に、1、2、3もしくは4箇所のアミノ酸置換、挿入または欠失を含むことができる、変異体；およびヒトIgG1定常ドメインと比較して、1箇所以上のアミノ酸置換を含む、ヒトIgG1定常ドメインの新生児Fc受容体（FcRn）結合性部分；該抗原結合性タンパク質は、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含むIgGと比較した場合に増大した半減期を有し、該抗原結合性タンパク質は、4週間毎に1回以下の頻度で投与して、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含む同じ用量のIgGの2週間毎に1回の投与により達成されるものと同等の平均定常状態トラフ濃度を達成することができる。
【００２２】
一態様では、本発明は、以下の構成要素を含む、TNFαに特異的に結合する抗原結合性タンパク質に関し：CDRH1（配列番号27）、CDRH2（配列番号28）、CDRH3（配列番号29）、CDRL1（配列番号30）、CDRL2（配列番号31）、およびCDRL3（配列番号32）またはそれらの変異体であって、該変異体は、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、またはCDRL3と比較した場合に、1、2、3もしくは4箇所のアミノ酸置換、挿入または欠失を含むことができる、変異体；およびヒトIgG1定常ドメインと比較して、1箇所以上のアミノ酸置換を含む、ヒトIgG1定常ドメインのFcRn結合性部分；該抗原結合性タンパク質は、25℃で、チップ上に固定化された抗原結合性タンパク質を有するアレイシステムであるProteOn XPR36タンパク質相互作用アレイシステムにより評価した場合に、pH6にて、そのような改変を含まない同じCDRを有する抗TNF抗原結合性タンパク質よりも、2倍、または3倍、または4倍、または5倍、または6倍、または8倍、またはそれ以上のFcRnに対する親和性を有する

。
【００２３】
一態様では、本発明は、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含むIgGの変異体である抗原結合性タンパク質に関し、該抗原結合性タンパク質変異体は、IgG定常ドメインの新生児Fc受容体（FcRn）結合性部分に1箇所以上の置換を含み、そのような置換を含まないIgGと比較して抗原結合性タンパク質変異体の半減期を増大させるものであり、該変異体が4～8週間の間隔で40mgの単回用量で患者に投与される場合に、患者集団での平均定常状態トラフ濃度が、投与間隔中に4μg/mL未満に低下しないか、または5μg/mL未満に低下しない。好ましくは、患者集団での平均血清トラフ抗体濃度は、投与間隔の間に6μg/mL未満に低下しない。好ましくは、患者集団での平均血清トラフ抗体濃度は、該変異体が8週間の間隔で40mgの単回用量で患者に投与される場合に、投与間隔の間に5μg/mL未満に低下しない。好ましくは、患者集団での平均血清トラフ抗体濃度は、該変異体が8週間の間隔で40mgの単回用量で患者に投与される場合に、最適な有効性を提供しながら、投与間隔の間に4μg/mL未満に低下しない。好ましくは、患者集団での平均血清トラフ抗体濃度は、該変異体が8週間の間隔で40mgの単回用量で患者に投与される場合に、最適な有効性を提供しながら、投与間隔の間に3μg/mL未満に低下しない。
【００２４】
一態様では、本発明は、疾患の治療のための本明細書中に開示される通りの抗原結合性タンパク質に関し、該抗原結合性タンパク質は、4週間毎に1回以下の頻度で患者に投与して、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含む同じ用量のIgGの2週間毎に1回の投与により達成されるものと同等の平均定常状態トラフ濃度を達成することができる。
【００２５】
一態様では、本発明は、本発明に従う抗原結合性タンパク質を投与するステップを含む、疾患を有する患者を治療するための方法に関する。
【００２６】
一態様では、本発明は、本発明に従う抗原結合性タンパク質、または重鎖もしくは軽鎖などのその一部分をコードする核酸配列に関する。一態様では、本発明は、本発明に従う抗原結合性タンパク質、または重鎖もしくは軽鎖などのその一部分をコードする発現ベクターに関する。
【００２７】
一態様では、本発明は、本発明に従う抗原結合性タンパク質をコードする核酸配列を含む宿主細胞に関する。一態様では、本発明は、乾癬または関節リウマチの治療での使用のための、本発明に従う抗原結合性タンパク質に関する。
【００２８】
一態様では、本発明は、本発明に従う抗原結合性タンパク質を含み、任意により、本発明に従う抗原結合性タンパク質とメトトレキサートとの同時送達のためのメトトレキサートを含むキットに関する。
【００２９】
一態様では、本発明は、メトトレキサートを用いて既に治療されている個体での関節リウマチの治療のための、本明細書中に開示される通りの抗原結合性タンパク質、および関節リウマチの治療のためのメトトレキサートとの組み合わせでの抗原結合性タンパク質に関し、該組み合わせは、同時に、実質的に同時に、または連続して送達される。
【００３０】
一態様では、本発明は、メトトレキサートを用いて既に治療されている個体での乾癬の治療のための、本明細書中に開示される通りの抗原結合性タンパク質、および乾癬の治療のためのメトトレキサートとの組み合わせでの抗原結合性タンパク質に関し、該組み合わせは、同時に、実質的に同時に、または連続して送達される。
【図面の簡単な説明】
【００３１】

【図１】ヒトTNFαへの抗TNFα抗体の結合性を示す図である。
【図２】加速ストレス因子試験後のヒトTNFαへの抗TNFα抗体の結合活性の分析を示す図である。
【図３】25％ヒト血清中での2週間のインキュベーション後のヒトTNFαへの抗TNFα抗体の結合性を示す図である。
【図４】凍結融解後のヒトTNFαへの抗TNFα抗体の結合性を示す図である。
【図５】FcγRIIIa受容体に対する抗TNFα抗体の分析を示す図である：(a)ヒトFcγRIIIa（バリン158変異体）への結合性、(b) ヒトFcγRIIIA（フェニルアラニン158変異体）への結合性。
【図６】単回静脈内投与（1時間点滴）後のメスカニクイザルでのBPC2604およびオスカニクイザルでのパスコリズマブ（pascolizumab）の平均用量標準化血漿濃度を示す図である。
【図７】主要ピーク安定性試験を示す図である。
【図８】Tm不安定化を示す図である。
【図９】Tm安定性試験を示す図である。
【図１０】(A)物理的安定性[cIEF]：熱安定性との非線形相関を示す図である。(B)化学的安定性[SEC]を示す図である。(C)熱力学/コンホメーション安定性[DSC]を示す図である。
【図１１】NaClを用いた安定性ランドスケープ（Stability landscape）を示す図である。
【発明を実施するための形態】
【００３２】
一態様では、本発明は、TNFα抗原結合性タンパク質およびヒスチジンバッファーを含む液体製剤に関する。
【００３３】
本発明の一態様では、液体製剤は、本明細書中に記載される通りのTNFα抗原結合性タンパク質を含む。
【００３４】
さらなる態様では、本発明は、TNFαに特異的に結合する新規抗原結合性タンパク質に関する。特に、本発明は、アダリムマブと比較した場合に、FcRn受容体への増大した結合性および/または増大した半減期を示す、アダリムマブなどの抗TNF抗体の新規変異体に関する。アダリムマブは、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含むIgGモノクローナル抗体である。
【００３５】
本発明者らは、本明細書中に記載される通りのアダリムマブへの特定の改変が、下記の実施例で示されるFcRn結合性の特別な改善を示すことを見出した。アダリムマブの親和性成熟型変異体はまた、抗TNFα結合性および/または中和活性の改善も示す。
【００３６】
本発明の新規抗原結合性タンパク質は、FcRn受容体への増大した結合性および/または増大した半減期および/または増大した平均滞留時間および/または減少したクリアランスを有する。FcRnへの結合は、in vivoでのより長い血清滞留をもたらすと考えられる。in vivoでのFcタンパク質の滞留を増加させるために、結合親和性の増大がpH6付近で観察される。したがって、一態様では、本発明は、FcRnへの最適な結合性を有する抗原結合性タンパク質を提供する。
【００３７】
一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質の半減期は、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含むIgGと比較した場合に、2～6倍（2倍、3倍、4倍、5倍または6倍など）、増大する。好ましくは、本発明の抗原結合性タンパク質の半減期は、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含むIgGと比較して、3倍、4倍、またはそれ以上増大する。例えば、IgGが、10日間または10～20日間の範囲の半減期を有するアダリムマブである場合、一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、約40～80日

間の半減期を示す。例えば、配列番号5または配列番号9または配列番号15または配列番号18または配列番号21または配列番号24または配列番号163、または配列番号165、または配列番号167、または配列番号169から選択される重鎖配列を含む抗原結合性タンパク質である。

【００３８】

一実施形態では、患者に4週間毎に1回以下の頻度で投与される本発明の抗原結合性タンパク質は、約2μg/mL～約7μg/mLの平均定常状態トラフ濃度を達成する。好ましくは、平均定常状態トラフ濃度は、約4μg/mL～約7μg/mLであり、より好ましくは、約5μg/mL～約6μg/mLである。

【００３９】

一実施形態では、患者に28日間毎に1回以下の頻度で投与される本発明の抗原結合性タンパク質は、約2μg/mL～約7μg/mLの平均定常状態トラフ濃度を達成する。好ましくは、平均定常状態トラフ濃度は、約4μg/mL～約7μg/mLであり、より好ましくは、約5μg/mL～約6μg/mLである。

【００４０】

本発明の一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、4、5、6、7または8週間毎に1回投与して、同じ用量で2週間毎に1回投与される場合のアダリムマブにより達成されるものと同等の平均定常状態トラフ濃度を達成することができる。

【００４１】

本発明のすべての態様の好ましい実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、7または8週間毎に1回投与することができる。

【００４２】

本発明の一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、25～80日間毎に1回、例えば40～60日間毎に1回、または例えば28、35、42、49もしくは56日間毎に1回投与して、同じ用量で14日間毎に1回投与される場合のアダリムマブにより達成されるものと同等の平均定常状態トラフ濃度を達成することができる。

【００４３】

本発明の一実施形態では、抗原結合性タンパク質は、49～60日間、例えば56日間毎に1回投与することができる。

【００４４】

本発明のすべての態様の一実施形態では、抗原結合性タンパク質は、抗体がチップ上に固定化されている、25℃でのProteOn XPR36タンパク質相互作用アレイシステムにより評価される場合に、pH6にてヒトFcRnに対して2倍、または4倍、または6倍、または8倍またはそれ以上の親和性を有する。好ましくは、抗原結合性タンパク質は、約100～約500KD（nM）（約130～約360KD（nM）または約140～約250KD（nM）または約140～約210KD（nM）など）のヒトFcRnに対する親和性を有する。

【００４５】

一実施形態では、抗原結合性タンパク質のクリアランスは、約2～約10mL/hr、好ましくは約2～約5mL/hrまたは2～4mL/hrまたは2～3mL/hr（約2、約2.5、3、4または5mL/hr）などである。一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、アダリムマブよりも2倍、3倍、4倍もしくは5倍低いクリアランス率を示す。一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質についてのクリアランスは、上記で特定された範囲、または約40mgのヒト用量でのアダリムマブよりも2倍、3倍、4倍もしくは5倍低い。

【００４６】

一態様では、本発明の抗原結合性タンパク質は、アダリムマブ（配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含むIgG）の変異体であり、該変異体は、アダリムマブと比較して該変異体の半減期を増大させるために、IgG定常ドメインのFcRn結合性部分に1箇所以上の置換を含み、該変異体が4～8週間の間隔で、好ましくは8週間の間隔で40mgの単回用量にて患者に投与される場合に、患者集団での平均定常状態トラフ抗体濃度は、5μg/mL未満に低下しない。一実施形態では、患者集団での平均定常状態トラフ抗体濃度は、

投与間隔の間に6μg/mL未満に低下しない。

【００４７】

さらなる実施形態では、抗原結合性タンパク質は、該抗原結合性タンパク質のFc領域に少なくとも1箇所のアミノ酸改変を含み、該改変は、アダリムマブ配列中の同じ位置と比較した場合に、Fc領域の250位、252位、254位、256位、257位、259位、308位、428位または434位のうちの1箇所以上でのものであり、Fc領域中のアミノ酸の番号付けは、KabatのEUインデックスのものである。

【００４８】

野生型ヒトIgG1は、308～314位にアミノ酸残基Val-Leu-His-Gln-Asp-Trp-Leu、251～256位にアミノ酸残基Leu-Met-Ile-Ser-Arg-Thr、428～436位にアミノ酸残基Met-His-Glu-Ala-Leu-His-Asn-His-Tyr、385～389位にアミノ酸残基Gly-Gln-Pro-Glu-Asnを有する。残基の番号付けは、IgG2～4については異なる場合がある。

【００４９】

一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、配列番号13の配列を含むヒトIgG1定常ドメインに対して1箇所以上のアミノ酸置換を含む。

【００５０】

一実施形態では、ヒトIgG1重鎖定常ドメインのFcRn結合性部分での1箇所以上のアミノ酸置換は、KabatのEUインデックスに従い番号付けされたアミノ酸残基252、254および256でのものであり、残基252でのaa置換はtyr、phe、trypまたはthrによるmetの置換であり；残基254でのaa置換はthrによるserの置換であり；残基256でのaa置換はser、arg、glu、aspまたはthrによるthrの置換である。好ましくは、残基252でのaa置換はtyrによる置換であり；残基254でのaa置換はthrによる置換であり、残基256での置換はgluによる置換である。好ましくは、IgG1定常ドメインは、配列番号7に示されている通りである。

【００５１】

一実施形態では、ヒトIgG1定常ドメインのFcRn結合性部分での1箇所以上のアミノ酸置換は、KabatのEUインデックスに従い番号付けされたアミノ酸残基250および428でのものであり、残基250でのaa置換はgluまたはglnによるthrの置換であり；残基428でのaa置換はleuまたはpheによるmetの置換である。好ましくは、残基250でのaa置換はgluによる置換であり、残基428でのaa置換はleuによる置換である。好ましくは、IgG1定常ドメインは、配列番号16に示されている通りである。

【００５２】

一実施形態では、ヒトIgG1定常ドメインのFcRn結合性部分での1箇所以上のアミノ酸置換は、KabatのEUインデックスに従い番号付けされたアミノ酸残基428および/または434でのものである。好ましくは、残基428でのaa置換はleuによるmetの置換であり、残基434でのaa置換はserによるasnの置換である。好ましくは、IgG1定常ドメインは、配列番号10に示されている通りである。

【００５３】

一実施形態では、ヒトIgG1定常ドメインのFcRn結合性部分での1箇所以上のアミノ酸置換は、KabatのEUインデックスに従い番号付けされたアミノ酸残基259または308でのものである。好ましくは、残基259での置換はileによるvalの置換であり、残基308でのaa置換はpheによるvalの置換である。好ましくは、IgG1定常ドメインは、配列番号19または配列番号22に示されている通りである。

【００５４】

一実施形態では、ヒトIgG1重鎖定常ドメインのFcRn結合性部分での1箇所以上のアミノ酸置換は、KabatのEUインデックスに従い番号付けされたアミノ酸残基257および434でのものであり、配列番号25に示された通りである。

【００５５】

一実施形態では、ヒトIgG1重鎖定常ドメインのFcRn結合性部分での1箇所以上のアミノ酸置換は、KabatのEUインデックスに従い番号付けされたアミノ酸残基433および434でのものであり、例えば、残基はH433KおよびN434Fである。好ましくは、IgG1定常ドメインは

、配列番号165または配列番号167に示されている通りである。
【００５６】
一実施形態では、抗原結合性タンパク質は、表Aに列記されたIgG1定常ドメイン改変のうちのいずれかを含む。
【００５７】
一実施形態では、抗原結合性タンパク質は抗体である。
【００５８】
一実施形態では、抗原結合性タンパク質は、配列番号6および/もしくは配列番号3の可変ドメイン、あるいは1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10箇所のアミノ酸置換、挿入または欠失を含み、かつ/または配列番号6もしくは配列番号3の長さにわたって少なくとも90％の同一性を共有するその変異体を含む。
【００５９】
一実施形態では、抗原結合性タンパク質は、配列番号2に示される軽鎖配列を任意により伴って、配列番号5、9または15に示される重鎖配列を含む。
【００６０】
一実施形態では、抗原結合性タンパク質は、配列番号78または80に示される可変重鎖ドメイン配列を含む。
【００６１】
一実施形態では、抗原結合性タンパク質は、配列番号148、150または152に示される軽鎖変異体を任意により伴って、配列番号145または配列番号146に示される重鎖配列を含む。
【００６２】
一実施形態では、抗原結合性タンパク質は、配列番号2に示される軽鎖配列を任意により伴って、配列番号18または21に示される重鎖配列を含む。
【００６３】
一実施形態では、本発明に従う抗原結合性タンパク質は、表Aに特定される可変ドメインのうちのいずれかを含む。一実施形態では、本発明に従う抗原結合性タンパク質は、表Aに示されるcb1-3-VH、cb2-44-VH、cb1-39-VH、cb1-31-VH、cb2-11-VH、cb2-40-VH、cb2-35-VH、cb2-28-VH、cb2-38-VH、cb2-20-VH、cb1-8-VLまたはcb1-43-VLの配列を有する可変重鎖ドメインを含む。
【００６４】
一実施形態では、本発明に従う抗原結合性タンパク質は、表Aに示されるcb1-45-VL、cb1-4-VL、cb1-41-VL、cb1-37-VL、cb1-39-VL、cb1-33-VL、cb1-35-VL、cb1-31-VL、cb1-29-VL、cb1-22-VL、cb1-23-VL、cb1-12-VL、cb1-10-VL、cb2-1-VL、cb2-11-VL、cb2-40-VL、cb2-35-VL、cb2-28-VL、cb2-20-VL、cb1-3-VL、cb2-6-VLまたはcb2-44-VLの配列を有する可変軽鎖ドメインを含む。
【００６５】
例えば、本発明に従う抗原結合性タンパク質は、表Aに示されるcb1-3VH、cb2-44VHまたはcb2-6VLの配列を有する可変ドメインを含む。
【００６６】
一実施形態では、本発明に従う抗原結合性タンパク質は、表Aに特定される可変ドメインのうちのいずれかを含む。一実施形態では、本発明に従う抗原結合性タンパク質は、配列番号170または配列番号174または配列番号178から選択される配列を有する可変重鎖ドメインを含む。
【００６７】
一実施形態では、本発明に従う抗原結合性タンパク質は、配列番号171または配列番号175または配列番号179から選択される配列を有する可変軽鎖ドメインを含む。
【００６８】
さらなる実施形態では、抗原結合性タンパク質は、表Aに列記されたIgG1定常ドメイン改変のうちのいずれかを含む。

【００６９】
1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10箇所のアミノ酸置換、挿入または欠失を含み、かつ/またはそれらの配列の長さにわたって少なくとも90％の同一性を共有する、上記で言及されたすべての可変ドメインまたは重鎖配列または軽鎖配列の変異体もまた、本発明の範囲内に入る。
【００７０】
一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、CDRH3（配列番号29）の変異体を含み、該変異体は、配列番号29と比較して1、2、3または4箇所のアミノ酸置換を有する。一実施形態では、変異体CDRH3は、配列番号40～49のいずれか1つに示される配列を有することができる。
【００７１】
一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、CDRH1（配列番号27）の変異体を含み、該変異体は、配列番号27と比較して1または2箇所のアミノ酸置換を有する。一実施形態では、変異体CDRH1は、配列番号33～38のいずれか1つに示される配列を有することができる。
【００７２】
一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、CDRL1（配列番号30）の変異体を含み、該変異体は、配列番号30と比較して1、2または3箇所のアミノ酸置換を有する。一実施形態では、変異体CDRL1は、配列番号50～61のいずれか1つに示される配列を有することができる。
【００７３】
一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、CDRL2（配列番号31）の変異体を含み、該変異体は、配列番号31と比較して1、2または3箇所のアミノ酸置換を有する。一実施形態では、変異体CDRL2は、配列番号62～72のいずれか1つに示される配列を有することができる。
【００７４】
一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、CDRL3（配列番号32）の変異体を含み、該変異体は、配列番号32と比較して1、2または3箇所のアミノ酸置換を有する。一実施形態では、変異体CDRL3は、配列番号73～76のいずれか1つに示される配列を有することができる。
【００７５】
一実施形態では、本発明は、以下のCDRから選択される1つ以上またはすべてのCDRを含むTNFαに特異的に結合する抗原結合性タンパク質に関し：CDRH1（配列番号27）、CDRH2（配列番号28）、CDRH3（配列番号29）、CDRL1（配列番号30）、CDRL2（配列番号31）、およびCDRL3（配列番号32）；CDRのうちのいずれかは、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、またはCDRL3と比較した場合に、1、2、3もしくは4箇所のアミノ酸置換、挿入または欠失を含む変異体CDRであり得る。一態様では、本発明の抗原結合性タンパク質は、CDRH1、CDRH3、CDRL1、CDRL2およびCDRL3を含み、CDRのうちのいずれかは、CDRH1、CDRH3、CDRL1、CDRL2、またはCDRL3と比較して1、2、3もしくは4箇所のアミノ酸置換、挿入または欠失を含む変異体CDRであり得る。一態様では、本発明の抗原結合性タンパク質は、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2およびCDRL3を含み、CDRのうちのいずれかは、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、またはCDRL3と比較して1、2、3もしくは4箇所のアミノ酸置換、挿入または欠失を含む変異体CDRであり得る。
【００７６】
一態様では、本発明は、本発明に従う抗原結合性タンパク質を投与するステップを含む、疾患を有するヒト患者を治療するための方法に関する。
【００７７】
本発明はまた、ヒトでの疾患の治療のための、本明細書中で開示される抗原結合性タンパク質にも関する。
【００７８】

本発明はまた、疾患の治療のための医薬の製造での本明細書中に開示される抗原結合性タンパク質の使用、および疾患の治療での使用のための本明細書中に開示される抗原結合性タンパク質にも関する。

【００７９】

一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質により治療される対象である疾患は、関節リウマチ、多関節性若年性特発性関節炎、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、潰瘍性大腸炎、脊椎関節症、クローン病または乾癬である。

【００８０】

一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、メトトレキサートと共に投与されるものである。メトトレキサートは、抗原結合性タンパク質の前、後もしくはそれと同時に、または実質的に同時に、送達することができる。好ましい実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、関節リウマチに罹患している患者に、メトトレキサートと共に投与されるものである。一実施形態では、メトトレキサートは、抗原結合性タンパク質の免疫原性作用を低減するために、本発明の抗原結合性タンパク質を投与されている患者に投与される。一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質は、既にメトトレキサートを投与されている患者に投与される。メトトレキサートは、抗原結合性タンパク質に対する免疫応答を低減した別の許容される化合物（例えば、コルチコステロイド）により置き換えることができる。

【００８１】

一態様では、本発明は、本発明の抗原結合性タンパク質を投与するステップを含む、疾患を有する患者を治療する方法に関する。一実施形態では、本方法は、4週間毎に1回以下、好ましくは5、6、7、または8週間毎に1回以下、最も好ましくは8週間毎に1回以下の頻度で、単回20、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75または80mg用量として患者に抗原結合性タンパク質を投与するステップを含む。好ましくは、用量は、40～80mg、例えば40mgである。

【００８２】

本発明はまた、本明細書中に記載される抗原結合性構築物のいずれかの重鎖を含む本明細書中に開示されるいずれかのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド配列、および本明細書中に記載される抗原結合性構築物のいずれかの軽鎖をコードするポリヌクレオチドも提供する。そのようなポリヌクレオチドは、等価なポリペプチド配列に対応するコード配列を表わすが、しかしながら、そのようなポリヌクレオチド配列が、開始コドン、適切なシグナル配列および終止コドンと共に発現ベクターへとクローニングすることができることが理解されるであろう。ポリヌクレオチドは、DNAまたはRNAであり得る。

【００８３】

本発明はまた、本明細書中に記載される抗原結合性構築物のいずれかの重鎖および/または軽鎖をコードする1つ以上のポリヌクレオチドを含む、宿主細胞、例えば、組み換え細胞、形質転換された細胞またはトランスフェクションされた細胞も提供する。

【００８４】

本発明はさらに、本明細書中に記載される抗原結合性構築物および製薬上許容される担体を含む医薬組成物を提供する。

【００８５】

本発明はさらに、本明細書中に記載される抗原結合性構築物のうちのいずれかの生成のための方法を提供し、該方法は、血清不含/化学的組成既知/動物由来成分不含培養培地中で、第1および第2のベクターを含む宿主細胞を培養するステップを含み、該第1のベクターは本明細書中に記載される抗原結合性構築物のうちのいずれかの重鎖をコードするポリヌクレオチドを含み、該第2のベクターは本明細書中に記載される抗原結合性構築物のうちのいずれかの軽鎖をコードするポリヌクレオチドを含む。あるいは、方法は、好適には血清不含/化学的組成既知/動物由来成分不含培養培地中で、本明細書中に記載される抗原結合性構築物のうちのいずれかの重鎖をコードするポリヌクレオチドおよび本明細書中に記載される抗原結合性構築物のうちのいずれかの軽鎖をコードするポリヌクレオチドを含

むベクターを含む宿主細胞を培養するステップを含むことができる。

【００８６】

別の実施形態では、本発明は、本明細書中に記載される改変に従ってFcを改変することにより、抗体の半減期を増大させる方法を含む。

【００８７】

別の実施形態では、本発明は、強化されたFcRn結合性を有し、かつエフェクター機能の別の特性を調節する1箇所以上の追加の置換、欠失または挿入を有する、本明細書中に記載される抗原結合性タンパク質を含む。

【００８８】

所望の方法により発現されたら、本発明の抗原結合性タンパク質は、次に、適切なアッセイを用いることによりin vitro活性について検討される。現在慣用であるELISAおよびBiacoreアッセイ形式が、その標的に対する抗原結合性構築物の定性的および定量的結合性を評価するために用いられる。さらに、通常のクリアランス機構にもかかわらず身体内で生じる抗原結合性タンパク質の持続性を評価するために行なわれる、後のヒト臨床試験の前に、他のin vitroアッセイもまた、中和効力を確認するために用いることができる。

【００８９】

用量および治療の持続期間は、ヒト血液循環での本発明の分子の相対的持続期間に関連し、本明細書中に提供される情報に基づいて、治療される状態および患者の全身健康状態に応じて、当業者が調整することができる。長期間（例えば、4～6ヵ月間）にわたる反復投与（例えば、4週間、5週間、6週間、7週間または8週間毎に1回）が、最大の治療有効性を実現するために必要であり得ることが予想される。

【００９０】

本発明の治療剤の投与様式は、宿主へと薬剤を送達するいずれかの好適な経路であり得る。本発明の抗原結合性タンパク質、および医薬組成物は、非経口投与、すなわち、皮下（s.c.）、くも膜下、腹腔内、筋内（i.m.）、静脈内（i.v.）、または鼻内投与のために特に有用である。一実施形態では、本発明の抗原結合性タンパク質および医薬組成物は、皮下自己注射ペンまたは皮下プレフィルドシリンジを介して投与される。

【００９１】

本発明の抗原結合性タンパク質は、製薬上許容される担体中に、活性成分として有効量の本発明の抗原結合性タンパク質を含有する医薬組成物として調製することができる。本発明の予防剤では、注入のために準備された形態で、好ましくは生理学的pHで緩衝された、抗原結合性構築物を含有する水性懸濁液または溶液が好ましい。非経口投与のための組成物は、一般的に、製薬上許容される担体、好ましくは水性担体中に溶解された、本発明の抗原結合性構築物またはそのカクテルの溶液を含むであろう。様々な水性担体、例えば、0.9%生理食塩液、0.3%グリシン等を用いることができる。これらの溶液は、無菌かつ一般的に粒子状物質を含まないようにすることができる。これらの溶液は、慣用の周知の滅菌技術（例えば、ろ過）により滅菌することができる。組成物は、生理学的条件に近似させるために必要である場合、製薬上許容される補助物質を含有することができる（pH調整剤および緩衝剤など）。そのような医薬製剤中の本発明の抗原結合性タンパク質の濃度は、大きく変化することがあり得、すなわち、重量基準で約0.5%未満、通常は約1%または少なくとも約1%から、15もしくは20%もの濃度であり得、選択された特定の投与様式に従って、液量、粘度等に主に基づいて選択されるであろう。

【００９２】

アダリムマブは、高濃度で製剤化するのが困難であると報告されている。国際公開第2004016286号には、クエン酸-リン酸バッファー、ならびにポリオールおよび界面活性剤を含む他の構成成分を含むアダリムマブ製剤が記載されている。PDAカンファレンスで2005年10月25日に示された口頭発表「Humira(R) - from Development to Commercial Scale Production」は、(i)クエン酸-リン酸バッファー；(ii)酢酸-リン酸バッファー；および(iii)リン酸バッファーを含む製剤を報告している。試験された酢酸-リン酸バッファーは、アダリムマブに対して、最も低い安定化作用を示した。Curtisら（2008）（Current Medi

cal Research and Opinion, Volume 27, p71-78）は、アダリムマブ注射剤を用いた関節リウマチを有する患者での、注入部位の灼熱痛および刺痛の発生を報告している。灼熱痛および刺痛は、部分的には、クエン酸バッファーに基づく製剤に起因していた（Basic and Clinical Pharmacology & Toxicology, Volume 98, p218-221, 2006；およびJournal of Pharmaceutical Sciences, Volume 97, p3051-3066, 2008）。しかしながら、国際公開第20100129469号には、未だにクエン酸-リン酸バッファーおよびポリオールをはじめとする他の構成成分を、塩化ナトリウムを伴わずに含む高濃度アダリムマブ製剤が記載されている。より最近、国際公開第2012065072号には、界面活性剤およびポリオールを含み、バッファーを含まず、つまり、注入時にいかなるクエン酸バッファー作用も回避する可能性があるアダリムマブ製剤が記載されている。

【００９３】

一実施形態では、TNFα抗原結合性タンパク質およびヒスチジンバッファーを含む液体製剤が提供される。

【００９４】

さらなる実施形態では、TNFα結合性タンパク質は、配列番号27もしくは配列番号33～38から選択されるCDRH1および/または配列番号28のCDRH2および/または配列番号29もしくは配列番号40～49から選択されるCDRH3および/または配列番号30もしくは配列番号50～61から選択されるCDRL1および/または配列番号31もしくは配列番号62～72から選択されるCDRL2および/または配列番号32もしくは配列番号73～76のCDRL3を含む。例えば、TNFα抗原結合性タンパク質は、配列番号27のCDRH1および配列番号28のCDRH2および配列番号29のCDRH3および配列番号30のCDRL1および配列番号31から選択されるCDRL2および配列番号32のCDRL3またはそれらの変異体を含む。

【００９５】

TNFα抗原結合性タンパク質は、アダリムマブであり得る。TNFα抗原結合性タンパク質は、BPC1494であり得る。TNFα抗原結合性タンパク質は、BPC1496であり得る。

【００９６】

本明細書中に記載されるTNFα抗原結合性タンパク質は、ヒスチジンバッファー中に製剤化される。製剤は、液体剤形であり得る。製剤は、界面活性剤；キレート剤；ポリオール；抗酸化剤；およびアミノ酸のうちの1種以上、組み合わせ、またはすべてをさらに含み得る。TNFα抗原結合性タンパク質は、高濃度で、例えば50mg/mLで製剤化される。一実施形態では、製剤は、塩を含まない。別の実施形態では、製剤は、さらなるバッファー構成成分、例えば、クエン酸塩、および/またはリン酸塩、および/または酢酸塩を含まない。したがって、本明細書中に記載される製剤は、安定した製剤中に高濃度でTNFα抗原結合性タンパク質を、特に表Aに記載される通りのTNFα抗原結合性タンパク質を提供するという課題を解決し、かつ、クエン酸系バッファーの灼熱痛および刺痛作用を回避し、さらに、これまでに記載された製剤よりも安定である。

【００９７】

一実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、界面活性剤およびキレート剤をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、界面活性剤およびポリオールをさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、界面活性剤およびアミノ酸をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、界面活性剤および抗酸化剤をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、キレート剤および界面活性剤をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、キレート剤およびポリオールをさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、キレート剤およびアミノ酸をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、ポリオールおよびアミノ酸をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、抗酸化剤およびポリオールをさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、抗酸化剤およびキレート剤をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、抗酸化剤およびアミノ酸をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、ポリオールおよびアミノ酸をさらに含む。

【００９８】
一実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、界面活性剤、キレート剤およびポリオールをさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、界面活性剤、キレート剤およびアミノ酸をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、界面活性剤、ポリオールおよびアミノ酸をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、キレート剤、ポリオールおよびアミノ酸をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、キレート剤、ポリオールおよび抗酸化剤をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、アミノ酸、ポリオールおよび抗酸化剤をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、界面活性剤、ポリオールおよび抗酸化剤をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、界面活性剤、ポリオールおよび抗酸化剤をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、界面活性剤、キレート剤および抗酸化剤をさらに含む。別の実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、界面活性剤、アミノ酸および抗酸化剤をさらに含む。

【００９９】
一実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、界面活性剤、キレート剤、ポリオール、アミノ酸および抗酸化剤をさらに含む。

【０１００】
一実施形態では、バッファーはヒスチジンである。これは、5～100mMヒスチジンの濃度であり得る。ヒスチジンは、10～80mM、10～50mM、20～40mM、または約20mM、約25mM、約30mM、約35mM、もしくは約40mMの量で存在することができる。一実施形態では、ヒスチジンは、約30mMの濃度である。

【０１０１】
ヒスチジンバッファーは、唯一のバッファーであり得る。言い換えれば、製剤は、リン酸バッファーおよび/またはクエン酸バッファーおよび/または酢酸バッファーなどの別のバッファー構成成分を含まないことができる。クエン酸バッファーは、多数の理由により、製剤に対して有害であり得る：(i)3つの解離定数の値が、3つのプロトン受容体相の区別を可能にするには近すぎるので、良好なバッファーではない場合がある；(ii)クエン酸塩は金属キレート剤として作用する場合があり、つまり、金属イオンバランスに影響を与え得る；(iii)クエン酸塩はクエン酸回路の代謝生成物であり、細胞代謝に影響する可能性がある。

【０１０２】
好適な界面活性剤（surfactant）（detergentとしても知られる）としては、例えば、ポリソルベート（例えば、ポリソルベート20または80）、ポリオキシエチレンアルキルエーテル（Brij 35.RTM.など）、ポロキサマー（例えば、ポロキサマー188、ポロキサマー407）、Tween20、Tween80、Cremophor A25、Sympatens ALM/230、およびMirjが挙げられる。一実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート80である。製剤は、0～0.1％の濃度のポリソルベート80を含むことができる。あるいは、製剤は、0.01～0.1％の濃度のポリソルベート80（0.1～1mg/mL）を含むことができる。ポリソルベート80は、0～0.04％、0.01～0.05％、もしくは0.01～0.03％；または約0.015％、約0.02％、約0.025％、約0.03％、もしくは約0.04％の量で存在することができる。一実施形態では、ポリソルベート80は、約0.02％の濃度である。この界面活性剤は高レベルの酸化剤を含有する場合があり、これは製剤の保存に際して酸化レベルを増大させ、したがって保存寿命を低下させる可能性があるので、高濃度のポリソルベート80（例えば、0.1％超）は、製剤に対して有害であり得る。

【０１０３】
好適なキレート剤は、EDTAおよび金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）を含むことができる。一実施形態では、キレート剤はEDTAである。製剤は、0～0.2mMの濃度のEDTAを含むことができる。あるいは、製剤は、0.02～0.2 mMの濃度のEDTA（0.00748～0.0748mg/mL）を含むことができる。EDTAは、0.02～0.15mM、0.02～0.1mM、0.03～0.08mM、もしくは0.04～0.06mM；または約0.03mM、約0.04mM、約0.05mM、もしくは約0.06mMの量で存在す

ることができる。一実施形態では、EDTAは、約0.05mM（0.018mg/mL）の濃度である。

【０１０４】

一実施形態では、製剤は塩を含まない。しかしながら、塩が添加される場合には、好適な塩としては、ナトリウムなどのいずれかの塩形成性対イオンが挙げられる。例えば、塩化ナトリウムを用いることができ、またはナトリウム塩の対イオンとして塩素ではなくアニオン性酢酸イオンを用いることができる。一実施形態では、塩は塩化ナトリウムである。製剤は、0～150mMの濃度の塩化ナトリウムを含むことができる。あるいは、製剤は、25～150mMの濃度の塩化ナトリウム（1.461～5.84mg/mL）を含むことができる。塩化ナトリウムは、35～150mM、45～80mM、25～70mM、もしくは45～60mM；または45mM、46mM、47mM、48mM、49mM、50mM、51mM、52mM、53mM、54mM、55mMの量で存在することができる。一実施形態では、塩化ナトリウムは、約51mM（2.98mg/mL）の濃度である。

【０１０５】

好適なアミノ酸としては、アルギニンおよび/またはグリシンが挙げられる。製剤は、0.5～5%の濃度のアルギニン遊離塩基（5～50mg/mL）を含むことができる。他の実施形態では、アルギニン遊離塩基は、0.5～4.0%、0.5～3.5%、0.5～3.0%、0.5～2.5%、または約0.5%、約0.75%、約1%、約1.5%、約2%、もしくは約3%であり得る。一実施形態では、アルギニンは、約1%（10mg/mL）の濃度である。1%アルギニンは、約57mMである。別の実施形態では、アルギニンは、0～100mMの量で存在することができる。アルギニンは、25～75mM、40～80mM、または50～75mM；約50mM、または約75mMの量で存在することができる。一実施形態では、アルギニンは50mMの濃度である。別の実施形態では、アルギニンは75mMの濃度である。あるいは、またはアルギニンに加えて、グリシンを製剤中に含ませることができる。グリシンをアルギニンの代替物として用いる場合、上述の濃度範囲をグリシンに等しく適用することができる。グリシンをアルギニンに加えて用いる場合、上述の濃度範囲は、必要とされる様々な比率でのアルギニン＋グリシンの相加的な量であるべきである。

【０１０６】

好適なポリオールとしては、複数のヒドロキシル基を有する物質を含むことができ、糖（還元糖および非還元糖）、糖アルコールおよび糖酸が挙げられる。ポリオールの例としては、フルクトース、マンノース、マルトース、ラクトース、アラビノース、キシロース、リボース、ラムノース、ガラクトース、グルコース、スクロース、トレハロース、ソルボース、メレジトース、ラフィノース、マンニトール、キシリトール、エリスリトール、トレイトール、ソルビトール、グリセロール、L-グルコネートおよびそれらの金属塩が挙げられる。一実施形態では、本発明の製剤は、トレハロースを含む。製剤は、0～300mMの濃度のトレハロースを含むことができる。トレハロースは、50～250mM、100～250mM、または150～225mM；約150mM、または約225mMの量で存在することができる。一実施形態では、トレハロースは150mMの濃度である。別の実施形態では、トレハロースは225mMの濃度である。

【０１０７】

好適な抗酸化剤としては、メチオニン、ヒスチジン、EDTA、チオ硫酸ナトリウム、カタラーゼ、または白金が挙げられる。ヒスチジンおよびEDTAの好適な濃度は、上記で説明されている。製剤は、0～30mMの濃度のメチオニンを含むことができる。メチオニンは、１～20mM、または5～15mM、約5mM、約10mM、または約15mMの量で存在することができる。一実施形態では、メチオニンは10mMの濃度である。

【０１０８】

一実施形態では、ヒスチジンバッファー製剤は、トレハロース、メチオニン、ポリソルベート80、EDTA、およびアルギニン遊離塩基のうちの1種以上、組み合わせ、またはすべてをさらに含む。例えば、ヒスチジンバッファー製剤は、トレハロース、メチオニン、およびアルギニンをさらに含む。

【０１０９】

製剤のpHは、pH5.0～7.0に調整することができる。一実施形態では、製剤は、pH5.0～6

.5である。他の実施形態では、pHは、pH5.0、5.5、6.0、6.5または7.0であり得る。NaOHまたはHClを用いて、pHを5.0、5.5、6.0、6.5または7.0に調整することができる。一実施形態では、pHは約6.0である。

【０１１０】

本明細書中に記載されるTNFα抗原結合性タンパク質は、20～300mg/mLの濃度範囲で製剤化することができる。例えば、抗原結合性タンパク質は、20～200mg/mLもしくは50～100 mg/mL；または約40mg/mLもしくは約45mg/mLもしくは約50mg/mLもしくは約55mg/mLもしくは約60mg/mLもしくは約70mg/mLもしくは約80mg/mLもしくは約90mg/mL、もしくは約100mg/mLの濃度で存在する。一実施形態では、TNFα抗原結合性タンパク質は、約50mg/mLの濃度である。

【０１１１】

TNFα抗原結合性タンパク質は、アダリムマブであり得る。TNFα抗原結合性タンパク質は、BPC1494であり得る。TNFα抗原結合性タンパク質は、BPC1496であり得る。

【０１１２】

一実施形態では、製剤は、少なくとも1年間、少なくとも18ヵ月間、または少なくとも2年間、または少なくとも3年間、安定である。例えば、製剤は、約5℃の温度で、少なくとも1年間、少なくとも18ヵ月間、または少なくとも2年間、安定である。別の実施形態では、製剤は、室温（約25℃）で安定である。例えば、製剤は、約25℃の温度で、少なくとも14週間、少なくとも12週間、少なくとも8週間、少なくとも2週間、少なくとも1週間、少なくとも6日間、少なくとも5日間、少なくとも4日間、少なくとも3日間、少なくとも2日間または少なくとも1日間、安定である。別の実施形態では、製剤は、約40℃の温度で安定である。例えば、製剤は、約40℃の温度で、少なくとも9週間または少なくとも4週間、安定である。

【０１１３】

したがって、推奨される時間を超えて室温に放置される場合がある注入用のプレフィルドデバイス中での凝集体または低分子量断片形成のリスクは最小限である。凝集体は、免疫原性である可能性があり（The AAPS Journal 2006; 8 (3) Article 59 Themed Issue: Proceedings of the 2005 AAPS Biotec Open Forum on Aggregation of Protein Therapeutics, Guest Editor - Steve Shire, Effects of Protein Aggregates: An Immunologic Perspectiveを参照されたい）、低分子量断片は、既存の自己抗体を惹起する（illicit）場合がある（J Immunol 2008; 181:3183-3192; Human Anti-IgG1 Hinge Autoantibodies Reconstitute the Effector Functions of Proteolytically Inactivated IgGs1を参照されたい）。

【０１１４】

液体製剤中のTNFα抗原結合性タンパク質の安定性は、以下の手法のいずれか1つまたは組み合わせにより評価することができる：目視観察での外観、タンパク質濃度（A280nm）、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）、キャピラリー等電点電気泳動（c-IEF）、および機能的結合性アッセイ（ELISA）によるもの。例えば、単量体、凝集体、もしくは断片、またはそれらの組み合わせの割合（％）を、安定性を決定するために用いることができる。一実施形態では、安定な液体製剤は、製剤中に凝集体として存在する約10％未満、または約5％未満のTNFα抗原結合性タンパク質を有する製剤である。製剤は、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％、または少なくとも96％、または少なくとも97％、または少なくとも98％、または少なくとも99％の単量体含有量を有することができる。製剤は、約2週間後に、室温（約25℃）で上記の単量体含有量を有することができる。製剤は、約1週間後に、室温（約25℃）で上記の単量体含有量を有することができる。製剤は、約1日後に、室温（約25℃）で上記の単量体含有量を有することができる。最終的な単量体含有量は、出発材料の純度に応じて変化するであろうことが理解されるべきである。一実施形態では、したがって、％凝集体の年率増加は、1％以下である。

【０１１５】

BPC1494抗原結合性タンパク質は、複数の分解経路を示す点で稀である。これらには、凝集、断片化、脱アミド化および酸化が含まれる。

【０１１６】

したがって、ヒスチジン系バッファーの使用が非常に望ましいことが示される。

【０１１７】

本発明の一態様では、TNFα抗原結合性タンパク質を含む液体製剤が提供され、該TNFα抗原結合性タンパク質は、配列番号5に従う重鎖および配列番号2に従う軽鎖を含み、製剤は、30mMの濃度のヒスチジン；150mMの濃度のトレハロース；50mMの濃度のアルギニン；10mMの濃度のメチオニン；0.05mMの濃度のEDTA；0.02％の濃度のPS80を含有し；pHは約pH6.0に調整される。

【０１１８】

本発明の別の態様では、TNFα抗原結合性タンパク質を含む液体製剤が提供され、該TNFα抗原結合性タンパク質は、配列番号5に従う重鎖および配列番号2に従う軽鎖を含み、製剤は、30mMの濃度のヒスチジン；225mMの濃度のトレハロース；75mMの濃度のアルギニン；10mMの濃度のメチオニン；0.05mMの濃度のEDTA；0.02％の濃度のPS80を含有し；pHは約pH6.0に調整される。

【０１１９】

つまり、注入用の本発明の医薬組成物は、1mLの滅菌緩衝水、および約1mg～約100mg、例えば、約30mg～約100mgまたはより好ましくは約35mg～約80mg、例えば40、50、80または90mgの本発明の抗原結合性構築物を含むように調製することができる。非経口投与可能な組成物を調製するための実際の方法は、当業者に周知であるか、または当業者には明らかであろうし、かつ、例えばRemington's Pharmaceutical Science, 15th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvaniaに、より詳細に記載されている。本発明の静脈内投与可能な抗原結合性構築物製剤の調製に関して、Lasmar U and Parkins D “The formulation of Biopharmaceutical products”, Pharma. Sci.Tech.today, page 129-137, Vol.3 (3rd April 2000)、Wang, W “Instability, stabilisation and formulation of liquid protein pharmaceuticals”, Int. J. Pharm 185 (1999) 129-188, Stability of Protein Pharmaceuticals Part A and B ed Ahern T.J., Manning M.C., New York, NY: Plenum Press (1992)、Akers,M.J. “Excipient-Drug interactions in Parenteral Formulations”, J.Pharm Sci 91 (2002) 2283-2300、Imamura, K et al “Effects of types of sugar on stabilization of Protein in the dried state”, J Pharm Sci 92 (2003) 266-274、Izutsu, Kkojima, S. “Excipient crystalinity and its protein-structure-stabilizing effect during freeze-drying”, J Pharm. Pharmacol, 54 (2002) 1033-1039、Johnson, R, “Mannitol-sucrose mixtures-versatile formulations for protein lyophilization”, J. Pharm. Sci, 91 (2002) 914-922を参照されたい。

【０１２０】

好ましくは、本発明の抗原結合性タンパク質は、約40mgの用量で提供または投与される。好ましくは、抗原結合性タンパク質は皮下送達に好適であり、皮下的に送達される。他の投与量または投与経路もまた、本明細書中に開示されている通り、用いることができる。

【０１２１】

一実施形態では、本発明のいずれかの態様に従う抗原結合性タンパク質は、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含むIgGと比較した場合に、増大した平均滞留時間を示す。

【０１２２】

改変型IgGおよびそのIgG定常ドメインまたはFcRn結合性部分を含む分子の結合能は、種々のin vitroアッセイにより特性決定することができる。WardによるPCT国際公開第97/34631号には、様々な方法が詳細に開示されている。例えば、FcRnに結合する改変型IgGまたはその断片の能力を、野生型IgGのものと比較するために、改変型IgGまたはその断片と野生型IgGとを放射性標識し、in vitroでFcRn発現細胞と反応させることができる。次に、

細胞結合画分の放射活性をカウントし、比較することができる。このアッセイに使用される対象であるFcRnを発現する細胞は、B10.DBA/2マウスの肺由来のマウス肺毛細管内皮細胞（B10, D2.PCE）およびC3H/HeJマウス由来のSV40形質転換内皮細胞（SVEC）（Kim et al., J Immunol., 40: 457-465,1994）をはじめとする内皮細胞株であり得る。しかしながら、選択される生物種の組み換えFcRnを発現する哺乳動物細胞をはじめとする、十分な数のFcRnを発現する他のタイプの細胞もまた、用いることができる。あるいは、改変型IgGの結合画分または未改変型IgGのものの放射活性をカウントした後、次に、結合した分子を、界面活性剤を用いて抽出し、細胞の単位数当たりの放出割合（％）を算出し、比較することができる。

【０１２３】

FcRnについての本発明の抗原結合性タンパク質の親和性は、例えば、以前に記載された通りに、BIAcore 2000（BIAcore社）を用いて、表面プラズモン共鳴（SPR）測定により測定することができる（Popov et al., Mol. Immunol., 33: 493-502,1996；Karlsson et al., J Immunol. Methods, 145: 229-240, 1991、これらの両方が、その全体が参照により組み入れられる）。この方法では、FcRn分子をBIAcoreセンサーチップ（例えば、Pharmacia社製のCM5チップ）にカップリングさせ、固定化されたFcRnへの改変型IgGの結合性を、一定の流速で測定し、BIA evaluation 2.1ソフトウェアを用いてセンサーグラムを取得し、これに基づいて、改変型IgG、定常ドメイン、またはそれらの断片の、FcRnへのon速度およびoff速度を算出することができる。本発明の抗原結合性タンパク質および未改変型IgGの、FcRnに対する相対的親和性はまた、単純な競合結合アッセイによっても測定することができる。さらに、改変型IgGまたはその断片、および野生型IgGの、FcRnに対する親和性はまた、飽和試験およびスキャッチャード（Scatchard）解析によっても測定することができる。

【０１２４】

FcRnによる、細胞をまたいだ改変型IgGまたはその断片の移動は、放射線標識IgGまたはその断片およびFcRn発現細胞を用いて、細胞単層の一方の放射活性を他方のものと比較するin vitro移動アッセイにより、測定することができる。あるいは、そのような移動は、10～14日齢乳児マウスに放射線標識した改変型IgGを摂取させ、血液循環への腸を介したIgGの移動を表わす血液（またはいずれかの他の標的組織、例えば、肺）サンプル中での放射活性を定期的にカウントすることにより、in vivoで測定することができる。腸管を通るIgG移動の用量依存的阻害を試験するために、一定比率での放射線標識IgGと未標識IgGとの混合物をマウスに投与し、血漿中の放射活性を定期的に測定することができる（Kim et al., Eur. R Immunol., 24: 2429-2434, 1994）。

【０１２５】

抗原結合性タンパク質の半減期は、Kimら（Eur. J. of Immuno. 24: 542, 1994、その全体が参照により本明細書中に組み入れられる）により記載された方法に従って薬物動態試験により測定することができる。この方法に従えば、放射性標識された抗原結合性タンパク質をマウスに静脈内注入し、その血漿濃度を、例えば、注入の3分～72時間後に、時間の関数として定期的に測定する。そのように取得されるクリアランス曲線は、二相性であるはずである。改変型IgGまたはその断片のin vivo半減期の決定のために、β相でのクリアランス率を算出し、未改変型IgGのものと比較する。

【０１２６】

本発明の抗原結合性タンパク質は、抗原に免疫特異的に結合する能力についてアッセイすることができる。そのようなアッセイは、溶液中で（例えば、Houghten, BiolTechniques, 13: 412-421, 1992）、ビーズ上で（Lam, Nature, 354: 82-84, 1991）、チップ上で（Fodor, Nature, 364: 555-556,1993）、細菌で（米国特許第5,223,409号）、胞子で（米国特許第5,571,698号；同第5,403,484号；および同第5,223,409号）、プラスミドで（Cull et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 1865-1869, 1992）またはファージで（Scott and Smith, Science, 249: 386-390, 1990；Devlin, Science, 249: 404-406, 1990；Cwirla et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87: 6378-6382, 1990；およびFelici,

J：Mol. Biol., 222: 301-310, 1991）行なうことができる（これらの参照文献のそれぞれが、参照によりその全体が本明細書中に組み入れられる）。抗原またはその断片に免疫特異的に結合することが明らかになっている抗体を、次に、該抗原に対するそれらの特異性および親和性についてアッセイすることができる。

【０１２７】

本発明の抗原結合性タンパク質は、抗原に対する免疫特異的結合性および他の抗原との交差反応性について、当技術分野で公知のいずれかの方法により、アッセイすることができる。免疫特異的結合性および交差反応性を分析するために用いることができる免疫アッセイとしては、限定するものではないが、一部を挙げるとすれば、ウエスタンブロット、放射免疫アッセイ、ELISA（酵素連結免疫吸着アッセイ）、「サンドウィッチ」免疫アッセイ、免疫沈降アッセイ、沈降素反応、ゲル拡散沈降素反応、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体結合アッセイ、免疫放射定量アッセイ、蛍光免疫アッセイ、プロテインA免疫アッセイなどの技術を用いる競合的および非競合的アッセイシステムが挙げられる。そのようなアッセイは、当技術分野で慣用かつ周知である（例えば、Ausubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New Yorkを参照されたい（その全体が参照により本明細書中に組み入れられる））。例示的免疫アッセイは、以下に簡潔に説明されている（しかし、限定することを意図するものではない）。

【０１２８】

好ましい実施形態では、BIAcore反応速度論解析が、抗原に対する抗体の結合on速度およびoff速度を決定するために用いられる。BIAcore反応速度論解析は、その表面に固定化された抗体を有するチップからの抗原の結合および解離を分析することを含む。

【０１２９】

抗原結合性タンパク質：本明細書中で用いる場合、「抗原結合性タンパク質」との用語は、TNFαに結合することが可能な、抗体、抗体断片および他のタンパク質構築物への言及を含む。

【０１３０】

抗体：「抗体」との用語は、最も広い意味で本明細書中で用いられ、免疫グロブリン様ドメインを含む分子への言及を含み、モノクローナル抗体、組み換え抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、二重特異性抗体およびヘテロコンジュゲート（hetero conjugate）抗体を含む。

【０１３１】

ヒトIgG1重鎖定常ドメインとは、対立遺伝子変異を含む、自然界に見出されるIgG1重鎖定常ドメインに関するヒトアミノ酸配列を意味する。

【０１３２】

「半減期（t1/2）」とは、抗原結合性ポリペプチドの濃度が、元の値の半分に達するのに必要とされる時間を意味する。タンパク質の血清半減期は、Kimら（Eur. J. of Immuno. 24: 542, 1994）により記載された方法に従って薬物動態試験により測定することができる。この方法に従えば、放射性標識されたタンパク質をマウスに静脈内注入し、血漿濃度を、時間の関数として定期的に、例えば、注入の約3分～約72時間後に測定する。薬物動態解析および分子の半減期の決定のための他の方法は、当業者にはなじみのあるものであろう。詳細は、Kenneth, A et al: Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for PharmacistsおよびPeters et al, Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach (1996)に見出すことができる。“Pharmacokinetics”, M Gibaldi & D Perron (Marcel Dekkerにより発行, 2nd Rev. ex edition (1982))（tα半減期およびtβ半減期ならびに曲線下面積（AUC）などの薬物動態パラメータを説明する）、および“Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications”, Rowland and Tozer, Third Edition (1995)も参照する。

【０１３３】

「クリアランス（CL）」とは、単位時間あたりに、あるタンパク質が不可逆的に取り除

かれた血漿の体積を意味する。クリアランスは、用量/AUCとして算出される（AUC：曲線下面積または血漿薬物濃度時間曲線下面積）。クリアランスはまた、薬物の血漿濃度により除算した薬物除去速度によっても算出することができる（除去速度＝CL*濃度）。

【０１３４】

「平均滞留時間（MRT）」は、抗原結合性ポリペプチドが、不可逆的に除去される前に身体中に留まる平均時間である。MRT＝AUMC/AUCとして算出される。

【０１３５】

「定常状態濃度」（Css）は、薬物除去速度が、継続的な薬物投与の結果としての薬物投与速度と等しくなる時に到達される濃度である。Cssは、ピークレベルとトラフレベルとの間で変動し、マイクログラム/mLで測定される。「平均定常状態トラフ濃度」とは、所与の時間での患者集団にわたるトラフレベルの平均を意味する。

【０１３６】

「同等な平均定常状態トラフ濃度」とは、既定の値と同じかまたはその約10％～30％以内である平均定常状態トラフ濃度を意味する。本発明の抗原結合性ポリペプチドについての同等な平均定常状態トラフ濃度は、配列番号2の軽鎖配列および配列番号12の重鎖配列を含むIgGで達成される平均定常状態トラフ濃度の0.8～1.25倍である平均定常状態トラフ濃度と考えることができる。

【０１３７】

半減期およびAUCは、時間に対する薬物（例えば、本発明の抗原結合性ポリペプチド）の血清濃度の曲線から決定することができる。半減期は、コンパートメント解析または非コンパートメント解析を通して決定することができる。WINNONLIN^{TM}解析パッケージ（Pharsight Corp., Mountain View, CA94040, USAから入手可能）を用いて、例えば、曲線をモデル化することができる。一実施形態では、「半減期」とは、終末相半減期を意味する。

【０１３８】

特異的に結合する：抗原結合性タンパク質に関して本明細書全体を通して用いる場合の「特異的に結合する」との用語は、抗原結合性タンパク質が、他の無関係なタンパク質への結合性を示さないかまたはそれらへの有意でない結合性を有して、TNFαに結合することを意味する。しかしながら、この用語は、抗原結合性タンパク質が近縁の分子と交差反応性でもあり得るという事実を排除しない。本明細書中に記載される抗原結合性タンパク質は、近縁の分子にそれらが結合する親和性よりも、少なくとも2倍、少なくとも5倍、少なくとも10倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍、または少なくとも1000倍大きな親和性でTNFαに結合することができる。

CDR：

「CDR」とは、抗原結合性タンパク質の相補性決定領域アミノ酸配列として定義される。これらは、免疫グロブリン重鎖および軽鎖の超可変領域である。免疫グロブリンの可変部分には3つの重鎖および3つの軽鎖CDR（またはCDR領域）がある。つまり、本明細書中で用いる場合、「CDR」とは、3つすべての重鎖CDR、3つすべての軽鎖CDR、すべての重鎖および軽鎖CDR、または少なくとも2つのCDRを意味する。

【０１３９】

本明細書全体を通して、可変ドメイン配列および全長抗体配列のアミノ酸残基は、Kabatのナンバリング慣習に従って番号付けされている。同様に、実施例で用いられる「CDR」、「CDRL1」、「CDRL2」、「CDRL3」、「CDRH1」、「CDRH2」、「CDRH3」との用語は、Kabatのナンバリング慣習に従う。さらなる情報については、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4th Ed., U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (1987)を参照されたい。

【０１４０】

変異体の％同一性：「同一な」または「配列同一性」との用語は、適切な挿入または欠失により最適にアライメントして比較した場合の、2つの核酸配列または2つのアミノ酸配列の間の同一性の程度を示す。本明細書中に記載される変異体は、アミノ酸レベルで、ネ

イティブのCDR配列または可変ドメイン配列に対して、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99％の同一性を有することができる。

【０１４１】

本明細書中に記載される特定の実施形態は、例として示され、本発明の限定として示されているのではないことが理解されるであろう。本発明の主要な特徴は、本発明の範囲から逸脱することなく、様々な実施形態で用いることができる。当業者は、慣用の試験を超えるものを用いずに、本明細書中に記載される具体的手順に対する多数の等価物を認識するであろうし、またはそれを突き止めることができるであろう。そのような等価物は、本発明の範囲内にあると見なされ、特許請求の範囲によりカバーされる。本明細書中で言及されるすべての刊行物および特許出願は、本発明が属する技術分野の当業者のレベルを示すものである。すべての刊行物および特許出願は、それぞれの個々の刊行物または特許出願が具体的かつ個別に参照により組み入れられることが示されている場合と同じ程度まで、参照により本明細書中に組み入れられる。特許請求の範囲および/または本明細書中で「含む」（comprising）との用語に関連して用いられる場合の「a」または「an」との単語は「1」を意味する場合があるが、「1以上」、「少なくとも1」および「1または2以上」の意味とも一致する。特許請求の範囲の中の「or」との用語の使用は、選択肢であることのみを指すことが明白に示されているか、または選択肢が互いに排他的でない限り、「および/または」を意味するために用いられるが、本開示は、単に選択肢であることおよび「および/または」を意味する定義を支持する。本明細書全体を通して、「約」との用語は、ある値が、デバイス、値を決定するために用いられる方法、または被験体間に存在する変動に関する固有の誤差の変動を含むことを示すために用いられる。

【０１４２】

本明細書および特許請求の範囲で用いられる場合、「含む」（comprising）（ならびに「comprise」および「comprises」などのcomprisingのいずれかの形態）、「有する」（having）（ならびに「have」および「has」などのhavingのいずれかの形態）、「含む」（including）（ならびに「includes」および「include」などのincludingのいずれかの形態）、または「含有する」（containing）（ならびに「contains」および「contain」などのcontainingのいずれかの形態）との単語は、包括的またはオープンエンドであり、追加の列挙されていない要素または方法ステップを排除しない。一態様では、そのようなオープンエンドな用語はまた、その範囲内に、例えば「から本質的になる」または「からなる」などの制限的または閉じた定義も含む。

【０１４３】

本明細書中で用いる場合、「またはその組み合わせ」との用語は、該用語に先行して列記された項目のすべての並べ替えおよび組み合わせを意味する。例えば、「A、B、C、またはその組み合わせ」は、A、B、C、AB、AC、BC、またはABCの少なくとも1つを含むことが意図され、特定の文脈で順序が重要であれば、BA、CA、CB、CBA、BCA、ACB、BAC、またはCABも意味する。この例で続ければ、BB、AAA、AB、BBC、AAABCCCC、CBBAAA、CABABBなどの、1つ以上の項目または用語の繰り返しを含む組み合わせが、明示的に包含される。当業者は、典型的には、文脈からそうでないことが明らかでない限り、いずれの組み合わせでも、項目または用語の数には制限がないことを理解するであろう。

【０１４４】

本明細書中に開示および特許請求される組成物および/または方法のすべてが、本開示に照らして、過剰な試行錯誤をすることなく作製および実施できる。本発明の組成物および方法は、好ましい実施形態に関して説明されてきたが、本発明の主旨、精神および範囲から逸脱することなく、本明細書中に記載される組成物および/または方法に、かつ方法のステップまたはステップの順序に、変更を適用することができることは、当業者に明らかであろう。当業者に明らかであるすべてのそのような類似の置換（substitute）および改変は、添付の特許請求の範囲により定義される通りの本発明の精神、範囲および主旨の範囲内にあると見なされる。

【０１４５】

本明細書中で引用されるすべての文献は、許される完全な程度まで、参照により組み入れられる。

【０１４６】

本願の文脈からそうでないことが明らかでない限り、開示のいずれの要素も、開示のいずれかの他の要素との組み合わせで、明白に考慮される。

【０１４７】

本発明は、以下の実施例を参照することによりさらに説明されるが、これは本発明を限定するものではない。

【実施例】

【０１４８】

実施例1：抗体発現ベクターのクローニング

抗TNFα抗体の可変重鎖（VH）ドメインおよび可変軽鎖（VL）ドメインをコードするDNA発現構築物は、以前に新規に調製され、哺乳動物発現ベクターへのクローニングのための制限部位を含んだ。重鎖可変ドメイン配列および軽鎖可変ドメイン配列の両方が、哺乳動物細胞での発現のために最適化された配列であった（方法論に関して、国際公開第2009024567号およびKotsopoulou et al, J Biotechnol (2010) 146: 186-193を参照されたい）。重鎖可変領域配列および軽鎖可変領域配列を記述する情報は、米国特許第6090382号に見出すことができる。本試験で用いられる構築物を作製するために、可変重鎖ドメイン（VH）配列をPCRを用いて増幅した。ヒトγ1定常領域を含むpTT哺乳動物発現ベクターへのクローニングのために、PCRプライマーはシグナル配列を含むVHドメインを組み立てる（frame）ためのHindIIIおよびSpeI制限部位を含んでいた。同様に、VLドメイン配列は、ヒトκ定常領域を含むpTT哺乳動物発現ベクターへのクローニングを促進するために、HindIIIおよびBsiWI制限部位を含むプライマーを用いるPCRにより増幅した。重鎖発現プラスミドにはコードSJC322が与えられ、軽鎖発現プラスミドにはプラスミドコードSJC321が与えられた。

【０１４９】

CDR領域に改変を有する抗TNFα抗体の代替の可変重鎖領域および可変軽鎖領域をコードするDNA発現構築物（Rajpal et al. PNAS (2005) 102(24): pg 8466-8471に記載される通り）を、重複オリゴヌクレオチドの構築および上述のものと同様の分子生物学的技術により新規に調製した。変異体cb1-3、cb2-6およびcb2-44の重鎖および軽鎖をコードする得られたプラスミドを、表1に記載する。

【０１５０】

実施例2：Fc領域の遺伝子操作

Quikchangeプロトコール（Promega社）を用いて、パスコリズマブ（抗IL-4抗体）の重鎖をコードするプラスミドのヒトγ1定常領域へと改変（M252Y/S254T/T256EおよびT250Q/M428L）を導入するために、フォワードおよびリバースプライミングプライマーを用いた。

【０１５１】

上記の実施例1に記載された通り、抗TNFα抗体のVHドメインをコードするPCR断片を、鋳型として以前に構築されたコドン最適化ベクターを用いて作製した。得られた断片を、先行する段落に記載された改変型ヒトγ1定常領域を含むpTT発現ベクターへとHindIIIおよびSpeIを用いてクローニングした。M252Y/S254T/T256E改変を有する抗TNFα抗体の重鎖をコードするプラスミドを、SJC324と称した。T250Q/M428L改変を有する重鎖をコードするプラスミドを、SJC323と称した。

【０１５２】

Quikchangeプロトコール（Promega社）を用いて、抗TNFα重鎖発現プラスミドSJC322のヒトγ1定常領域へと改変を導入するために、フォワードおよびリバースプライミングプライマーを用いた。プラスミドSJC326は、ヒトγ1定常領域中にM428L/N434S改変を含む抗TNFα重鎖をコードする。プラスミドSJC328は、ヒトγ1定常領域中にV308F改変を含む抗TNFα重鎖をコードする。

【０１５３】

実施例3：pTT5エピソームベクターを用いたHEK293 6E細胞での抗体の発現

上記の重鎖および軽鎖をコードする発現プラスミドを、HEK293 6E細胞へと一時的に同時トランスフェクションした。発現された抗体を、1mLのHiTrapプロテインAカラム（GE Healthcare社）を用いてアフィニティクロマトグラフィーにより上清から精製した。以下の表1は、作製された抗体のリストを示す。

【０１５４】

一部の抗体は、異なるセットの発現ベクターを用いて、CHO細胞でも発現させた。分子生物学、発現および精製の説明については、実施例13、14および15を参照されたい。

【０１５５】

【表１】

表 1: 発現された抗体のリスト

BPC コード	CDR 変異体	Fc 改変	重鎖発現ベクター	重鎖の配列番号	軽鎖発現ベクター	軽鎖の配列番号
BPC1492	なし	野生型	SJC322	12	SJC321	2
BPC1494	なし	M252Y/S254T/T256E	SJC324	5	SJC321	2
BPC1496	なし	M428L/N434S	SJC326	9	SJC321	2
BPC1493	なし	T250Q/M428L	SJC323	15	SJC321	2
BPC1498	なし	V308F	SJC328	18	SJC321	2
BPC1499	cb1-3	野生型	SJC336	150	SJC339	147
BPC1500	cb2-44	野生型	SJC337	151	SJC340	148
BPC1501	cb2-6	野生型	SJC336	150	SJC338	149

【０１５６】

実施例4：直接結合ELISAでの腫瘍壊死因子αへの抗体の結合性

プロテインAを用いて精製された発現抗体の組み換え腫瘍壊死因子α（TNFα）への結合性を試験するために、結合ELISAを行なった。ELISAプレートを組み換えヒトTNFα（0.1μg/mL）を用いてコーティングし、ブロッキング溶液（4%BSA）を用いてブロッキングした。様々な希釈の精製抗体を添加し（0.05%Tween20を含有するT Tris緩衝生理食塩液（pH8.0）中の4%BSAに希釈）、プレートを室温で1時間インキュベートし、その後、脱イオン水の中で洗浄した。ブロッキング溶液中のペルオキシダーゼ標識抗ヒトκ軽鎖抗体（Sigma A7164）の添加により、結合を検出した。プレートを室温で1時間インキュベートし、その後、脱イオン水の中で洗浄した。OPD基質（Sigma P9187）の添加によりプレートを発色させ、2M HClの添加により発色を停止させた。プレートリーダーを用いて490nmにて吸光度を測定し、平均吸光度を濃度に対してプロットした。結果を図1に示し、これは、すべての抗体が類似のプロフィールを有することを確認する。

【０１５７】

実施例5：L929 in vitro中和アッセイでの抗体の解析

このアッセイは、TNFαを中和し、細胞死を阻害する抗体の中和能力を試験するために用いた。簡潔には、L929細胞を、100μL RPMI1640（w/oフェノールレッド）中に10,000個/ウェルで96ウェル平底プレート中に播種し、37℃、5%CO_2で一晩インキュベートした。細胞を、1.25μg/mLアクチノマイシンDを用いて1時間、感作させた。中和試験のために、0.001～60μg/mL（0.0067～400nM）抗TNFα mAbを、約2ng/mL（約0.05nM）TNFαと共に1：1比率で1時間、室温にてプレインキュベートした。対照群として、RPMIを抗体の代わりに用いた。アクチノマイシンDとの1時間のプレインキュベーション後、20μLの抗体-抗原

複合体をウェル毎に添加した。10μLの培地のみを、陰性対照としてウェルに添加した。プレートを、37℃、5%CO_2で18時間インキュベートした。この処理時間後、細胞生存率を、CellTiter-Glo Luminescentアッセイキットにより製造業者の使用説明書に従って測定した（Promega, Madison USA）。L929アッセイのために、未知試料の細胞生存率（%）を、未処理群（100%とする）のうちの割合（%）として表わし、IC50値をGraphpad prismにより決定した。抗体のIC50値の差異を一元配置分散分析（one-way ANOVA）（Newman-Keuls事後検定）により評価し、0.05未満のP値にて有意とみなした。データは、二重で測定されたn＝4実験の平均±SEMとして表わす。各抗体についてのIC50値を決定し、以下の表2に列記する。結果は、試験したすべての抗体の効力が同等であることを示す。

【０１５８】

【表２】

表 2: L929 中和アッセイでの種々の抗 TNFα抗体についての IC_{50} 値

抗体	IC_{50} 値 (μg/mL)
BPC1492	1.19 ± 0.10
BPC1494	1.20 ± 0.13
BPC1496	1.18 ± 0.10
アダリムマブ	1.09 ± 0.07

【０１５９】

表3は、実験から導き出されたIC50値を示す。結果は、改良型抗TNFα抗体（BPC1499、BPC1500、BPC1501）が、BPC1492およびアダリムマブと比較してこのアッセイで増大した効力を示すことを示唆する。

【０１６０】

【表３】

表 3: L929 中和アッセイでの改良型抗 TNFα抗体についての IC_{50} 値

抗体	IC_{50} 値 (μg/mL)
BPC1492	1.19 ± 0.1
BPC1499	0.21 ± 0.04
BPC1500	0.13 ± 0.02
BPC1501	0.21 ± 0.03
アダリムマブ	1.09 ± 0.07

【０１６１】

実施例6：in vitro IL-6放出に対する抗体の作用

抗体の中和能は、全血細胞からのTNFα媒介IL-6放出を阻害するそれらの作用を測定することにより測定した。簡潔には、130μLの全血を各ウェルに添加し、37℃にて加湿5%CO_2インキュベーター中で1時間、プレートをインキュベートした。中和試験のために、0.001～30μg/mL（0.0067～200nM）TNFα mAbを10ng/mL（約0.4nM）TNFαと1：1比率で1時間、4℃でプレインキュベートした。対照群として、RPMIを抗体の代わりに用いた。この前処理に続いて、20μLの抗原-抗体複合体またはRPMI（陰性対照）をウェル毎に添加し、プレートを、37℃、5%CO_2で24時間インキュベートした。100μL PBS（w/o $MgCl_2$または$CaCl_2$）を各ウェルに添加し、500rpmにて10分間、プレート振盪器上に置いた。次に、プレートを2000rpmにて5分間、遠心した。120μLの上清を注意深く取り出して、新しい96ウェル丸底プレートに移し、MSDに基づくアッセイキット（Meso Scale Diagnostics, Maryland USA）を用いて、IL-6放出を測定した。全血アッセイに関して、各サンプルに対するMSDシグナルをMSD SECTOR(登録商標)Imager 2400を用いて読み取り、細胞からのIL-6放出を、P

RISM 4.00ソフトウェア（GraphPad. San Diego, USA）中の標準データ解析パッケージを用いて定量した。各抗体によるIL-6阻害の割合（％）を、TNFα単独処理群のうちの割合（％）として表わした。したがって、用量応答曲線が各抗体に関して得られ、IC50値が決定された。IC50値の対数を用いて、抗体の効力の差異を一元配置分散分析（one-way ANOVA）（Newman-Keuls事後検定）により評価し、各供与者（n＝3）について0.05未満のP値にて有意とみなした。データは、二重で測定された3名の供与者の平均±SEMとして表わす。

【０１６２】

以下の表4は、これらのデータから導き出されたIC50値を示す。これらの結果は、試験された抗体同士の間では、効力の有意な差がないことを示唆する。

【０１６３】

【表４】

表 4: TNFα誘導 IL-6 放出アッセイでの種々の抗 TNF 抗体についての IC_{50} 値

抗体	IC_{50} 値 (nM)
BPC1492	0.72 ± 0.32
BPC1494	0.62 ± 0.11
BPC1496	0.64 ± 0.13
アダリムマブ	0.47 ± 0.09

【０１６４】

IC50値を表5に示す。結果は、改良型抗TNFα抗体（BPC1499、BPC1500、BPC1501）がこのアッセイで増大した効力を示すことを示唆する。

【０１６５】

【表５】

表 5: TNFα誘導 IL-6 放出アッセイでの種々の改良型抗 TNF 抗体についての IC_{50} 値

抗体	IC_{50} 値 (nM)
BPC1492	0.72 ± 0.32
BPC1494	0.62 ± 0.12
BPC1499	0.14 ± 0.02
BPC1500	0.11 ± 0.05
BPC1501	0.15 ± 0.03
アダリムマブ	0.47 ± 0.09

【０１６６】

実施例7：加速ストレス因子試験

試験に先立って、試験対象の抗体を、OD280nmにて分光光度計で定量し、PBS（pH7.4）中に1.1mg/mLまで希釈した。アリコートを取り出し、10％v/vの500mM酢酸ナトリウムを添加して、pH5.5にて1mg/mLの最終濃度とし、サンプルを沈殿に関して調べた。PBS中の残余のサンプルには、pH7.4にて1mg/mLの最終濃度まで10％PBS v/vが添加され、このサンプルのアリコートを取り出して、ベースライン凝集レベルとした（サイズ排除クロマトグラフィーによりモニタリングする）。次に、サンプルをインキュベーター中で2週間、37℃にてインキュベートし、その後、サンプルをOD280nmにて分光光度計で再定量し、凝集について評価した（サイズ排除クロマトグラフィーによる）。サンプルを、直接結合ELISAでヒトTNFα結合性について試験した。結果を図2に示し、これは、試験されたすべての抗体の結合活性が加速ストレス因子試験後に同等であることを確認する。

【０１６７】

実施例8：25％ヒト血清中での安定性試験

試験に先立って、試験対象の抗体を、OD280nmにて分光光度計で定量し、PBS（pH7.4）中に1.25mg/mLまで希釈した。アリコートを取り出し、25％v/vのヒト血清を添加して、1mg/mLの最終濃度とした。PBS中の残余のサンプルには、1mg/mLの最終濃度まで25％PBS v/vが添加され、このサンプルのアリコートを取り出して、ベースラインレベルとした。次に、サンプルをインキュベーター中で2週間、37℃にてインキュベートし、その後、サンプルを、直接結合ELISAでヒトTNFα結合性について試験した。結果を図3に示し、これは、試験されたすべての抗体の結合活性が25％ヒト血清中での2週間のインキュベーション後に同等であることを確認する。

【０１６８】

実施例9：凍結融解後のヒトTNFαへの結合性の分析

抗体サンプルを、50mM酢酸塩および150mM NaClを含有するバッファー（pH6.0）中に1mg/mLまで希釈し、ドライアイス中で急速凍結し、続いて4℃にて一晩解凍した。ヒトTNFαへの抗体の結合性を、急速凍結されなかった抗体との比較で試験した。凍結融解後の結合活性を評価するために、ELISAプレートを1μg/mLの組み換えヒトTNFαを用いてコーティングし、ブロッキング溶液（Tris緩衝生理食塩液中の4％BSA）を用いてブロッキングした。様々な濃度を、コーティングしたプレートに添加し、室温で1時間インキュベートして、その後、脱イオン水の中で洗浄した。ブロッキング溶液中のペルオキシダーゼ標識抗ヒトκ軽鎖抗体（Sigma A7164）の添加により、結合を検出した。プレートを室温で1時間インキュベートし、その後、脱イオン水の中で洗浄した。OPD基質（Sigma P9187）の添加によりプレートを発色させ、2M HClの添加により発色を停止させた。プレートリーダーを用いて490nmにて吸光度を測定し、平均吸光度を濃度に対してプロットした。結果を図4に示し、これは、試験したすべての抗体の結合活性が凍結融解後に同等であることを確認する。

【０１６９】

実施例10：FcγRIIIaに対する抗TNFα抗体の結合性の分析

ELISAプレートを、1μg/mLの組み換えヒトFcγRIIIa（V158変異体およびF158変異体）を用いてコーティングし、ブロッキング溶液（Tris緩衝生理食塩液中の4％BSA）を用いてブロッキングした。様々な濃度を、コーティングしたプレートに添加し、室温で1時間インキュベートして、その後、脱イオン水の中で洗浄した。ブロッキング溶液中のペルオキシダーゼ標識抗ヒトκ軽鎖抗体（Sigma A7164）の添加により、結合を検出した。プレートを室温で1時間インキュベートし、その後、脱イオン水の中で洗浄した。OPD基質（Sigma P9187）の添加によりプレートを発色させ、2M HClの添加により発色を停止させた。プレートリーダーを用いて490nmにて吸光度を測定し、平均吸光度を濃度に対してプロットした。結果を図5aおよび図5bに示し、これにより、BPC1494が、BPC1492およびBPC1496と比較して、FcγRIIIa（V158変異体およびF158変異体）に結合する能力が低下していることが確認される。

【０１７０】

実施例11：ProteOn解析：FcRn結合性

試験用の抗体を、第1級アミンカップリングにより、GLCバイオセンサーチップ（BioRad 176-5011）に、同程度のレベルまで固定化した。組み換えヒトおよびカニクイザルFcRnを、2048nM、512nM、128nM、32nM、および8nMにてアナライトとして用い、バッファーのみ（すなわち、0nM）の注入を、結合曲線をダブルリファレンスする（double reference）ために用いた。FcRnの注入後の抗体表面の再生はpH9.0のHBS-Nを用い、アッセイを25℃にてProteOn XPR36 Protein Interaction Array Systemにかけ、適切なバッファー中に希釈されたFcRnを含むHBS-N pH7.4およびHBS-N pH6.0中で実行した。ProteOn解析ソフトウェアに備わっている平衡モデルを用いて、pH6.0での結合性については「Global R-max」を、pH7.4での親和性算出のためにはpH6.0での結合性からのR-maxを用いて、親和性を算出した。結合曲線はpH7.4では飽和に至らなかったので、得られた値は真の親和性でないようであるが、しかしながら、構築物を順位づけするために用いることができる。結果を表6に示し、これは、BPC1494およびBPC1496が、BPC1492と比較して、pH6.0でのヒトおよ

びカニクイザルFcRnに対して改善された親和性を有することを確認する。

【０１７１】

【表６】

表 6 ヒトおよびカニクイザル FcRn に結合する抗 TNFα構築物の親和性

BPC 番号	ヒト pH6.0 KD(nM)	ヒト pH7.4 KD(nM)	カニクイザル pH6.0 KD(nM)	カニクイザル pH7.4 KD(nM)
BPC1492	554	21200	579	29700
BPC1494	204	2320	239	2640
BPC1496	144	1910	154	2100
BPC1497	428	15500	464	20800
BPC1498	357	5910	402	6280
BPC1493	264	4390	295	4690

【０１７２】

実施例12：ヒトFcRnトランスジェニックマウスでのPK試験

単一用量薬物動態試験では、BPC1494およびBPC1492を、FcRnヒト化マウスの2種類の異なる系統およびFcRnを欠損する1系統に、1mg/kgにて静脈内（IV）投与した（Petkova et al. Int. Immunol (2010) 18(12): 1759-1769）。適宜、有効なGyrolab蛍光免疫アッセイを用いて、BPC1494またはBPC1492について、血漿サンプルを分析した。

【０１７３】

方法は、捕捉抗原としてビオチン化ヒトTNFαおよび検出抗体としてAlexa標識抗ヒトIgG（Fc特異的）抗体を用いた。アッセイバッファーを用いて1：10に希釈されたマウス血漿のアリコートを用いて、定量下限値（LLQ）は100ng/mLであり、定量上限値（HLQ）は100,000ng/mLであった。最も低濃度の標準よりも低い血漿濃度は、定量可能でないとみなした。3種類の異なる濃度で調製され、試験サンプルと共に保存されたQCサンプルを、別個に調製された較正標準に対して、サンプルの各バッチと共に分析した。分析を許容可能とするために、各濃度での少なくとも1つのQCが、公称濃度から20％超まで逸脱していてはならない。この試験からのQC結果は、これらの許容基準を満たした。

【０１７４】

PK解析は、WinNonLinバージョン6.1を用いて非コンパートメント薬物動態解析により行なった。すべての演算が、公称血液サンプル採取回数を用いた。BPC1494およびBPC1492への全身曝露は、線形対数台形演算法（linear log trapezoidal calculation method）を用いて、投与開始から最後の定量可能な時点までの血漿濃度時間曲線下面積（AUC）（AUC_{0-t}）を算出することにより決定した。さらなるPKパラメータは、サンプルラベル付けでの食い違いに起因して、データから導き出すことができなかった。

【０１７５】

【表７】

表７- トランスジェニックマウスへの 1mg/kg の標的用量での単回静脈内投与(ボーラス)後の BPC1494 および BPC1492 についての薬物動態パラメータのまとめ

化合物	系統	Cmax (ug/mL)	AUC (hr*ug/mL)
BPC1494	1	13.8	2240
BPC1492		14.8	1730
BPC1494	2	12.0	1320
BPC1492		13.2	1060
BPC1494	3	13.6	214
BPC1492		12.2	250

系統 1 ＝ mFcRn-/- hFcRn (32) Tg/Tg
系統 2 ＝ mFcRn-/- hFcRn (276) Tg/Tg Rag1-/-
系統 3 ＝ mFcRn -/-/Rag1-/-

【０１７６】

すべての群において、同様のC_{max}濃度が得られた。両方のヒトFcRnノックインマウス系統では、BPC1494はBPC1492よりも高い曝露（AUC_{0-t}）を有したが、この差異は顕著でなかった（1.3倍）。ヒトおよびマウスFcRnの両方の不在下では、BPC1492はBPC1494よりも高い曝露を有した。

【０１７７】

実施例13：pEFベクターへの抗体発現ベクターのクローニング

一部のケースでは、標準的な分子生物学的技術を用いて、重鎖および軽鎖に対する発現カセットをコードするDNAを、HindIIIおよびEcoRIを用いて実施例3に記載のベクターから切り出し、pEFベクター（発現がhEF1aプロモーターから生じる）へとクローニングした（ベクターの説明に関して、Kotsopoulou et al J. Biotechnol (2010) 146: 186-193を参照されたい）。

【０１７８】

【表８】

表 8

BPC コード	Fc 改変	重鎖発現ベクター	軽鎖発現ベクター	重鎖配列番号	軽鎖配列番号
BPC1492	なし	SJC330	SJC329	12	2
BPC1494	M252Y/S254T/T256E	SJC331	SJC329	5	2
BPC1496	M428L/N434S	SJC332	SJC329	9	2

【０１７９】

実施例14：pEF発現ベクターを用いたCHO細胞での抗体の発現

重鎖および軽鎖をコードする発現プラスミドをCHO DG44細胞に同時トランスフェクションし、抗体を生成する規模で発現させた。BPC1492の生成のために、プラスミドSJC329およびSJC330を用いた。BPC1494の発現のために、プラスミドSJC329およびSJC331を用いた。BPC1496のために、プラスミドSJC329およびSJC332を用いた。

【０１８０】

簡潔には、30μg DNA（15μg重鎖および15μg軽鎖）を、Not1制限酵素を用いて一晩、

直線化した。次に、得られた制限DNAをエタノール沈殿し、TEバッファー中に再溶解した。培養物から、6×10^{6}個のCHO DG44細胞を取得し、10mLのPBS中で洗浄した。次に、細胞ペレットを300μLのAmaxa溶液Vに再懸濁した。次に、100μLの上記の細胞懸濁液を3つのAmaxaキュベットのそれぞれに添加し、このキュベットは、3μgの直線化DNAも含んだ。キュベットをAmaxa nucleofector IIデバイスに挿入し、プリセットプログラムであるU-023を用いてエレクトロポレーションした。エレクトロポレーションした細胞の3つのキュベットの内容物（300μL）を、10mLの温めたMR14培地（ヌクレオシドおよびBSAを含有する）に加え、T75フラスコ中で48時間インキュベートした。この時間に続いて、培地をヌクレオシド不含MR14（BSAのみを含有するMR14）に交換した。3～4日毎に、馴化培地を除去し、新しい選択培地と交換した。細胞が回復したら、培地を2×MR14に置換し、IgG発現を比濁法（nephlometry）により確認した。2L振盪フラスコに、1LのIgG発現細胞を0.6×10^{6}個/mLで添加し、7日間増殖させた。遠心分離により上清から細胞を分離し、上清をタンパク質精製に用いた。

【０１８１】

1リットルの細胞培養上清を、AKTA Xpressシステムにて二段階自動化プロセスを用いて精製した。抗体を5mLのMabSelectSureカラム上に捕捉し、続いて洗浄し、その後、溶出した。溶出された抗体を、次に440mL Superdex 200ゲルろ過カラムにロードし、2mL画分を96ウェルブロックに回収した。精製された抗体の画分をプールし、0.2μmろ過し、次に、Amiconスピン濃縮器（Amicon spin concentrator）を用いて約5mg/mLまで濃縮した。最終物を再度0.2μmろ過し、次に、運搬のために滅菌チューブに分注した。最終物を、凝集を測定するための分析SEC、エンドトキシンアッセイ、精密質量決定のためのLC-MS（グリコシル化を測定するためのPNGaseFおよび未処理材料が含まれる）、SDS-PAGE電気泳動、配列確認のためのPMFおよび濃度測定のためのA280に供した。

【０１８２】

実施例15：pEF発現ベクターを用いたCHO細胞での抗体の発現のための代替法

DHFR-null CHO DG44細胞は、コロンビア大学のChasin博士から入手した。これらの細胞を、続いて、化学的組成既知培地に適応させた。これらの適応された宿主細胞はDG44-cと表示され、GlutamaxおよびHT添加物を添加された、独占所有権のある（proprietary）化学的組成既知培地中で培養される。

【０１８３】

ポリクローナルプールの作製：プロトコールのさらなる詳細については、国際公開第2009024567号およびKotsopoulou et al, J. Biotechnol (2010) 164(4): 186-193を参照されたい。簡潔には、DG44-c細胞を、重鎖および軽鎖およびDHFRおよびneoRをそれぞれコードするプラスミドを用いて、エレクトロポレーション（Amaxa nucleofectorシステムを用いる）によりトランスフェクションした。トランスフェクションの48時間後、G418（400μg/mLの最終濃度）の添加およびHTの除去により選択を開始した。生存率および細胞カウントが十分に増大した際に（このケースでは、トランスフェクションの2ヵ月後）、メトトレキサート（MTX）を最終濃度5nMで添加した。細胞をスケールアップし、MTX添加の9～16日後に産生曲線を開始した。これらの産生曲線のために、細胞を0.6～0.8×10^{6}細胞/mLで化学的組成既知培地中に播種し、第6日、第9日または第10日、第12日または第13日および/または第16日に栄養供給した。生存率が約50％まで低下した際に上清を回収し、4000gにて30分間の遠心分離およびそれに続くSartobranカプセルを通すろ過により細胞を除去した。

【０１８４】

抗体は、二段階クロマトグラフィー法を用いて室温にて精製した：最初の捕捉は、50mL MabSelect SuReカラム（GE Healthcare社）およびそれに続く1.5L Superdex 200 pg SEC（GE Healthcare社）を用いるサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）を用いて行なった。馴化培地を、予め平衡化したMabSelect SuReカラムに9cm/hの流速でロードした。平衡化バッファー（50mm Tris pH8.0、2M NaCl）を用いたベースラインまでの洗浄後に、伝導度が安定するまで、低塩緩衝バッファー（low salt buffer buffer）（50mM NaCl Tris pH8

.0、150mM NaCl）を用いてカラムを洗浄した。次に、溶出バッファー（25mMクエン酸塩 pH2.5）を用いてカラムを溶出した。ピークタンパク質溶出に対応する画分を、1/10volの1.0M Tris pH8.0を用いて直ちに中和し、次にこれらの画分をプールして、0.2μmボトルトップフィルターを通してろ過した。回収されたサンプルを、SECバッファー（50mM酢酸ナトリウム、150mM NaCl）を用いて予め平衡化したSECカラムへと21cm/hでロードした。主要（単量体）タンパク質ピークを含有する画分をプールし、フィルター滅菌した。

【０１８５】

この方法により調製された抗体は、下記の実施例に概要を示される分析的比較試験のために用いた。

【０１８６】

実施例16：ストレス付加サンプルおよび対照サンプルに対する比較分析

タンパク質の凝集レベルを測定するために、サイズ排除クロマトグラフィーを行なった。最適化された方法は、100mMリン酸ナトリウム、400mM NaCl、pH6.8の中で平衡化されたTOSOH TSK G3000SWXLカラムへのサンプルの注入を含んだ。280nmおよび214nmの両方で、吸光度を測定した。逆相HPLCは、タンパク質とそのアイソフォームを、疎水性に基づいて分離する。タンパク質をPLRP-S 1000°A 8μmカラムに注入し、50％ギ酸、および95％アセトニトリルにより作製された勾配を用いて溶出した。280nmで吸光度を測定した。分子の純度は、合計ピーク面積に対する主要ピーク面積の割合（％）として報告される。mAbの種々のアイソフォームを、キャピラリー等電点電気泳動（cIEF）を用いてそれらのpI値に基づいて分離した。IEF分離は、10cmのUV280透過性カートリッジキャピラリーにて行なった。最適化された方法は、5％のpH3～10両性電解質、10mM NaOH、対象となるタンパク質および内部pIマーカー（7.05および9.5）を含有する溶液を含み、これを、圧力注入によりキャピラリーに充填した。

【０１８７】

抗体（アダリムマブ、BPC1494、BPC1496）の比活性を、MSDを用いて測定した。簡潔には、96ウェルプレートを、PBS中に1μg/mLまで希釈したTNFαをウェル当たり50μL用いてコーティングした。プレートを、2時間、振盪せずに周囲温度で実験台の上でインキュベートした。コーティング溶液を除去し、0.05％ポリソルベート20を含むPBS中の1％BSAをウェル当たり50μL用いて、プレートをブロッキングした。プレートを400rpmにて振盪しながら24℃で1時間インキュベートし、次に、洗浄バッファーを用いて4回洗浄した。抗体を、0.05％ポリソルベート20を含むPBS中の0.1％BSAの中に希釈し、30μLの各サンプルをプレートに添加した。プレートを400rpmにて振盪しながら24℃で1時間インキュベートした。次に、プレートを、洗浄バッファーを用いて4回洗浄した。抗ヒトIgG スルホタグを、アッセイバッファー中で1/5000に希釈した。30μLをプレートの各ウェルに加え、次に、400rpmにて振盪しながら24℃で1.5時間インキュベートした。続いて、プレートを、洗浄バッファーを用いて4回洗浄した。4×MSD Read Buffer濃縮液を、脱イオン水を用いて1×まで希釈した。次に、100μLをプレートのウェル毎に加えた。続いてプレートをMSD Sector Imager装置を用いて読み取った。アッセイから取得されたシグナルから、分子の比活性を算出した。

【０１８８】

脱アミド化分析

脱アミド化は、一般的な翻訳後修飾であり、アスパラギンおよびグルタミン残基に起こり得るが、最も一般的にはアスパラギン残基で、特にグリシン残基と隣り合っている場合に見られる。これらの残基がどの程度感受性であるかを調べるため、および効力に対する脱アミド化の効果を測定するために、アダリムマブ、BPC1494およびBPC1496をストレス試験に供した。ストレスは、1％重炭酸アンモニウム中でpH9.0にて48時間のインキュベートにより行ない、この条件は、脱アミド化を引き起こすことが以前に示されている。ストレスをかけたサンプルを対照（PBS中）と並行してインキュベートし、これと、ならびに未ストレス付加参照と比較して、c-IEF、SECおよび結合ELISAを用いて分析した。強制的脱アミド化もまた、EDTAの存在下および非存在化にて、すべてのサンプルに対して行なった

。強制的脱アミド化条件は、脱アミド化に加えて断片化も引き起こすことが以前に示されている。EDTAは、断片化を防止し、かつ/または最小化する。

【０１８９】

酸化分析

様々な残基の酸化が、タンパク質のプロセシングおよび保存中に起こり得るが、最も一般的に酸化される残基はメチオニンであり、このスクリーニングでの焦点であった。これらの残基の酸化感受性を、5mMおよび50mM H_2O_2の中での30分間のインキュベーションによるストレス条件への曝露を通じて調べ、RP-HPLC、SECおよびELISAを用いて評価した。

【０１９０】

結果のまとめ

BPC1494およびBPC1496の両方が、ストレス付加サンプルおよび対照サンプルの両方に対する比較分析により示される通りに、アダリムマブと比較して非常に好ましく振る舞う。試験したすべての抗体において、用いたすべての分析技術により示される通り、強制的酸化条件下で有意な分解は観察されなかった。c-IEFにより測定される場合の有意な脱アミド化は、試験したすべての抗体に対して予測される通りpH9.0で観察された。さらに、本発明者らは、EDTAを用いないサンプルでpH9.0にてSECにより示される通りに、試験したすべての抗体に対して有意な断片化を見出し、これもまた予測された通りである。アダリムマブと比較して、BPC1494のpI値が低下している（約0.2）。これは、分子をより酸性にする、BPC1494の重鎖配列中の追加のグルタミン酸残基の存在に起因する。強制的脱アミド化および酸化は、結合性には最小限の影響を有し、これは、BPC1494、BPC1496およびアダリムマブにおいて観察された。

【０１９１】

実施例17：ELISAによる改良型抗体の結合性の分析

抗体BPC1499、1500および1501を、実施例4に記載した通りに、ELISAにより結合活性について評価した。2種類の異なる抗原コーティング濃度（0.1および1.0μg/mL）を用いて、抗体は、BPC1492と比較した場合にその結合プロフィールにいかなる差異も示さなかった。試験した条件下では、ELISAは、異なる報告された結合活性を有する抗体同士を区別しないように見える。同じ抗体を、より感度が高いアッセイであると考えられる実施例18、5および6に記載された方法を用いて評価した。これらのアッセイでは、抗体BPC1499、1500および1501は、BPC1492と比較した場合に、改善された結合親和性および改善された効力を示す。

【０１９２】

実施例18：捕捉表面を用いたTNFα結合性のBiacore分析

プロテインAおよび抗ヒトIgG（GE Healthcare社、BR-1008-39）を、CM3バイオセンサーチップ上の別個のフローセルにカップリングした。これらの表面を、結合性分析のために抗体を捕捉するために用いた。組み換えヒトおよびカニクイザルTNFαを64nM、21.33nM、7.11nM、2.37nM、0.79nMにてアナライトとして用い、バッファーのみ（すなわち、0nM）の注入を、結合曲線をダブルリファレンスする（double reference）ために用いた。捕捉表面の再生は、100mMリン酸および3M $MgCl_2$を用いて行なった。実験は、ランニングバッファーとしてHBS-EPを用いて、37℃にてBiacore T100マシンで行なった。構築物BPC1494およびBPC1496は、プロテインAおよび抗ヒトIgG表面に対する低下した結合性を示し、このことは、これらの表面を、それらの分子に対する反応速度論を生成するために不適切なものとした。

【０１９３】

【表９】

表９ 捕捉された抗 TNFα抗体に対するヒトおよびカニクイザル TNFα結合性の反応速度論解析

構築物	アナライト	捕捉表面	ka(1/Ms)	kd(1/s)	KD(nM)
BPC1492	ヒト TNFα	プロテイン A	2.12E+06	1.10E-04	0.05196
BPC1494	ヒト TNFα	プロテイン A	データ解析不可能		
BPC1496	ヒト TNFα	プロテイン A	データ解析不可能		
BPC1500	ヒト TNFα	プロテイン A	2.68E+06	4.19E-05	0.01561
BPC1492	ヒト TNFα	抗ヒト IgG	6.78E+06	1.73E-04	0.02554
BPC1494	ヒト TNFα	抗ヒト IgG	データ解析不可能		
BPC1496	ヒト TNFα	抗ヒト IgG	データ解析不可能		
BPC1500	ヒト TNFα	抗ヒト IgG	4.51E+06	7.07E-05	0.01568
BPC1492	カニクイザル TNFα	プロテイン A	1.10E+06	1.11E-04	0.101
BPC1494	カニクイザル TNFα	プロテイン A	データ解析不可能		
BPC1496	カニクイザル TNFα	プロテイン A	データ解析不可能		
BPC1500	カニクイザル TNFα	プロテイン A	2.34E+06	3.51E-05	0.01503
BPC1492	カニクイザル TNFα	抗ヒト IgG	1.96E+06	3.75E-04	0.1911
BPC1494	カニクイザル TNFα	抗ヒト IgG	データ解析不可能		
BPC1496	カニクイザル TNFα	抗ヒト IgG	データ解析不可能		
BPC1500	カニクイザル TNFα	抗ヒト IgG	4.48E+06	2.09E-04	0.04667

【０１９４】

実施例19：ProteOn逆転アッセイ結合性分析

ビオチン化TNFαをビオチン化BSAと1：49の比率で、最終総タンパク質濃度20μg/mLにて混合した（すなわち、0.4μgビオチン化TNFαおよび19.6μgビオチン化BSA）。この混合物を、NLCバイオセンサーチップ（単一フローセル）（Biorad社、176-5021）上に捕捉した。チップ表面を、安定したシグナルが得られるまで、10mMグリシンpH3.0を用いて馴化した。試験対象の抗体は、256nM、64nM、16nM、4nMおよび1nMおよび0nMでアナライトとして用いた。結合曲線は、ビオチン化BSAのみでコーティングしたフローセルを基準とした。再生は、10mMグリシンpH3.0を用いて達成した。データは、ProteOn解析ソフトウェアに備わっている1：1モデルにフィッティングした。

【０１９５】

【表１０】

表 10 Neutravidin 捕捉 TNFαに対する抗 TNFα抗体結合性の見かけの反応速度論

BPC 番号	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
BPC1499	2.27E+06	1.72E-05	0.008
BPC1500	2.06E+06	3.00E-05	0.015
BPC1501	1.17E+06	6.97E-05	0.06
BPC1496	6.33E+05	4.04E-04	0.639
BPC1494	7.23E+05	3.50E-04	0.484
BPC1492	7.89E+05	3.21E-04	0.407

【０１９６】

このデータは、実施された2回の実験のうちの一セットである（2番目のセットは示していない）。データのKD順位づけは、両方のデータセットを代表する。

【０１９７】

実施例20：ヒトTNFαに結合する代替抗体の構築

CDR領域に改変を有する追加の可変重鎖領域をコードするDNA発現構築物（Rajpal et al. PNAS (2005) 102(24): pg 8466-8471に記載される通り）を、重複オリゴヌクレオチドの構築および実施例1に記載されたものと同様の分子生物学的技術により新規に調製した。これらの変異型抗体の可変重鎖ドメインをコードするDNA配列の例を、配列番号（SED IQ NO:）81、83、85、87、89、91、93および95に提供する。CDR領域に改変を有する追加の可変軽鎖ドメイン領域をコードするDNA発現構築物（Rajpal et al. PNAS (2005) 102(24): pg 8466-8471に記載される通り）を、重複オリゴヌクレオチドの構築および実施例1に記載されたものと同様の分子生物学的技術により新規に調製した。これらの変異型抗体の可変軽鎖ドメインをコードするDNA配列の例を、配列番号（SED IQ NO:）97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135および137に提供する。構築されたら、重鎖および軽鎖をコードする発現プラスミドを、HEK293 6E細胞へと一時的に同時トランスフェクションした。発現された抗体を上清から精製し、実施例6に記載されたものと同様の方法を用いて活性について評価した。

【０１９８】

実施例21：BPC2604（パスコリズマブ-YTE）のための発現ベクターの構築

パスコリズマブの重鎖をコードするpTTベースのDNA発現構築物を、Quikchangeプロトコール（Promega社）を用いて、以下の変更：M252Y/S254T/T256E（EUインデックス番号付け）を含むように遺伝子操作した。

【０１９９】

実施例22：PascoベクターおよびPasco-YTEベクターの発現/精製

BPC2604の重鎖および軽鎖をコードする発現プラスミドを、HEK293 6E細胞へと一時的に同時トランスフェクションした。発現された抗体を、5mL MabSelectSureカラムおよびSuperdex 200カラムをAKTA Xpress上で用いるアフィニティクロマトグラフィーおよびSECにより行なわれる二段階精製を用いて、バルク上清から精製した。

【０２００】

実施例23：FcRn結合性に関するPascoおよびPasco-YTEのBIAcore分析

抗体を、第1級アミンカップリングによりGLMチップ（酢酸塩pH4.5中20μg/mL）上に固定化した。ヒト、カニクイザル、ラットおよびマウスFcRn受容体を、2048、512、128、32および8nMで用いた。0nMは、ダブルリファレンスのために用いた。アッセイは、HBS-EP pH7.4およびHBS-EP pH6.0の中で実行した（各pHに対する適切なランニングバッファー中に

FcRn受容体を希釈）。200mM Tris pH9.0を用いて表面をFcRn結合のために再生させた。データは、いずれかの構築物の得られた最高R-maxに設定したR-maxを用いて、平衡モデルにフィッティングした。結果を以下の表11に示し、これは、YTE改変パスコリズマブ（BPC2604）が、FcRnに対してpH6.0でパスコリズマブと比較して改善された結合性を示すことを確認する。

【０２０１】

【表１１】

表 11: ヒトおよびカニクイザル FcRn に対する抗 IL-4 抗体構築物の親和性
（n.a.b.＝分析可能な結合性なし）

		pH6.0 での KD (nM): R-max = 1020				pH7.4 での KD (nM): R-max = 1020			
抗体	Fc 改変	ヒト FcRn	カニクイザル FcRn	マウス FcRn	ラット FcRn	ヒト FcRn	カニクイザル FcRn	マウス FcRn	ラット FcRn
BPC2604	M252Y/ S254T/ T256E	98	92.1	53.4	66.0	11600	11100	2160	4330
パスコリズマブ	なし	541	505	205	228	n.a.b	n.a.b	n.a.b	n.a.b

【０２０２】

実施例24：PascoおよびPasco-YTEのPK試験

図6は、1mg/mLの標的用量での単回静脈内（1時間点滴）投与後のメスカニクイザルでのパスコリズマブ-YTE（BPC2604）およびオスカニクイザルでのパスコリズマブの平均用量標準化血漿濃度を示す。BPC2604およびパスコリズマブに関するデータは、別個の試験から作成した。パスコリズマブおよびBPC2604についての血漿抗体濃度は、IL-4を捕捉試薬として用い、抗ヒトIgG（Fc特異的）HRPコンジュゲートを検出試薬として用いて、化学発光ELISAにより評価した。アッセイの有効範囲は、50～5000ng/mLであった。結果を図6に示す。両方の化合物が同様のCmaxを有したが、BPC2604は3倍低い血漿クリアランスを有し、それにより、AUCの3倍の増大および半減期（T1/2）の2倍の増大を生じた。

【０２０３】

実施例25：オスカニクイザルでの皮下投与後のBPC1494の血漿濃度

反復投与薬物動態試験では、BPC1494を、オスカニクイザルに対して、30または100mg/kgで4週間、1週間に1回または2週間に1回皮下投与した。第2群（n＝3）では、動物は第1日に2×30mg/kgの用量を投与され（約1時間間隔）、続いて第8日、第15日、および第22日に単回30mg/kg用量を投与された。第3群（n＝3）では、動物は第1日に2×30mg/kgの用量を投与され（約1時間間隔）、続いて第15日に単回30mg/kg用量を投与された。第4群（n＝3）では、動物は第1日に2×100mg/kgの用量を投与され（約1時間間隔）、続いて第15日に単回100mg/kg用量を投与された。血漿サンプルを、試験の投与相および回復相にわたって、定期的に採取した。

【０２０４】

血漿サンプルを、サンプル希釈およびそれに続く免疫アッセイ分析に基づく適格な分析方法を用いてBPC1494について分析した。血漿サンプルを、BPC1494またはBPC1492について分析した。方法は、捕捉抗原として10μg/mLのビオチン化組み換えヒトTNFαを用い、検出抗体として1：100希釈のAlexaFluor 647標識抗ヒトIgG（Fc特異的）抗体（G18-145）を用いた。BPC1494に対する定量下限値（LLQ）は、100倍希釈サル血漿の50μLアリコートを用いて1μg/mLであり、定量上限値（HLQ）は100μg/mLであった。データを取得および

定量するために本試験で用いたコンピュータシステムは、Gyrolab Workstation Version 5.2.0、Gyrolab Companion version 1.0およびSMS2000 version 2.3を含んだ。PK解析は、WinNonlin Enterprise Pheonix version 6.1を用いて、非コンパートメント薬物動態解析により行なった。

【０２０５】

薬物動態データを表12に提示し、この表は、30mg/kg/週用量群（2）に対して第4週で投与された最終用量から投与840時間後の時点（t）までに測定されたパラメータならびに30および100mg/kg/2週用量群（3および4）に対して第3週で投与された最終用量から投与1008時間後の時点（t）までに測定されたパラメータを含む。

【０２０６】

【表１２】

表 12: 4 週間の調査研究にわたる 30mg/kg/週または 30 および 100mg/kg/2 週での BPC1494 の皮下投与後のオスカニクイザルでの BPC1494 についての個々のおよび平均薬物動態パラメータ

用量 (mg/kg/2 週)	動物番号	薬物動態パラメータ b						
		AUC0-t (mg.h/mL)	Cmax (mg/mL)	中央値 Tmax (h)	t½ (h)	MRT (h)	推定 c CL_F (mL/h/kg)	推定 c Vz_F (mL/kg)
30a	P12M-272	923	1.51	168	616	367	0.125	111
	P12M-273	758	1.29	168	604	368	0.141	123
	P12M-274d	21.3	0.135	24	226	142	3.01	978
	平均	841 (568)	1.40 (0.977)	168	610 (482)	367 (292)	0.133 (1.09)	117 (404)
30	P12M-275	743	1.08	24	420	419	0.115	69.5
	P12M-276	538	2.31	48	197	307	0.141	40.2
	P12M-277d	239	1.09	24	123	189	0.217	38.6
	平均	641 (507)	1.70 (1.49)	36 (24)	309 (247)	363 (305)	0.128 (0.158)	54.9 (49.4)
100	P12M-278	2760	5.89	24	398	374	0.0998	57.3
	P12M-279	2480	5.21	72	332	362	0.131	62.9
	P12M-280	2080	4.10	72	331	364	0.123	58.8
	平均	2440	5.07	72	354	367	0.118	59.7

a) 第 2 群の動物は、1 週間に 30mg/kg を 4 週間投与された。
b) 30mg/kg/週に関しては第 4 週で投与された最終用量から投与 840 時間後の時点(t)までに測定された薬物動態パラメータおよび 30 および 100mg/kg/2 週に関しては第 3 週で投与された最終用量から投与 1008 時間後の時点(t)までに測定された薬物動態パラメータ。
c) Cl_F および Vz_F は、複数用量後の排出相およびまだ達成されていない定常状態による推定値である。パラメータ推定値は、i) AUC0-168 または 336 を用いて、ii) 半減期に基づく第 1 週からのデータの外挿および iii) AUC0-inf を有する所定のサンプリングにわたる合計用量を用いて算出された。
d) 動物 274 および 277 は、これらの動物が抗薬物抗体応答を示しているようであるという科学的判断に基づいて、平均薬物動態計算から排除されている。カッコ内に示される平均データは、これらの動物を含めている。

【０２０７】

実施例26：プロテインL捕捉抗TNFα mAbに対するFcRnのSPR結合性分析

本試験は、ProteOnTM XPR36（BioRadTM）バイオセンサーマシンを用いて行ない、これは、標識不要反応速度論/親和性測定のために設計された表面プラズモンに基づく装置である。プロテインLを、第1級アミンカップリングによりGLMチップ（BioRad社、カタログ番号：176-5012）上に固定化した。次に、この表面を用いてヒト化抗体を捕捉し、続いて、ヒトおよびカニクイザルFcRn（両方とも自社材料）を2048nM、512nM、128nM、32nM、および8nMにてアナライトとして用い、バッファーのみ（すなわち、0nM）の注入を、結合曲線をダブルリファレンスする（double reference）ために用いた。プロテインL表面の再生は、グリシン-HCl pH1.5を用いて行なった。アッセイは25℃で行ない、適切なバッファー中に希釈されたヒトまたはカニクイザルFcRnを用いてHBS-EP pH7.4およびHBS-EP pH6.0の中で実行した。ProteOn解析ソフトウェアに備わっている平衡モデルを用いて、pH6.0での結合性については「Global R-max」を、pH7.4での親和性算出のためにはpH6.0での結合性からのR-maxを用いて、親和性を算出した。結合曲線はpH7.4では飽和に至らなかったので、得られた値は真の親和性でないようであるが、これらを、試験した抗体の結合性を順位づけするために用いた。

【０２０８】

ヒトFcRnに関して、BPC1492、BPC1494およびBPC1496の異なるバッチの結合親和性を、プロテインLにより捕捉された抗体を用いて比較した。表17は、この形式を用いる実験のシリーズからの結果を示す。データは、pH6.0およびpH7.4の両方で、BPC1492と比較して、BPC1494およびBPC1496が組み換えヒトFcRnに対して改善された親和性を有することを確認する。BPC1492と比較したFcRnに対するBPC1494の結合親和性の改善倍率は、捕捉時のプロテインL活性の変化に起因して、実験間で異なる。しかしながら、表13に示された実験では、pH6.0での結合親和性の改善倍率は、3.5倍～16.3倍である。中性pHでのFcRnに対するヒトIgGの弱い結合活性のために、pH7.4での結合親和性の改善倍率を決定することは不可能であった。

【０２０９】

カニクイザルFcRnに対するBPC1492、BPC1494およびBPC1496の異なるバッチの結合親和性もまた、プロテインLで捕捉された抗体を用いて比較した。表14は、この形式を用いる実験からの結果を示す。データは、pH6.0およびpH7.4の両方で、BPC1492と比較して、BPC1494が組み換えカニクイザルFcRnに対して改善された親和性を有することを確認する。BPC1492（394～398nMの範囲）と比較したカニクイザルFcRnに対するBPC1494（41.8～46.8nMの範囲）の結合親和性の改善倍率は、pH6で約9倍である。FcRnに対するBPC1492の弱い結合活性のために、pH7.4での結合親和性の改善倍率を決定することは不可能であった。

【０２１０】

【表１３】

表 13 プロテインＬ捕捉法を用いた組み換えヒト FcRn 結合親和性

		親和性 KD (nM)								
		BPC1492			BPC1494			BPC1496		
		バッチ			バッチ			バッチ		
実験	pH	HEK 1406	HEK 1348	CHO 臨床グレード	HEK 1407	HEK 1350	GRITS 42954	HEK 1352	HEK 1408	GRITS 42955
5	6	320.0	325.0	315.0	6.08**	24.9	26.2	14.3	16.9	15.4
	7.4	NAB	NAB	NAB	2020**	12600	11700	8980	9830	9670
4	6	50.9	54.8	55.5	1.33	4.05	4.50	2.35	3.60	2.33
	7.4	NAB	NAB	NAB	303	5270	4740	6820	7550	7550
3	6	16.0	16.8	17.3	0.701	1.960	2.430	2.200	4.140	1.810
	7.4	NAB	NAB	NAB	1760	10500	10900	7830	8050	8460
2	6	13.1	12.9	13.9	##	0.359	0.979	0.978	2.440	0.546
	7.4	NAB	NAB	NAB	2010	9190	9330	10900	9480	9550
1	6	ND	234	ND	ND	66	ND	ND	85	ND
	7.4	ND	NAB	ND	ND	NAB	ND	ND	2010	ND

** - データ点は報告されているが、これらのデータは本実験中に同じ分子の他のバッチに関して得られたデータとの整合性がないので、値は注意して取り扱わなくてはならない。
NAB ＝ 分析可能な結合性なし
ND ＝ この実験では試験していない
＝ 高親和性結合 – 装置の感度を超過

【０２１１】

【表１４】

表 14 プロテインＬ捕捉法を用いた組み換えカニクイザル FcRn 結合親和性

バッチ番号	構築物	pH6 KD (nM)	pH7.4 KD (nM)
GRITS44463	BPC1494	46.8	14800
MCB16Marc2012	BPC1494	41.8	13300
GRITS42954	BPC1494	43.2	13700
臨床グレード	BPC1492	394	結合性なし
GRITS44348	BPC1492	398	結合性なし

【０２１２】

実施例27

BPC1494の商業的生産で用いるべき最終産生細胞株の開発、実行、および選択の間に、細胞株のプラットホーム間の変動が観察された。生成物の品質は、生成物を発現するために用いた細胞株プラットホームに応じて変化した。例えば、材料の生成に用いられた最初のプラットホームでは、％主要アイソフォームのレベル（cIEFにより分析）は60％であり、最終産生細胞株を選択するために用いられた第2のプラットホームでは、クローンに応じて、％主要ピークアイソフォームは49％から36％まで変化した。さらに、第2プラット

ホームで生成されたクローンは、長期の細胞培養期間にわたって、より一貫したプロフィールを分泌した。第2プラットホームのこの時間依存的一貫性（図7を参照されたい）は、一貫した様式で目標の仕様を満たすことが可能な製造プロセスに求められるバッチ間での生成物プロフィール堅牢性および再現性を得る上で、重要な特徴である。結果として、この生成物を開発するために用いられた細胞株プラットホーム間で観察された変動は、臨床的製造作戦のために一貫した堅牢な生成物プロフィールを生成することが可能な、より好ましいクローンの特定を可能にした。

【０２１３】

実施例28

BPC1494に関する製造チャレンジは、少なくとも二次元である：(i)第1に、商業的提示での目標である30～45％の主要アイソフォーム生成物プロフィールを支持および維持することができる製剤を特定すること、および(ii)第2に、抗TNF抗体のこのクラスの皮下送達に対して快適な患者体験を提供するpHを有する製剤を特定すること。特に、この第2の論点は、非臨床的家庭環境での完全な患者コンプライアンスを保証するために重要である。

【０２１４】

そのような製剤を見出すための努力において、本発明者らがまたさらに関心を寄せたのは、BPC1494が典型的なCh2よりも低い融解プロフィールを示すという観察であった。ジェネリック製剤中の他のmAbと比較した場合に、BPC1494は、熱力学的に不安定化されているように見える。

【０２１５】

【表１５】

表 15

プラットホーム中 1mg/ml mAb	T onset	Tm1	Tm2	Tm3	合計面積
60C/h	*°C*	*°C*	*°C*	*°C*	*kcal/mol*
BPC1494	**51**	**60.8**	**71.5** **74.8**	82.9	1020
mAbA	58	68.0	73.2	83.0	999
mAbB	58	68.3	74.5	82.2	1098
mAbC	58	68.9	76.2	83.0	962
mAbD	59	67.8	83.7	86.7	1429
mAbE	60	68.1	73.7	82.7	1032
mAbF	63	73.4	82.2	84.5	922

【０２１６】

BPC1494に関して、YTE三重突然変異は、CH2ドメインを低TonsetおよびTm1へと不安定化させるようであり、このことは、低い安定性と相関し得る。図8Aを参照されたい。凝集は、CH2ドメインでの著明な構造変化と関連するように見える。

【０２１７】

結果として、第3の次元もまた、製剤チャレンジに付加された：CH2ドメインのTmを増大させ、それにより、より安定な生成物プロフィールおよび長い保存寿命を提供するであろ

う製剤を特定すること。

【０２１８】

これらの理由のために、本発明者らは、著しい数の手段およびアイデアを模索し、最終的に、かつ驚くべきことに、3つ要求すべてを実際に実行することができる製剤レシピの発見に到り；すなわち、本発明者らの目標でありかつ所望の％主要生成物ピークプロフィールを安定的に維持することが可能な製剤、非臨床的環境での患者による自己投与のために快適なpHの製剤、ならびに観察される典型的なCh2よりも低い未フォールディング特性を増大および安定化させることができる製剤である。

【０２１９】

BPC1494に関して、複数の分解経路が存在するようである：例えば、以下のすべてまたは一部分の可能性のある組み合わせである：

・凝集

・断片化：Cu切断部位（LT）＝7；加水分解部位（NP、NY）＝2；酸触媒切断を受けやすい部位（DG、DP、DY）＝8［1箇所のAsp-Pro部位］

・脱アミド化：可能な脱アミド化部位（NG、NN、NS、NT、またはNP）＝10；脱アミド化が起こり得る部位（SNG、LNG、LNN、ENN）＝3；アスパルチル異性化部位の合計数（GD）＝1

・酸化：CH2不安定化は、酸化しやすい傾向の増大を予測する｛4個のMet残基に留意されたい｝。

【０２２０】

実施例29：pH－バッファー試験：材料および方法

試験は、50mg/mLのmAb濃度で行なった。DOE計画は、3×5全要素（full factorial）であった。サンプルを、バイアル当たり1mLで充填されたガラスバイアル中で40℃にて1ヵ月間、ストレス付加した。試験は、DSC（初期、i）、SEC、およびcIEF（ストレス付加）を含んだ。試験した要素は表16に示し、すべての被験サンプルを表17に示す。

【０２２１】

【表１６】

表 16

要素 1 **バッファータイプ** **(3 レベル)、50 mM**	**要素 2** **pH** **(5 レベル)**
酢酸塩 (pKa 4.76) **ヒスチジン [His] (pKa 6.04)** **コハク酸塩 (pKa 4.21, 5.64)**	5.0 5.5 6.0 6.5 7.0

【０２２２】

【表１７】
表 17

パターン	バッファータイプ	pH
11	酢酸塩	5.0
12	酢酸塩	5.5
13	酢酸塩	6.0
14	酢酸塩	6.5
15	酢酸塩	7.0
21	ヒスチジン	5.0
22	ヒスチジン	5.5
23	ヒスチジン	6.0
24	ヒスチジン	6.5
25	ヒスチジン	7.0
31	コハク酸塩	5.0
32	コハク酸塩	5.5
33	コハク酸塩	6.0
34	コハク酸塩	6.5
35	コハク酸塩	7.0

【０２２３】
図9Aおよび図9Bに示される通り、Tm1およびTm2は、pHと共に上昇する。このDSC実験は、pH≦6での増大した熱力学的/コンホメーション安定性を予測する。
【０２２４】
実施例30：逆転する熱安定性および物理的/化学的安定性の傾向
コンホメーション安定性はpHの低下に伴って低減するが、凝集に対する抵抗性は改善する。pH5.25～6.25は、安定かつ堅牢なpH範囲と特定することができる。ヒスチジンpH6.0は、安定および堅牢の両方であるようであり（コンホメーション安定性とオリゴマー化傾向との間の妥協点）；このHisバッファー系が、賦形剤添加により、後にTmが改善される場合があるという理解を伴って提案される。
【０２２５】
図10(A)物理的安定性［cIEF］：熱安定性との非線形相関。最良の物理的安定性は、ヒスチジンpH5.0～6.5で観察される。
【０２２６】
図10(B)化学的安定性［SEC］：pH5.5～6.5のヒスチジンバッファーで堅牢かつ同等であるようである。増大した物理的安定性および製剤堅牢性が、ヒスチジンpH6.0で観察される。
【０２２７】
図10(C)熱力学的/コンホメーション安定性［DSC］：予想される通り、安定性はpH依存的である。バッファーに関係なく、pHの上昇に伴って増大する。バッファータイプに対する著明な依存は、比較的低いpH範囲で観察される。
【０２２８】

全般：ヒスチジンpH6.0が、安定および堅牢の両方であるようである。

【０２２９】

実施例31

賦形剤スクリーニング試験に対するHTF（高スループット製剤）アプローチ：材料および方法。試験は、50mg/mLのmAb濃度で行なった。DOE計画は、中心複合計画（CCD）であった。サンプルを、96ウェルポリプロピレンプレート中で40℃にて1ヵ月間、ストレス付加した。試験は、pH、および280nm、360nm、50nmでの吸光度測定、SECおよびcIEFを含んだ。試験した要素を、表18に示す。

【０２３０】

【表１８】

表 18

要素	タイプ	試験範囲	単位
ヒスチジン (His) pH	数値	5.0～6.5	
ヒスチジン濃度	数値	10～50	mM
塩:塩化ナトリウム (NaCl)	数値	0～150	mM
糖:トレハロース	数値	0～300	mM
アミノ酸タイプ	分類	アルギニン (Arg)、グリシン (Gly)	
アミノ酸濃度	数値	0～100	mM
抗酸化剤:メチオニン (Met)	数値	0～10	mM
界面活性剤:ポリソルベート 80 (PS80)	数値	0～0.04	%
8 要素、176 実験、2 プレート *試験タイプ:応答表面;初期計画:中心複合計画(CCD)モデル:二次;ブロックなし、非表示複製*			

【０２３１】

望ましさを最大化するための統計解は、以下の組成を示唆した：トレハロース、アルギニン、およびメチオニンを組み入れたHis系バッファー。BPC1494生成物製剤に対するHTF統計解は、以下の通り、4種類の応答（同じ重要度）に基づいた：%SEC-単量体、%SEC-HMW、%SEC-LMW、%cIEF-主要。これらの3種類の賦形剤は、増大した安定性および安定性空間の拡張の両方をもたらす。［-NaCl］に対するHTF統計解は、堅牢性範囲の狭小化を伴う、NaClを用いる安定性ランドスケープのシフトを示す。図11を参照されたい：

・図11A：0および300mMのトレハロース；
・図11B：100mMのアルギニン；
・図11C：0および50mMのNaCl。

メチオニンに関しては、データは示していない。

【０２３２】

実施例32：振盪試験を介したPS80レベルの最適化

30mM His pH6.0＋150mMトレハロース、50mM Arg、10mM Met、0.05mM EDTAの中に製剤化され、様々な濃度の界面活性剤（0、0.01％、0.02％、0.04％PS80）を含有する50mg/mL BPC1494を、ガラス高シリコーンPFSバイアル（0.8mL充填）およびガラスバイアル（1mL充填）の両方の中で、250rpmおよび25℃にて72時間振盪した。振盪したサンプルを、種々の分析法によって試験した。

【０２３３】

GA、pH、A280、SEC、およびcIEFによっては、生成物品質での、顕著な振盪誘導性の変化は検出されなかった。しかしながら、MFIを介した肉眼では視認できない粒子の試験は、PS80含有製剤を支持した。表19を参照されたい。

【０２３４】

【表１９】

表 19

製剤	T, C	MFI					
		#粒子	平均粒径, um	粒径範囲, um	< 10 um	> 10 um	> 25 um
50 mg/mL GSK2800528 30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA 中	*当初*	**17771**	2.98	2.00~88.00	17421	350	30
	振盪 - バイアル	**39707**	2.85	2.00~96.00	39063	644	82
50 mg/mL GSK2800528 30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, **0.01% PS80** 中	*当初*	9187	2.70	2.00~49.00	9088	99	11
	振盪 - バイアル	2035	2.94	2.00~32.00	1988	47	10
50 mg/mL GSK2800528 30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, **0.02% PS80** 中	*当初*	953	3.33	2.00~34.00	932	21	2
	振盪 - バイアル	1340	2.96	2.00~49.00	1312	28	2
50 mg/mL GSK2800528 30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, **0.04% PS80** 中	*当初*	1881	3.21	2.0.0~71.00	1817	64	5
	振盪 - バイアル	1587	2.74	2.00~48.00	1566	21	2
30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, **0.02% PS80**	*当初*	1266	4.06	2.00~31.00	1166	100	9
	振盪 - バイアル	287	3.99	2.00~42.00	269	18	2
	振盪- PFS (注ぎ込み)	**16687**	3.52	2.00~93.00	16225	462	5
	振盪- PFS (注入)	**114530**	3.00	2.00~79.00	112635	1895	6

【０２３５】

実施例33：プレフィルドシリンジ（PFS）での製剤安定性試験

50mg/mL製剤中でのBPC1494の安定性を評価するために、試験を行なった。用いた製剤を、表20にまとめる。

【０２３６】

【表２０】

表20 本試験で評価された製剤組成をまとめる。

表20: 安定性を評価するために試験された製剤組成		
記号	製剤	組成
A	等張性 高シリコーンPFS中	50 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80中
B	中程度の高張性 高シリコーンPFS中	50 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 6.0 + 225 mM トレハロース, 75 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80 中
C	Arg不含 高シリコーンPFS中	50 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80 中
D	Met不含 高シリコーンPFS中	50 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80 中
E	等張性 シリコーン不含PFS中	50 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80 中

【０２３７】

最初の4種類の上記製剤は、高シリコーンプレフィルドシリンジ（PFS）中に保存した。シリコーン不含PFSを用いる対照を、対照製剤Eとして含めた。

【０２３８】

サンプルを、－20℃、2～8℃、25℃および40℃で保存した。PFSは、それぞれの温度条件にて、トレイの中で、水平配置で保存される。

【０２３９】

この試験の結果（表21を参照されたい）は、試験したすべての製剤での、生成物の長期安定性を確認する。さらに、サンプルバッファーからアルギニンおよびメチオニンが除去されたサンプルと標的製剤を比較した場合に、昇温下にて、アルギニンおよびメチオニンが凝集からの保護を与えることが観察された（表21のSEC結果を参照されたい）。また、データはCaliper法を用いて作成され、結果はSECデータと合致する。質量分析データ（表22を参照されたい）はまた、メチオニンを含まない製剤と比較して、製剤への遊離メチオニンの添加による、酸化の2倍の減少も示す。データはまた、シリコーンがBPC1494の安定性に影響しなかったことも示す。

【０２４０】

表 21: 被験製剤の BPC1494 安定性試験結果

製剤	条件	時点	全般的外観	pH	浸透圧	タンパク質濃度	SEC-HPLC			cIEF	Biacore
				単位	(mOSm/kg)	(mg/mL)	% 単量体	% 凝集体	% LMWF	% 主要	比結合活性
A	当初	当初	透明, BY4-BY5, 視認できる粒子なし	6.0	340	51.6	94.7	3.8	1.5	38.8	0.92
	-20°C	6MN	透明, BY6-BY5, 視認できる粒子を基本的に含まない			52.1	94.9	3.8	1.4	37.5	0.95
	5°C	12MN	乳白色, BY4, 視認できる粒子を基本的に含まない			51.3	94.7	3.8	1.5	NT	0.91
	25°C	6MN	透明, BY5-BY4, 視認できる粒子を基本的に含まない			51.4	93.4	3.7	3.0	32.6	0.91
		12MN	乳白色, BY4, 視認できる粒子を基本的に含まない			51.2	91.8	3.9	4.3	NT	0.83
	40°C	1MN	透明, BY4-BY5, 視認できる粒子なし			51.0	93.3	3.6	3.2	32.7	0.83
		3MN	透明, BY3-BY4, 視認できる粒子を含まない			51.1	89.7	4.0	6.3	21.9	0.88
B	当初	当初	透明, BY4-BY5, 視認できる粒子なし	6.1	500	51.2	94.7	3.8	1.6	38.6	0.93
	-20°C	6MN	透明, BY5-BY4, 視認できる粒子を基本的に含まない			50.9	94.9	3.7	1.4	37.6	1.01
	5°C	6MN	透明, BY4, 視認できる粒子を基本的に含まない			50.6	95.0	3.6	1.5	37.6	1.03
	25°C	6MN	透明, BY5-BY4, 視認できる粒子を基本的に含まない			51.5	93.7	3.4	2.9	32.9	0.95
	40°C	1MN	透明, BY4-5, 視認できる粒子なし			51.6	93.6	3.3	3.1	33.2	0.83
		3MN	透明, BY3-BY4, 視認できる粒子を含まない			50.9	90.0	3.7	6.3	22.6	0.87
C	当初	当初	透明, BY4-BY5, 視認できる粒子なし	5.8	237	50.4	94.5	3.9	1.6	39.5	0.93
	-20°C	6MN	透明, BY4, 視認できる粒子を基本的に含まない			50.9	94.8	3.8	1.4	38.5	0.92
	5°C	12MN	乳白色, BY4, 視認できる粒子を基本的に含まない			50.9	94.2	4.3	1.5	NT	0.92
	25°C	6MN	透明, BY4-BY3, 視認できる粒子を基本的に含まない			52.2	92.6	4.3	3.1	32.5	0.97
		12MN	乳白色, BY4-BY3, 視認できる粒子を基本的に含まない			51.2	90.5	4.8	4.6	NT	0.89
	40°C	1MN	透明, BY4-5, 視認できる粒子なし			50.9	92.8	4.0	3.2	31.9	0.87
		3MN	透明, BY3-BY4, 視認できる粒子を含まない			50.3	88.7	4.8	6.6	21.1	0.86

D	当初	当初	透明, BY4-BY5, 視認できる粒子なし	6.0	319	51.4	94.6	3.9	1.5	38.6	0.92
	-20°C	6MN	透明, BY5-BY4, 視認できる粒子を基本的に含まない			50.4	94.8	3.8	1.4	38.4	0.97
	5°C	12MN	乳白色, BY4, 視認できる粒子を基本的に含まない			50.8	94.5	4.0	1.5	NT	0.94
	25°C	6MN	透明, BY4, 視認できる粒子を基本的に含まない			50.9	92.8	4.1	3.1	31.7	0.92
		12MN	乳白色, BY4-BY3, 視認できる粒子を基本的に含まない			50.8	90.7	4.8	4.5	NT	0.82
	40°C	1MN	透明, BY4-5, 視認できる粒子なし			51.0	92.9	3.9	3.2	32.2	0.80
		3MN	透明, BY3-BY4, 視認できる粒子を含まない			51.3	89.0	4.9	6.1	20.6	0.82
E	当初	当初	透明, BY4-BY5, 視認できる粒子なし	6.0	342	51.8	94.8	3.8	1.5	38.6	0.91
	-20°C	6MN	透明, BY4, 視認できる粒子を基本的に含まない			51.0	94.8	3.8	1.5	39.2	1.00
	5°C	12MN	乳白色, BY4, 視認できる粒子を基本的に含まない			50.6	94.6	3.8	1.6	NT	0.89
	25°C	6MN	透明, BY4-BY3, 視認できる粒子を基本的に含まない			51.1	93.1	3.7	3.2	33.7	0.92
		12MN	乳白色, BY4-BY3, 視認できる粒子を基本的に含まない			51.2	91.3	3.9	4.8	NT	0.89
	40°C	1MN	透明, BY4-5, 視認できる粒子なし			51.0	93.2	3.6	3.3	32.4	0.83
		3MN	透明, BY3-BY4, 視認できる粒子を含まない			51.1	89.3	4.2	6.6	21.7	0.90

NT = 試験していない

【０２４２】

【表２２】

表 22: BPC1494 安定性試験についての質量分析結果

製剤	条件	時点	ペプチドマップ						
			% 酸化				% 脱アミド化		
			HC 20-38	HC 77-87	HC 421-443	LC 1-18	HC 44-67	HC 306-321	HC 375-396
A	5°C	1MN	0.6	0.6	1.3	1.5	ND	<0.1	3.8
		6MN	0.2	0.2	1.5	0.3	<0.1	0.2	3.9
	25°C	1MN	0.2	0.1	0.9	0.3	ND	<0.1	3.7
		3MN	0.2	0.2	0.9	0.1	ND	<0.1	4.1
		6MN	0.4	0.4	2.0	0.6	<0.1	0.2	7.8
	40°C	1MN	0.2	0.1	1.4	0.4	ND	<0.1	7.1
		3MN	0.2	0.1	1.3	0.2	<0.1	0.2	10.8
B	25°C	3MN	0.3	0.3	1.0	0.4	ND	<0.1	4.1
	40°C	3MN	0.3	0.2	1.5	0.4	0.2	0.2	11.5
C	25°C	3MN	0.3	0.2	1.1	0.3	ND	<0.1	4.0
	40°C	3MN	0.2	0.2	1.3	0.2	0.3	0.1	9.5
D	5°C	6MN	0.3	0.2	2.2	0.3	<0.1	0.2	3.9
	25°C	1MN	0.4	0.4	0.9	0.8	ND	<0.1	4.4
		3MN	0.4	0.4	2.4	1.3	ND	<0.1	4.1
		6MN	0.6	0.2	5.2	0.4	<0.1	0.4	7.4
	40°C	1MN	0.5	0.3	3.1	0.8	ND	<0.1	7.3
		3MN	0.6	0.4	5.1	0.5	0.2	0.2	11.1
E	25°C	3MN	0.4	0.5	1.3	0.7	<0.1	<0.1	4.1
	40°C	3MN	0.3	0.3	1.5	0.4	0.3	0.2	10.9

ND = 測定していない

【０２４３】

実施例34：PFS中での製剤堅牢性試験

この試験の第1の目的は、BPC1494等張性製剤（実施例33に詳述）の堅牢性を評価することであった。

【０２４４】

試験の計画は、部分要素実験計画（partial factorial Design of Experiments）（DOE）に基づいた。試験では、この製剤組成の堅牢性を支持する選択範囲内でのmAbの安定性が評価およびモニタリングされた。

【０２４５】

表23には、標的製剤と比較した場合のmAb濃度、pH、および賦形剤濃度に関して試験した範囲をまとめる。

【０２４６】

【表２３】

表 23 - 製剤の堅牢性を評価するために試験された要素の範囲

要素	単位	範囲	低	標的	高
mAb	mg/mL	+/-10%	45	50	55
pH	単位	+/- 0.2 単位	5.8	6	6.2
Arg	mM	+/-20%	40	50	60
Met	mM	+/-50%	4	8	12
トレハロース	mM	+/-20%	120	150	180
EDTA	mM	+/-50%	0.025	0.05	0.075
PS80	%	+/-50%	0.01	0.02	0.03

【０２４７】

以下で表24に示される通り、9種類の製剤および3種類の対照が含められた。

【０２４８】

用いた対照は、バッファー対照（製剤1）、標的製剤（製剤2）および酢酸バッファー（製剤12）であった。バッファー対照は、Micro Flow Imaging（MFI）を用いる粒子テストに対する対照としての役割を果たすために含められ、このテストでは、光曝露に際して観察される何らかの変色が賦形剤分解を示し、最後に、相対比較目的のみのために、酢酸バッファー対照が含められる。

【０２４９】

【表２４】

表 24: サンプルのまとめ

製剤	条件	製剤
1	バッファー対照	30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80
2	標的	50 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80 中
3	低 mAb	45 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 6.2 + 180 mM トレハロース, 40 mM Arg, 4 mM Met, 0.025 mM EDTA, 0.03% PS80 中
4	低 mAb	45 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 5.8 + 180 mM トレハロース, 40 mM Arg, 12 mM Met, 0.075 mM EDTA, 0.01% PS80 中
5	低 mAb	45 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 6.2 + 120 mM トレハロース, 60 mM Arg, 4 mM Met, 0.075 mM EDTA, 0.01% PS80 中
6	低 mAb	45 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 5.8 + 120 mM トレハロース, 60mM Arg, 12 mM Met, 0.025 mM EDTA, 0.03% PS80 中
7	中心点	50 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 8 mM Met, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80 中
8	高 mAb	55 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 5.8 + 180 mM トレハロース, 60 mM Arg, 4 mM Met, 0.025 mM EDTA, 0.01% PS80 中
9	高 mAb	55 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 6.2 + 120 mM トレハロース, 40 mM Arg, 12 mM Met, 0.025 mM EDTA, 0.01% PS80 中
10	高 mAb	55 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 6.2 + 180 mM トレハロース, 60 mM Arg, 12 mM Met, 0.075 mM EDTA, 0.03% PS80 中
11	高 mAb	55 mg/mL BPC1494 30 mM His pH 5.8 + 120 mM トレハロース, 40 mM Arg, 4 mM Met, 0.075 mM EDTA, 0.03% PS80 中
12	酢酸塩対照	50 mg/mL BPC1494 50 mM 酢酸ナトリウム pH 5.5, 51 mM 塩化ナトリウム, 57 mM Arg, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80 中

【０２５０】

すべてのサンプルを、－20℃、2～8℃、25℃、25℃＋800lux/時（光）および40℃で保存した。試験は、BD社から得られる情報に基づいて、シリンジの周囲にセットされた±0.3単位スペックを有する、シリンジ当たり0.4mgである標準的シリコーンレベルを含む1mL BD Hypakプレフィルドシリンジ（PFS）中で行なった。生成物安定性は、PFS中0.8mL充填で評価した。すべての構成要素（針、栓、およびシリンジ壁）が製剤により接触されるように、サンプルは、安定性のために水平に保存した。

【０２５１】

本試験からの結果は、試験した範囲内でのBPC1494 mAbの長期安定性を確認する。結果は、その標的濃度である50mg/mLの±10％範囲内、および標的pHの±0.2pH単位以内でのmAbの安定性を実証した。この製剤の長期安定性はまた、±20％以内のアルギニンおよびトレハロース濃度、および±50％以内のメチオニン、EDTAおよびPS80濃度でも確認された。

【０２５２】

実施例36：100mg/mLの凍結融解安定性および長期安定性試験

この試験の目的は、5mL Flexboy（EVA）バッグの中でヒスチジンバッファー中に製剤化した場合（上記の表の製剤2）の100mg/mL BPC1494抗体の堅牢性および安定性を評価する

ことであった。2種類の要素が、試験に組み込まれた：mAb濃度（100mg/mL標的から±20％）およびpH範囲（pH6.0標的から±0.2単位）。試験では、100mg/mL mAbを、≦－60℃（ここでは－70℃）から2～8℃の凍結融解ストレスの5サイクルにも供した。

【０２５３】

【表２５】

表25 サンプルのまとめ

サンプル	製剤	mAb, mg/mL	pH	条件	凍結速度 (-70° C)	融解速度 (2-8° C)	F/T サイクル (-70°Cから2-8°C)	容器 クロージャ	充填 サイズ
1	80mg/mL GSK2800528 30 mM His pH 5.8 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80中	80	5.8	低mAb/ 低pH	標準的 凍結	標準的 融解	5	5 mL Flexboy バッグ	2 mL / 5 mL バッグ
2	80 mg/mL GSK2800528 30 mM His pH 6.2 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80中	80	6.2	低mAb/ 高pH	標準的 凍結	標準的 融解	5	5 mL Flexboy バッグ	2 mL / 5 mL バッグ
3	120 mg/mL GSK2800528 30 mM His pH 5.8 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80中	120	5.8	高mAb/ 低pH	標準的 凍結	標準的 融解	5	5 mL Flexboy バッグ	2 mL / 5 mL バッグ
4	120 mg/mL GSK2800528 30 mM His pH 6.2 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80中	120	6.2	高mAb/ 高pH	標準的 凍結	標準的 融解	5	5 mL Flexboy バッグ	2 mL / 5 mL バッグ
5	100 mg/mL GSK2800528 30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, 0.02% PS80中	100	6	標的 (中心点)	標準的 凍結	標準的 融解	5	5 mL Flexboy バッグ	2 mL / 5 mL バッグ
6	100 mg/mL GSK2800528 30 mM His pH 6.0 + 150 mM トレハロース, 50 mM Arg, 10 mM Met, 0.05 mM EDTA, 0.02% 分解PS80中	100	6	標的 (中心点 + 分解PS80)	標準的 凍結	標準的 融解	5	5 mL Flexboy バッグ	2 mL / 5 mL バッグ

【０２５４】

5mL EVAバッグを充填し、－70℃、－40℃、－20℃、2～8℃、25℃および25℃＋800lux/時にて1、3、および6ヵ月間、安定性に対して規定した。バッグを、－70℃から2～8℃の5

回の凍結融解サイクルに供した。

【０２５５】

本試験からの結果は、試験した範囲内でのmAb生成物の長期安定性を確認する。結果は、その標的濃度である100mg/mLの±10％範囲内、および標的pHの±0.2pH単位以内でのmAbの安定性を実証した。

【０２５６】

【表２６】

表A

説明	配列番号 (SEQ ID NO)	
	ポリヌクレオチド	アミノ酸
抗-TNF 抗体軽鎖	1	2
抗-TNF 抗体可変ドメイン (VL)	-	3
抗-TNF 抗体重鎖 + M252Y/S254T/T256E 改変	4	5
抗-TNF 抗体重鎖可変ドメイン (VH)	-	6
IgG1 定常ドメイン + M252Y/S254T/T256E 改変	-	7
抗-TNF 抗体重鎖 + M428L/N434S 改変	8	9
IgG1 定常ドメイン + M428L/N434S 改変	-	10
抗-TNF 抗体重鎖 (野生型 IgG1)	11	12
IgG1 定常ドメイン (野生型)	-	13
抗-TNF 抗体重鎖 + T250Q/M428L 改変	14	15
IgG1 定常ドメイン + T250Q/M428L 改変	-	16
抗-TNF 抗体重鎖 + V308F 改変	17	18
IgG1 定常ドメイン + V308F 改変	-	19
抗-TNF 抗体重鎖 + V259I 改変	20	21
IgG1 定常ドメイン + V259I 改変	-	22
抗-TNF 抗体重鎖 + P257L 及び N434Y バリアント	23	24
IgG1 定常ドメイン + P257L 及び N434Y 改変	-	25
シグナルペプチド配列	-	26
抗-TNF 抗体 CDRH1	-	27
抗-TNF 抗体 CDRH2	-	28
抗-TNF 抗体 CDRH3	-	29
抗-TNF 抗体 CDRL1	-	30
抗-TNF 抗体 CDRL2	-	31
抗-TNF 抗体 CDRL3	-	32
抗-TNF 抗体 CDRH1 バリアント	-	33-38
シムジア(Cimzia) (セルトリズマブ(certolizumab)) LC (VL + Ck)		39
抗-TNF 抗体 CDRH3 バリアント	-	40-49
抗-TNF 抗体 CDRL1 バリアント	-	50-61
抗-TNF 抗体 CDRL2 バリアント	-	62-72
抗-TNF 抗体 CDRL3 バリアント	-	73-76
cb1-3-VH	77	78

【０２５７】

cb2-44-VH	79	80
cb1-39-VH	81	82
cb1-31-VH	83	84
cb2-11-VH	85	86
cb2-40-VH	87	88
cb2-35-VH	89	90
cb2-28-VH	91	92
cb2-38-VH	93	94
cb2-20-VH	95	96
cb1-8-VL	97	98
cb1-43-VL	99	100
cb1-45-VL	101	102
cb1-4-VL	103	104
cb1-41-VL	105	106
cb1-37-VL	107	108
cb1-39-VL	109	110
cb1-33-VL	111	112
cb1-35-VL	113	114
cb1-31-VL	115	116
cb1-29-VL	117	118
cb1-22-VL	119	120
cb1-23-VL	121	122
cb1-12-VL	123	124
cb1-10-VL	125	126
cb2-1-VL	127	128
cb2-11-VL	129	130
cb2-40-VL	131	132
cb2-35-VL	133	134
cb2-28-VL	135	136
cb2-20-VL	137	138
cb1-3-VL	139	140
cb2-6-VL	141	142
cb2-44-VL	143	144
抗-TNF 抗体重鎖バリアント cb1-3-VH + M252Y/S254T/T256E 改変	-	145
抗-TNF 抗体重鎖バリアント cb2-44-VH + M252Y/S254T/T256E 改変	-	146
抗-TNF 抗体軽鎖バリアント cb1-3-VL	147	148
抗-TNF 抗体軽鎖バリアント cb2-6-VL	149	150

【０２５８】

抗-TNF 抗体軽鎖バリアント cb2-44-VL	151	152
抗-TNF 抗体重鎖バリアント cb1-3-VH	153	154
抗-TNF 抗体重鎖バリアント cb2-44-VH	155	156
M252Y/S254T/T256E 改変を含むパスコリズマブ (Pascolizumab)重鎖	157	158
パスコリズマブ軽鎖	159	160
パスコリズマブ重鎖	-	161
代替抗-TNF 抗体重鎖 + M428L/N434S 改変		162
代替 IgG1 定常ドメイン + M428L/N434S 改変		163
抗-TNF 抗体重鎖 + H433K/N434F 改変		164
IgG1 定常ドメイン + H433K/N434F 改変		165
代替抗-TNF 抗体重鎖 + H433K/N434F 改変		166
代替 IgG1 定常ドメイン + H433K/N434F 改変		167
代替抗-TNF 抗体重鎖 + M428L/N434S 改変		168
代替 IgG1/2 定常ドメイン + M428L/N434S 改変		169
ゴリムマブ(Golimumab)_VH		170
ゴリムマブ_VL		171
ゴリムマブ HC		172
ゴリムマブ LC		173
レミケード(Remicade) VH		174
レミケード VL		175
レミケード HC		176
レミケード LC		177
シムジア (セルトリズマブ) VH		178
シムジア (セルトリズマブ) VL		179
シムジア (セルトリズマブ) HC (VH+CH1)		180

【０２５９】

配列リスト

配列番号１：抗-TNF 抗体軽鎖のポリヌクレオチド配列

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCGGGCCAGCCAGGGCATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCACCCTGCAGAGCGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACAACAGAGCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGATGAGCA
GCTCAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCA
AAGTGCAGTGGAAAGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGA
GCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACT
ACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACC
AAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

配列番号２：抗-TNF 抗体軽鎖のタンパク質配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV
CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
QGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号３：抗-TNF 抗体可変ドメイン(VL)のタンパク質配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号４：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ M252Y/S254T/T256E 改変のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGACTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
CCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGC
CGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCCTGGAACAGCG

GAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAG
CCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACG
TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAG
ACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTT
CCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGTACATCACCAGAGAGCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGG
TGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG
CACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGT
GCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACA
AGGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCC
CAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTG
CCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCC
GAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGC
AAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCA
CGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

配列番号５：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ M252Y/S254T/T256E 改変のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号６：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメイン(VH)のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS

配列番号７：IgG1 定常ドメイン ＋ M252Y/S254T/T256E 改変のタンパク質配列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

配列番号８：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ M428L/N434S 改変のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGACTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
CCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGC
CGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCCTGGAACAGCG
GAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAG
CCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACG
TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAG
ACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTT
CCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGG
TGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG
CACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGT
GCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACA
AGGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCC
CAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTG
CCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCC
GAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGC
AAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGCTGCA
CGAGGCCCTGCACAGCCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

配列番号９：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ M428L/N434S 改変のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV

SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

配列番号１０：IgG1 定常ドメイン ＋ M428L/N434S 改変のタンパク質配列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG
K

配列番号１１：抗-TNF 抗体重鎖 (野生型 IgG1)のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGACTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
CCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGC
CGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCCTGGAACAGCG
GAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAG
CCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACG
TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAG
ACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTT
CCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGG
TGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG
CACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGT
GCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACA
AGGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCC
CAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTG
CCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCC
GAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGC

AAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCA
CGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

配列番号１２：抗-TNF 抗体重鎖(野生型 IgG1)のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号１３：IgG1 定常ドメイン (野生型)のタンパク質配列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

配列番号１４：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ T250Q/M428L 改変のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGACTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
CCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGC
CGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCCTGGAACAGCG
GAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAG
CCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACG
TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAG
ACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTT

CCCCCCCAAGCCTAAGGACcaaCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGT
GGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC
ACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTG
CTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAA
GGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCC
AGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGC
CTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCG
AGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCA
AGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGtTGCAC
GAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

配列番号１５：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ T250Q/M428L 改変のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPE
VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号１６：IgG1 定常ドメイン ＋ T250Q/M428L 改変のタンパク質配列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
QLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPG
K

配列番号１７：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ V308F 改変のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGACTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA

TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
CCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGC
CGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCCTGGAACAGCG
GAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAG
CCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACG
TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAG
ACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTT
CCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGG
TGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG
CACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGT
GCTGACCtTcCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAA
GGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCC
AGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGC
CTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCG
AGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCA
AGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCAC
GAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

配列番号１８：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ V308F 改変のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTFLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号１９：IgG1 定常ドメイン ＋ V308F 改変のタンパク質配列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTFLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

配列番号２０：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ V259I 改変のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGACTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
CCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGC
CGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCCTGGAACAGCG
GAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAG
CCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACG
TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAG
ACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTT
CCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGATCACCTGTGTGGTGG
TGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG
CACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGT
GCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACA
AGGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCC
CAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTG
CCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCC
GAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGC
AAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCA
CGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

配列番号２１：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ V259I 改変のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEI
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV

SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号２２：IgG1 定常ドメイン ＋ V259I 改変のタンパク質配列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEITCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK

配列番号２３：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ P257L 及び N434Y バリアントのポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGACTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
CCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGC
CGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCCTGGAACAGCG
GAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAG
CCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACG
TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAG
ACCCACACCTGCCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTT
CCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCTGGAGGTGACCTGTGTGGTGG
TGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG
CACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGT
GCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACA
AGGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCC
CAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTG
CCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCC
GAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGC

AAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCA
CGAGGCCCTGCACTATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

配列番号２４：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ P257L 及び N434Y 改変のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTLEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHYHYTQKSLSLSPGK

配列番号２５：IgG1 定常ドメイン ＋ P257L 及び N434Y 改変のタンパク質配列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTLEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHYHYTQKSLSLSP
GK

配列番号２６：シグナルペプチド配列

MGWSCIILFLVATATGVHS

配列番号２７：抗-TNF 抗体 CDRH1

DYAMH

配列番号２８：抗-TNF 抗体 CDRH2

AITWNSGHIDYADSVEG

配列番号２９：抗-TNF 抗体 CDRH3

VSYLSTASSLDY

配列番号３０：抗-TNF 抗体 CDRL1

RASQGIRNYLA

配列番号３１：抗-TNF 抗体 CDRL2

AASTLQS

配列番号３２：抗-TNF 抗体 CDRL3

QRYNRAPYT

配列番号３３：抗-TNF 抗体 CDRH1 バリアント

QYAMH

配列番号３４：抗-TNF 抗体 CDRH1 バリアント

HYALH

配列番号３５：抗-TNF 抗体 CDRH1 バリアント

HYAMH

配列番号３６：抗-TNF 抗体 CDRH1 バリアント

QHALH

配列番号３７：抗-TNF 抗体 CDRH1 バリアント

QHAMH

配列番号３８：抗-TNF 抗体 CDRH1 バリアント

DHALH

配列番号３９：シムジア (セルトリズマブ) LC (VL + Ck)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASFLYSGVPYRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNIYPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

配列番号４０：抗-TNF 抗体 CDRH3 バリアント

VHYLSTASQLHH

配列番号４１：抗-TNF 抗体 CDRH3 バリアント
VQYLSTASSLQS

配列番号４２：抗-TNF 抗体 CDRH3 バリアント
VKYLSTASSLHY

配列番号４３：抗-TNF 抗体 CDRH3 バリアント
VKYLSTASNLES

配列番号４４：抗-TNF 抗体 CDRH3 バリアント
VHYLSTASSLDY

配列番号４５：抗-TNF 抗体 CDRH3 バリアント
VSYLSTASSLQS

配列番号４６：抗-TNF 抗体 CDRH3 バリアント
VRYLSTASNLQH

配列番号４７：抗-TNF 抗体 CDRH3 バリアント
VQYLSTASQLHS

配列番号４８：抗-TNF 抗体 CDRH3 バリアント
VRYLSTASQLDY

配列番号４９：抗-TNF 抗体 CDRH3 バリアント
VRYLSTASSLDY

配列番号５０：抗-TNF 抗体 CDRL1 バリアント
HASKKIRNYLA

配列番号５１：抗-TNF 抗体 CDRL1 バリアント

HASRKLRNYLA

配列番号５２：抗-TNF 抗体 CDRL1 バリアント

HASRRLRNYLA

配列番号５３：抗-TNF 抗体 CDRL1 バリアント

HASKRIRNYLA

配列番号５４：抗-TNF 抗体 CDRL1 バリアント

HASRKIRNYLA

配列番号５５：抗-TNF 抗体 CDRL1 バリアント

HASRRIRNYLA

配列番号５６：抗-TNF 抗体 CDRL1 バリアント

HASREIRNYLA

配列番号５７：抗-TNF 抗体 CDRL1 バリアント

HASQGIRNYLA

配列番号５８：抗-TNF 抗体 CDRL1 バリアント

HASQKIRNYLA

配列番号５９：抗-TNF 抗体 CDRL1 バリアント

RASRGLRNYLA

配列番号６０：抗-TNF 抗体 CDRL1 バリアント

HASQRIRNYLA

配列番号６１：抗-TNF 抗体 CDRL1 バリアント

RASRRIRNYLA

配列番号６２：抗-TNF 抗体 CDRL2 バリアント

AASSLLR

配列番号６３：抗-TNF 抗体 CDRL2 バリアント

AASSLLK

配列番号６４：抗-TNF 抗体 CDRL2 バリアント

AASSLLP

配列番号６５：抗-TNF 抗体 CDRL2 バリアント

AASSLQP

配列番号６６：抗-TNF 抗体 CDRL2 バリアント

AASSLLH

配列番号６７：抗-TNF 抗体 CDRL2 バリアント

AASSFLP

配列番号６８：抗-TNF 抗体 CDRL2 バリアント

AASSLLQ

配列番号６９：抗-TNF 抗体 CDRL2 バリアント

AASSLQQ

配列番号７０：抗-TNF 抗体 CDRL2 バリアント

AASTLLK

配列番号７１：抗-TNF 抗体 CDRL2 バリアント

AASSLQN

配列番号７２：抗-TNF 抗体 CDRL2 バリアント

AASSLQK

配列番号７３：抗-TNF 抗体 CDRL3 バリアント

QRYDRPPYT

配列番号７４：抗-TNF 抗体 CDRL3 バリアント

QRYDKPPYT

配列番号７５：抗-TNF 抗体 CDRL3 バリアント

QRYNRPPYT

配列番号７６：抗-TNF 抗体 CDRL3 バリアント

QRYNKPPYT

配列番号７７：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb1-3-VH (aka cb2-6-VH)のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAGTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

配列番号７８：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb1-3-VH (aka cb2-6-VH) のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS

配列番号７９：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-44-VH のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGACCACGCCCTGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGAGGTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

配列番号８０：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-44-VH のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDHALHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVRYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS

配列番号８１：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb1-39-VH のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCACTACGCCCTGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

配列番号８２：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb1-39-VH のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDHYALHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS

配列番号８３：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb1-31-VH のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGACTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGCACTACCTGAGC
ACCGCCAGCCAACTGCACCACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

配列番号８４：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb1-31-VH のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVHYLSTASQLHHWGQGTLVTVSS

配列番号８５：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-11-VH のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCACTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA

TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGCAGTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGCAGAGCTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

配列番号８６：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-11-VH のタンパク質配列
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDHYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVQYLSTASSLQSWGQGTLVTVSS

配列番号８７：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-40-VH のポリヌクレオチド配列
GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAGTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGAAGTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGCACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

配列番号８８：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-40-VH のタンパク質配列
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVKYLSTASSLHYWGQGTLVTVSS

配列番号８９：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-35-VH のポリヌクレオチド配列
GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAGCACGCCCTGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGCACTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

配列番号９０：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-35-VH のタンパク質配列
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQHALHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVHYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS

配列番号９１：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-28-VH のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAGTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGCACTACCTGAGC
ACCGCCAGCCAGCTGCACCACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

配列番号９２：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-28-VH のタンパク質配列
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVHYLSTASQLHHWGQGTLVTVSS

配列番号９３：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-38-VH のポリヌクレオチド配列
GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAGCACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

配列番号９４：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-38-VH のタンパク質配列
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQHAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS

配列番号９５：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-20-VH のポリヌクレオチド配列
GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAGTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGAAGTACCTGAGC
ACCGCCAGCAACCTGGAGAGCTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGC

配列番号９６：抗-TNF 抗体重鎖可変ドメインバリアント cb2-20-VH のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVKYLSTASNLESWGQGTLVTVSS

配列番号９７：抗-TNF抗体軽鎖可変ドメインバリアントcb1-8-VLのポリヌクレオチド配列

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAAGAAGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAGGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号９８：抗-TNF抗体軽鎖可変ドメインバリアントcb1-8-VLのタンパク質配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASKKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLRGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号９９：抗-TNF抗体軽鎖可変ドメインバリアントcb1-43-VLのポリヌクレオチド配列

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAAGCTGAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１００：抗-TNF抗体軽鎖可変ドメインバリアントcb1-43-VLのタンパク質配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLKGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１０１：抗-TNF抗体軽鎖可変ドメインバリアントcb1-45-VLのポリヌクレオチド配列

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAGGCTGAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG

TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１０２：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-45-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLPGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１０３：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-4-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAAGCTGAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAGGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１０４：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-4-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLRGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１０５：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-41-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAAGAGGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAAGCCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１０６：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-41-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASKRIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLKGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDKPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１０７：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-37-VL のポリヌクレオチド配列

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAAGCTGAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAGGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACAACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１０８：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-37-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLRGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１０９：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-39-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAAGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCAGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１１０：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-39-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQPGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１１１：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-33-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAGGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCACGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１１２：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-33-VL のタンパク質配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLHGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１１３：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-35-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAGGCTGAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCAGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１１４：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-35-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQPGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１１５：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-31-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAGGCTGAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACAACAAGCCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１１６：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-31-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLKGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNKPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１１７：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-29-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAAGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCTTCCTGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG

TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１１８：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-29-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSFLPGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１１９：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-22-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAAGAAGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCAGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１２０：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-22-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASKKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQPGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１２１：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-23-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAGGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCAGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１２２：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-23-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLQGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１２３：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-12-VL のポリヌクレオチド配列

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAAGCTGAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCAGCAGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１２４：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-12-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQQGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１２５：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-10-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAAGCTGAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１２６：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-10-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLPGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１２７：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-1-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGGAGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１２８：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-1-VL のタンパク質配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASREIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLPGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１２９：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-11-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCCAGGGCATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCACCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１３０：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-11-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLLKGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１３１：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-40-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCCAGAAGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCAGCAGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１３２：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-40-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQQGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１３３：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-35-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAGGCTGAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCACGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG

TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１３４：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-35-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLHGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１３５：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-28-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAGGCTGAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１３６：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-28-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRRLRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLKGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１３７：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-20-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAAGAGGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAGGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACAACAAGCCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１３８：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-20-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASKRIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLRGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNKPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１３９：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-3-VL のポリヌクレオチド配列

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAAGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAGGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAAGCCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１４０：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb1-3-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLRGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDKPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１４１：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-6-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAAGAGGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACAACAAGCCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１４２：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-6-VL のタンパク質配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASKRIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLKGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNKPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１４３：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-44-VL のポリヌクレオチド配列
GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAAGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACG

配列番号１４４：抗-TNF 抗体軽鎖可変ドメインバリアント cb2-44-VL のタンパク質配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLPGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRT

配列番号１４５：抗-TNF 抗体重鎖バリアント cb1-3-VH ＋ M252Y/S254T/T256E 改変のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号１４６：抗-TNF 抗体重鎖バリアント cb2-44-VH ＋ M252Y/S254T/T256E 改変のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDHALHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVRYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号１４７：抗-TNF 抗体軽鎖バリアント cb1-3-VL のポリヌクレオチド配列

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAAGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAGGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAAGCCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGATGAGCA
GCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCA
AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGA
GCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACT

ACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACC
AAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

配列番号１４８：抗-TNF 抗体軽鎖バリアント cb1-3-VL のタンパク質配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLRGVPSRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDKPPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV
CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
QGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号１４９：抗-TNF 抗体軽鎖バリアント cb2-6-VL のポリヌクレオチド配列

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAAGAGGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGAAGGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG
TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACAACAAGCCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGATGAGCA
GCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCA
AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGA
GCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACT
ACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACC
AAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

配列番号１５０：抗-TNF 抗体軽鎖バリアント cb2-6-VL のタンパク質配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASKRIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLKGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNKPPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

配列番号１５１：抗-TNF 抗体軽鎖バリアント cb2-44-VL のポリヌクレオチド配列

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGATAGAGTGACCAT
CACCTGCCACGCCAGCAGGAAGATCAGAAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCA
AGGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCCTGCTGCCCGGCGTGCCCAGCAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACG

TGGCCACCTACTACTGCCAGCGGTACGACAGACCCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAG
GTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGATGAGCA
GCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCA
AGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGACCGA
GCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACT
ACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACC
AAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

配列番号１５２：抗-TNF 抗体軽鎖バリアント cb2-44-VL のタンパク質配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASRKIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLLPGVPSRFSGSGS
GTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYDRPPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

配列番号１５３：抗-TNF 抗体重鎖バリアント cb1-3-VH のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACCAGTACGCCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGTCCTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
CCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGC
CGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCCTGGAACAGCG
GAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAG
CCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACG
TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAG
ACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTT
CCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGG
TGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG
CACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGT
GCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACA
AGGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCC
CAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTG

CCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCC
GAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGC
AAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCA
CGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

配列番号１５４：抗-TNF 抗体重鎖バリアント cb1-3-VH のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDQYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号１５５：抗-TNF 抗体重鎖バリアント cb2-44-VH のポリヌクレオチド配列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCCGGCAGAAGCCTGAGACTGA
GCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCGACGACCACGCCCTGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCT
GGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGTCCGCCATCACCTGGAATAGCGGCCACATCGACTACGCCGA
CAGCGTGGAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGA
TGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAAGGTGAGGTACCTGAGC
ACCGCCAGCAGCCTGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCA
CCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGC
CGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCCTGGAACAGCG
GAGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAG
CCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACG
TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAG
ACCCACACCTGCCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTT
CCCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGG
TGGATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG
CACAATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGT
GCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACA
AGGCCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCC
CAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTG

CCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCC
GAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGC
AAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCA
CGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

配列番号１５６：抗-TNF 抗体重鎖バリアント cb2-44-VH のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDHALHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVRYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号１５７：M252Y/S254T/T256E 改変を含むパスコリズマブ重鎖のポリヌクレオチド配列

CAGGTGACCCTGAGGGAGAGCGGCCCCGCCCTGGTGAAGCCCACCCAGACCCTGACCCTGA
CCTGCACCTTCAGCGGCTTTAGCCTCAGCACCTCCGGCATGGGCGTGAGCTGGATCAGGCAG
CCACCCGGCAAAGGCCTGGAGTGGCTGGCCCACATCTACTGGGACGACGACAAGAGGTACAA
CCCCAGCCTGAAGAGCCGGCTGACCATCAGCAAGGATACCAGCAGGAACCAGGTGGTGCTGA
CCATGACCAACATGGACCCCGTGGACACCGCTACCTACTACTGCGCCAGGAGGGAGACCGTC
TTCTACTGGTACTTCGACGTGTGGGGAAGGGGCACACTAGTGACCGTGTCCAGCGCCAGCAC
CAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCC
GCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACCGTGTCCTGGAACAGCGG
AGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGC
CTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAACGT
GAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAGA
CCCACACCTGCCCCCCCTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGCCCCAGCGTGTTCCTGTTC
CCCCCCAAGCCTAAGGACACCCTGtacATCacCAGAgagCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGG
ATGTGAGCCACGAGGACCCTGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAC
AATGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCT
GACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGG
CCCTGCCTGCCCCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGAGAGCCCCAG
GTGTACACCCTGCCCCCTAGCAGAGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCT

GGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAG
AACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAG
CTGACCGTGGACAAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGA
GGCCCTGCACAATCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCTGGCAAG

配列番号１５８：M252Y/S254T/T256E 改変を含むパスコリズマブ重鎖のタンパク質配列

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVSWIRQPPGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSL
KSRLTISKDTSRNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARRETVFYWYFDVWGRGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号１５９：パスコリズマブ軽鎖のポリヌクレオチド配列

GACATCGTGCTGACCCAGAGCCCCTCTTCCCTGAGCGCAAGCGTGGGCGATAGGGTGACCAT
CACCTGCAAGGCCAGCCAGAGCGTGGACTACGACGGCGACAGCTACATGAACTGGTACCAGC
AGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAACTGCTGATCTACGCCGCCAGCAACCTCGAGTCAGGCATT
CCCAGCAGGTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCTTCACAATCAGCAGCCTGCA
GCCCGAGGACATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAACGAGGACCCTCCCACCTTCGGAC
AGGGCACCAAGGTCGAGATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCC
AGCGATGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCTGCTGAACAACTTCTACCC
CCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAG
AGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAG
CAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA
GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACCGGGGCGAGTGC

配列番号１６０：パスコリズマブ軽鎖のタンパク質配列

DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYDGDSYMNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGIPSRF
SGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQSNEDPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC
EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号１６１：パスコリズマブ重鎖のタンパク質配列

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVSWIRQPPGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSL
KSRLTISKDTSRNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARRETVFYWYFDVWGRGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号１６２：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ M428L/N434S 改変の代替タンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

配列番号１６３：IgG1 定常ドメイン ＋ M428L/N434S 改変の代替タンパク質配列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSP
GK

配列番号１６４：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ H433K/N434F 改変のタンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV

SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSPGK

配列番号１６５：IgG1 定常ドメイン ＋ H433K/N434F 改変のタンパク質配列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSPG
K

配列番号１６６：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ H433K/N434F 改変の代替タンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSPGK

配列番号１６７：IgG1 定常ドメイン ＋ H433K/N434F 改変の代替タンパク質配列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLS
PGK

配列番号１６８：抗-TNF 抗体重鎖 ＋ M428L/N434S 改変の代替タンパク質配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV
EGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV

TCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

配列番号１６９：IgG1/2 定常ドメイン ＋ M428L/N434S 改変の代替タンパク質配列
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPG
K

配列番号１７０：ゴリムマブ_VH
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADS
VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSS

配列番号１７１：ゴリムマブ_VL
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSG
SGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKRT

配列番号１７２：ゴリムマブ_HC
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADS
VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL
YITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号１７３：ゴリムマブ_LC
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSG
SGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV

VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT
HQGLSSPVTKSFNRGEC

配列番号１７４：レミケード_VH

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAES
VKGRFTISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQGTTLTVSS

配列番号１７５：レミケード_VL

DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGS
GTDFTLSINTVESEDIADYYCQQSHSWPFTFGSGTNLEVKRT

配列番号１７６：レミケード_HC

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAES
VKGRFTISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFP
LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVT
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

配列番号１７７：レミケード_LC

DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSRFSGSGS
GTDFTLSINTVESEDIADYYCQQSHSWPFTFGSGTNLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

配列番号１７８：シムジア (セルトリズマブ) VH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYVFTDYGMNWVRQAPGKGLEWMGWINTYIGEPIYADSV
KGRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYRSYAMDYWGQGTLVTVSS

配列番号１７９：シムジア (セルトリズマブ) VL

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASFLYSGVPYRFSGSG
SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNIYPLTFGQGTKVEIKRT

配列番号１８０：シムジア (セルトリズマブ) HC (VH+CH1)

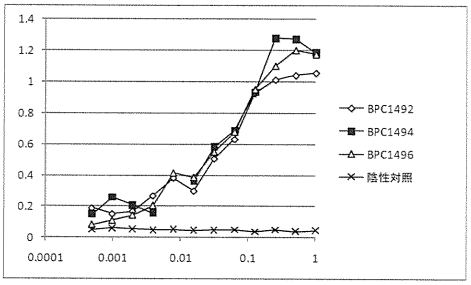
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYVFTDYGMNWVRQAPGKGLEWMGWINTYIGEPIYADSV

KGRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYRSYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL

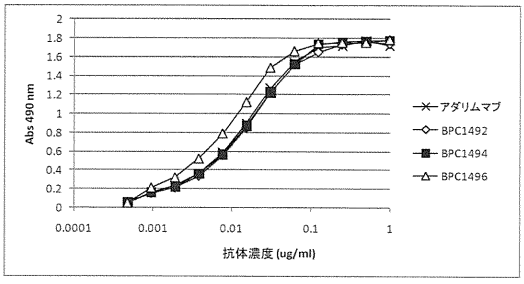
APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG

TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCAA

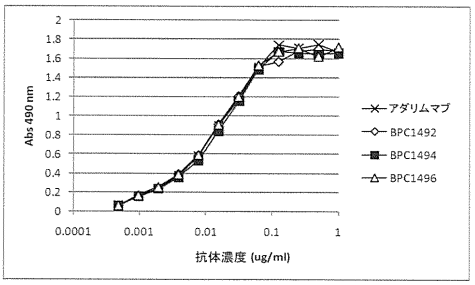
【図１】



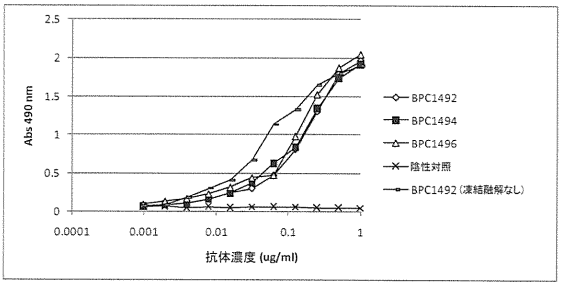
【図２】



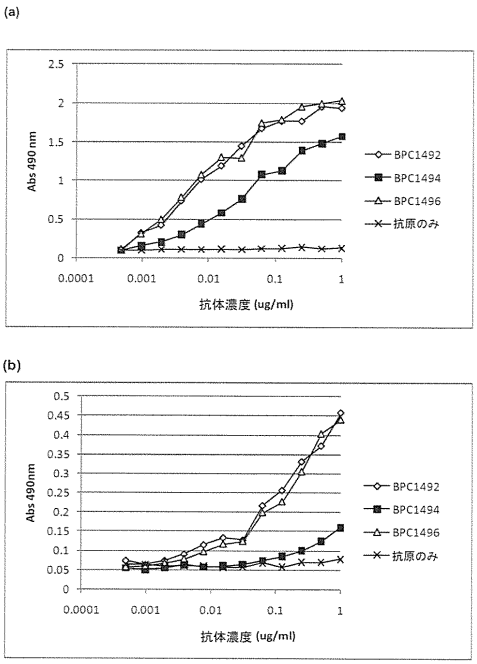
【図３】



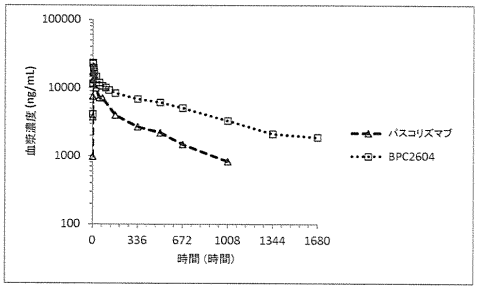
【図４】



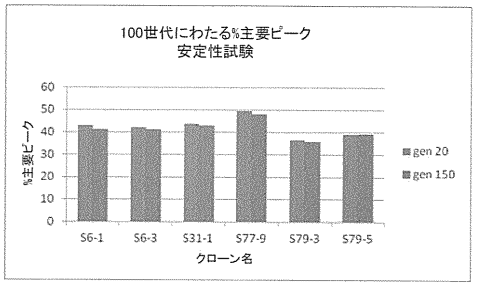
【図５】


(a)
Abs 490 nm
抗体濃度 (ug/ml)
BPC1492
BPC1494
BPC1496
抗原のみ
(b)
Abs 490nm
抗体濃度 (ug/ml)
BPC1492
BPC1494
BPC1496
抗原のみ

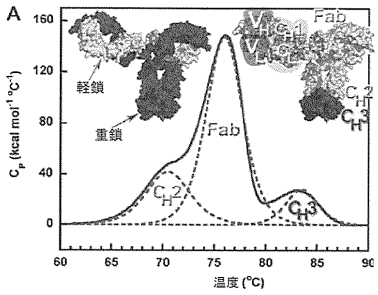
【図６】


血漿濃度 (ng/mL)
時間 (時間)
パスコリズマブ
BPC2604

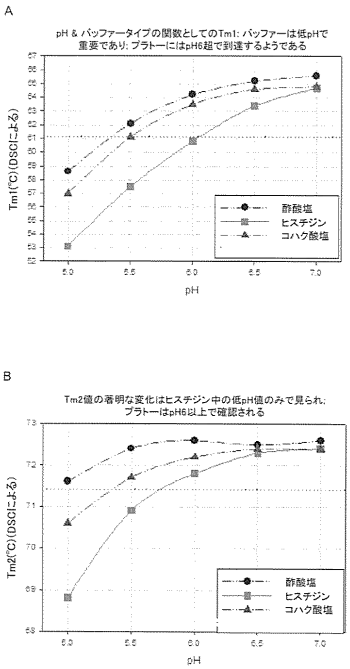
【図７】


100世代にわたる%主要ピーク
安定性試験
%主要ピーク
クローン名
S6-1
S6-3
S31-1
S77-9
S79-3
S79-5
gen 20
gen 150

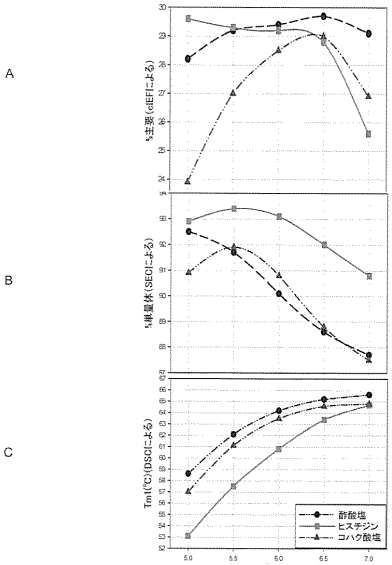
【図８】


A
軽鎖
重鎖
Fab
温度 (°C)

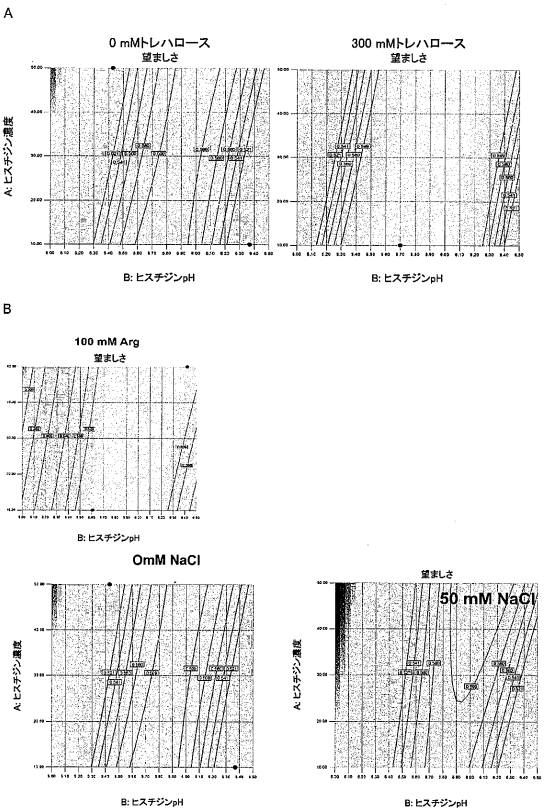
【図９】


A
pH & バッファータイプの関数としてのTm1: バッファーは低pHで重要であり; プラトーにはpH6超で到達するようである
Tm1(°C)(DSCによる)
pH
酢酸塩
ヒスチジン
コハク酸塩
B
Tm2値の著明な変化はヒスチジン中の低pH値のみで見られ; プラトーはpH6以上で確認される
Tm2(°C)(DSCによる)
pH
酢酸塩
ヒスチジン
コハク酸塩

【図１０】



【図１１】



【配列表】

2016505633000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2014/051160

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

   a. (means)

   ☐ on paper

   ☒ in electronic form

   b. (time)

   ☒ in the international application as filed

   ☐ together with the international application in electronic form

   ☐ subsequently to this Authority for the purpose of search

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2014/051160

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

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

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

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

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

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

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

see additional sheet

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

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

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

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

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2014/051160

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/24 A61K39/395
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	NICHOLAS W WARNE ED - LEHR CLAUS-MICHAEL ET AL: "Development of high concentration protein biopharmaceuticals: The use of platform approaches in formulation development", EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICS AND BIOPHARMACEUTICS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., AMSTERDAM, NL, vol. 78, no. 2, 3 March 2011 (2011-03-03), pages 208-212, XP028203394, ISSN: 0939-6411, DOI: 10.1016/J.EJPB.2011.03.004 [retrieved on 2011-03-13] table 1 ----- -/--	1-7,36

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
23 June 2014	07/07/2014

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Pérez-Mato, Isabel

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2014/051160

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JONATHAN KAY ET AL: "Golimumab: A novel human anti-TNF-[alpha] monoclonal antibody for the treatment of rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, and psoriatic arthritis", CORE EVIDENCE, vol. 4, 1 January 2010 (2010-01-01), pages 159-170, XP055089368, ISSN: 1555-1741, DOI: 10.2147/CE.S6000 the whole document	1-3,20, 36,37, 42-46
X	WO 2011/141926 A2 (INTAS BIOPHARMACEUTICALS LTD [IN]; TUNGA BINITA SHRIVASTAVA [IN]; SHAR) 17 November 2011 (2011-11-17)	1,3-5
Y	the whole document	8-11, 21-26, 38,47
Y	WANG W ET AL: "ANTIBODY STRUCTURE, INSTABILITY, AND FORMULATION", JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, AMERICAN PHARMACEUTICAL ASSOCIATION, WASHINGTON, US, vol. 96, no. 1, 1 January 2007 (2007-01-01), pages 1-26, XP009084505, ISSN: 0022-3549, DOI: 10.1002/JPS.20727 the whole document	8-11, 21-26, 38,47
Y	US 2004/033228 A1 (KRAUSE HANS-JUERGEN [DE] ET AL) 19 February 2004 (2004-02-19) the whole document	8-11, 21-26, 38,47
Y	WO 2011/104381 A2 (NOVO NORDISK AS [DK]; PARSHAD HENRIK [DK]; ENGELUND DORTHE KOT [DK]; G) 1 September 2011 (2011-09-01) the whole document	8-11, 21-26, 38,47
Y	DAUGHERTY A L ET AL: "Formulation and delivery issues for monoclonal antibody therapeutics", ADVANCED DRUG DELIVERY REVIEWS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 58, no. 5-6, 7 August 2006 (2006-08-07), pages 686-706, XP024892149, ISSN: 0169-409X, DOI: 10.1016/J.ADDR.2006.03.011 [retrieved on 2006-08-07] the whole document	8-11, 21-26, 38,47

-/--

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2014/051160

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	LAM X M ET AL: "ANTIOXIDANTS FOR PREVENTION OF METHIONINE OXIDATION IN RECOMBINANT MONOCLONAL ANTIBODY HER2", JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, AMERICAN PHARMACEUTICAL ASSOCIATION, WASHINGTON, US, vol. 86, no. 11, 1 November 1997 (1997-11-01), pages 1250-1255, XP008038003, ISSN: 0022-3549, DOI: 10.1021/JS970143S the whole document	8-11, 21-26, 38,47
Y	US 2010/278822 A1 (FRAUNHOFER WOLFGANG [US] ET AL) 4 November 2010 (2010-11-04) the whole document	8-11, 21-26, 38,47
X	WO 2004/035752 A2 (PROTEIN DESIGN LABS INC [US]; HINTON PAUL R [US]; TSURUSHITA NAOYA [US]) 29 April 2004 (2004-04-29) cited in the application	12-14, 19, 27-29, 42,43,45
Y	the whole document page 6 - page 8 page 26 - page 27	15-18, 30-35, 39-41
Y	SHIELDS R L ET AL: "High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc gamma RI, Fc gamma RII, Fc gamma RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc gamma R", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 276, no. 9, 2 March 2001 (2001-03-02) , pages 6591-6604, XP002495886, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.M009483200 [retrieved on 2000-11-28] the whole document	15-18, 30-35, 39-41
Y	DALL' ACQUA WILLIAM F ET AL: "Increasing the affinity of a human IgG1 for the neonatal Fc receptor: Biological consequences", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, THE AMERICAN ASSOCIATION OF IMMUNOLOGISTS, US, vol. 169, no. 9, 1 November 2002 (2002-11-01), pages 5171-5180, XP002268422, ISSN: 0022-1767 the whole document	15-18, 30-35, 39-41

-/--

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2014/051160

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	YEUNG YIK ANDY ET AL: "Engineering Human IgG1 Affinity to Human Neonatal Fc Receptor: Impact of Affinity Improvement on Pharmacokinetics in Primates", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, THE AMERICAN ASSOCIATION OF IMMUNOLOGISTS, US, vol. 182, no. 12, 1 June 2009 (2009-06-01) , pages 7663-7671, XP002566420, ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/JIMMUNOL.0804182 the whole document -----	15-18, 30-35, 39-41

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2014/051160

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011141926 A2	17-11-2011	CN 102946858 A	27-02-2013
		EP 2568960 A2	20-03-2013
		WO 2011141926 A2	17-11-2011
US 2004033228 A1	19-02-2004	AR 040881 A1	20-04-2005
		AR 077412 A2	24-08-2011
		AT 555809 T	15-05-2012
		AU 2003267744 A1	03-03-2004
		BR 0313492 A	05-07-2005
		CA 2494756 A1	26-02-2004
		CN 1688339 A	26-10-2005
		CN 101721702 A	09-06-2010
		CN 102049045 A	11-05-2011
		CN 102078608 A	01-06-2011
		DK 1528933 T3	23-07-2012
		EP 1528933 A2	11-05-2005
		EP 2359856 A1	24-08-2011
		EP 2361637 A1	31-08-2011
		EP 2363144 A1	07-09-2011
		EP 2363145 A1	07-09-2011
		ES 2387616 T3	27-09-2012
		HK 1074008 A1	01-02-2013
		JP 4925582 B2	25-04-2012
		JP 2006511457 A	06-04-2006
		JP 2012046527 A	08-03-2012
		JP 2014074034 A	24-04-2014
		KR 20050067140 A	30-06-2005
		KR 20110036870 A	11-04-2011
		KR 20120130258 A	29-11-2012
		MX PA05001841 A	30-09-2005
		NZ 538030 A	27-10-2006
		PE 09942004 A1	27-12-2004
		PL 212934 B1	31-12-2012
		PT 1528933 E	23-07-2012
		SI 1528933 T1	28-09-2012
		TW I331532 B	11-10-2010
		US 2004033228 A1	19-02-2004
		US 2006153846 A1	13-07-2006
		US 2012282270 A1	08-11-2012
		US 2014086929 A1	27-03-2014
		US 2014086930 A1	27-03-2014
		US 2014086931 A1	27-03-2014
		US 2014127222 A1	08-05-2014
		UY 27940 A1	31-03-2004
		WO 2004016286 A2	26-02-2004
		ZA 200501032 A	22-02-2006
WO 2011104381 A2	01-09-2011	AU 2011219715 A1	16-08-2012
		CA 2789061 A1	01-09-2011
		CN 103037899 A	10-04-2013
		EP 2538973 A2	02-01-2013
		JP 2013520476 A	06-06-2013
		KR 20120130757 A	03-12-2012
		RU 2012139181 A	10-04-2014
		US 2013028907 A1	31-01-2013
		WO 2011104381 A2	01-09-2011
US 2010278822 A1	04-11-2010	AR 076748 A1	06-07-2011

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2014/051160

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		AU 2010246168 A1	10-11-2011
		CA 2760185 A1	11-11-2010
		CN 102458469 A	16-05-2012
		EP 2427211 A1	14-03-2012
		JP 2012526121 A	25-10-2012
		KR 20120038406 A	23-04-2012
		NZ 595694 A	27-09-2013
		RU 2011149327 A	10-06-2013
		SG 175188 A1	28-11-2011
		TW 201043263 A	16-12-2010
		US 2010278822 A1	04-11-2010
		US 2014141007 A1	22-05-2014
		US 2014141008 A1	22-05-2014
		UY 32609 A	31-12-2010
		WO 2010129469 A1	11-11-2010
WO 2004035752 A2	29-04-2004	AT 480562 T	15-09-2010
		AU 2003286467 A1	04-05-2004
		CA 2502904 A1	29-04-2004
		DK 1562972 T3	06-12-2010
		EP 1562972 A2	17-08-2005
		JP 4768439 B2	07-09-2011
		JP 2006512087 A	13-04-2006
		JP 2011052012 A	17-03-2011
		PT 1562972 E	10-11-2010
		SI 1562972 T1	31-12-2010
		WO 2004035752 A2	29-04-2004

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

International Application No. PCT/ EP2014/ 051160

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-11(completely); 20-26, 36-38, 42-47(partially)

directed to liquid formulations comprising a TNF-alpha binding protein in a histidine buffer.

---

2. claims: 12-19, 27-35, 39-41(completely); 20-26, 36-38, 42-47(partially)

directed to liquid formulations comprising variants of TNF-alpha binding protein, in a histidine buffer.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*47/34*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/34		
Ａ６１Ｋ	*47/26*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/26		
Ａ６１Ｋ	*47/20*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/20		
Ａ６１Ｋ	*39/395*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｄ	
Ａ６１Ｐ	*19/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｎ	
Ａ６１Ｐ	*29/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	19/02		
Ａ６１Ｐ	*43/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	29/00	１０１	
Ａ６１Ｐ	*17/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１２１	
Ａ６１Ｐ	*1/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/06		
Ａ６１Ｋ	*31/519*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/04		
Ｃ０７Ｋ	*16/18*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/519		
			Ｃ０７Ｋ	16/18	ＺＮＡ	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(74)代理人 100122389
弁理士 新井 栄一
(74)代理人 100111741
弁理士 田中 夏夫
(74)代理人 100169971
弁理士 菊田 尚子
(74)代理人 100171505
弁理士 内藤 由美
(72)発明者 クロッツ，エイチ．ジョージ
アメリカ合衆国 １９４０６ ペンシルバニア州，キング オブ プルシア，スウィードランド ロード ７０９，グラクソスミスクライン
(72)発明者 モラー－ミトリカ，ソリナ
アメリカ合衆国 １９４０６ ペンシルバニア州，キング オブ プルシア，スウィードランド ロード ７０９，グラクソスミスクライン

Ｆターム(参考) 4C076 AA12 BB16 CC03 CC16 CC18 DD09F DD09Z DD23Z DD51Z DD55Z DD60Z DD67Z FF11 FF16 FF36 FF43 FF56 FF61 FF68 GG01
4C084 AA02 AA03 BA01 BA08 BA21 BA22 CA18 CA53 DA39 MA02 MA05 MA17 MA66 NA05 NA06 NA08 NA14 ZA661 ZA891 ZA961 ZB151 ZC751
4C085 AA13 AA14 BB31 BB36 CC22 CC23 EE01 EE03 EE05 GG04
4C086 AA01 AA02 CB09 MA02 MA04 MA07 MA10 NA06 NA08 ZA66 ZA89 ZA96 ZB15 ZC75
4H045 AA11 AA30 CA40 DA75 EA20 FA74