

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7626698号

(P7626698)

(45)発行日 令和7年2月4日(2025.2.4)

(24)登録日 令和7年1月27日(2025.1.27)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

C 0 7 K 16/28

Z N A

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 0 7 K 16/46

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/13

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 15/63

Z

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/15

請求項の数 11 (全77頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2021-517801(P2021-517801)

(86)(22)出願日 令和1年9月27日(2019.9.27)

(65)公表番号 特表2022-503961(P2022-503961
A)

(43)公表日 令和4年1月12日(2022.1.12)

(86)国際出願番号 PCT/IB2019/001135

(87)国際公開番号 WO2020/065409

(87)国際公開日 令和2年4月2日(2020.4.2)

審査請求日 令和4年9月26日(2022.9.26)

(31)優先権主張番号 PCT/CN2018/010828

(32)優先日 平成30年9月28日(2018.9.28)

(33)優先権主張国・地域又は機関
中国(CN)

(73)特許権者 519349665

リビジェン バイオファーマ ホールディ

ングス リミテッド

イギリス領ケイマン諸島, ケーワイ 1 1

ー 1 2 0 5, グランド ケイマン, ピー

オー ボックス 3 1 1 1 9

(74)代理人 100114775

弁理士 高岡 亮一

(74)代理人 100121511

弁理士 小田 直

(74)代理人 100202751

弁理士 岩堀 明代

(74)代理人 100208580

弁理士 三好 玲奈

(74)代理人 100191086

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 操作された F c ドメインを有する抗 C D 4 0 結合分子およびその治療用途

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 1 4 7 のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号 1 4 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む C D 4 0 結合分子。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の C D 4 0 結合分子を集散的にコードする単離された核酸または核酸のセット。

【請求項 3】

請求項 2 に記載の核酸または核酸のセットを集散的に含むベクターまたはベクターのセット。

【請求項 4】

1 つまたは複数の発現ベクターである、請求項 3 に記載のベクターまたはベクターのセット。

【請求項 5】

請求項 3 または請求項 4 に記載のベクターまたはベクターのセットを含む宿主細胞。

【請求項 6】

対象における免疫応答を選択的に調節するための薬学的組成物であって、請求項 1 に記載の有効量の C D 4 0 結合分子および薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物。

【請求項 7】

前記対象が、癌を患っているかまたは癌を患っている疑いがある、請求項 6 に記載の薬

学的組成物。

【請求項 8】

前記癌が、肺癌、胃癌、肝臓癌、乳癌、皮膚癌、膵臓癌、脳癌、前立腺癌、膀胱癌、結腸直腸癌、肉腫、骨癌、リンパ腫および血液癌からなる群から選択される、請求項 7 に記載の薬学的組成物。

【請求項 9】

免疫調節剤、化学療法剤、またはそれらの組み合わせと併用するための、請求項 6 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

【請求項 10】

前記免疫調節剤が、チェックポイント阻害剤である、請求項 9 に記載の薬学的組成物。

【請求項 11】

前記チェックポイント阻害剤が、PD1 阻害剤である、請求項 10 に記載の薬学的組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2018 年 9 月 28 日に提出された国際特許出願第 PCT/CN2018/0108285 号の利益を主張し、これは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

表面抗原分類 (Cluster of differentiation) 40 (CD40) は、抗原提示細胞 (APC) の活性化に必要な APC の共刺激タンパク質である。CD40 は、腫瘍壊死因子 (TNF) 受容体スーパーファミリーのメンバーであり、T 細胞依存性免疫グロブリンクラススイッチ、メモリー B 細胞の発達、胚中心形成を含む、様々な免疫および炎症応答に不可欠である。さらに、CD40 は、B リンパ腫などの腫瘍細胞の表面およびすべての固形腫瘍の約 70% に見られる。その活性化は、腫瘍特異的抗原に対する耐性を逆転させ、抗原特異的抗腫瘍免疫をもたらすことが示されている。

【0003】

Fc 受容体 (FcR) は、抗体の Fc 部分に結合できる免疫細胞表面タンパク質のファミリーである。Fcγ 受容体、Fcα 受容体、Fcε 受容体、および新生児 Fc 受容体 (FcRn) を含み、それぞれ IgG、IgA、IgE、および IgG 抗体との異なる結合活性を有するいくつかの異なるタイプの Fc 受容体がある。Fcγ 受容体サブファミリーには、FcγRI (CD64)、FcγRIIA (CD32a)、FcγRIIB (CD32b)、FcγRIIB (CD32c)、FcγRIIIA (CD16a)、および FcγRIIIB (CD16b) が含まれる。FcγRI は IgG1 および IgG3 抗体に対して高い結合親和性を有するが、他の FcγR は IgG 抗体に対して低い結合親和性を有する。

【0004】

様々なタイプの Fc 受容体が、免疫系で様々な役割を果たす。例えば、NK 細胞およびマクロファージに発現する FcγRIII 受容体は、感染細胞または侵入病原体へ付着する抗体に結合し、免疫細胞の抗体媒介性食作用 (ADCP) または抗体依存性細胞媒介性細胞傷害 (ADCC) を誘発し、それにより、感染した細胞または侵入病原体の排除につながる。一方、B 細胞および樹状細胞に発現する FcγRIIB 受容体は、IgG 抗体に結合すると免疫細胞の活性を下方調節 (down regulate) する可能性がある。

【0005】

活性化された免疫細胞を含む療法は、癌細胞などの病気の細胞を排除するための有望なアプローチである。しかしながら、そのような治療アプローチはしばしば安全上の懸念を引き起こす。例えば、過剰に活性化された免疫細胞は、望ましくない細胞毒性をもたらす、組織の損傷を引き起こす。したがって、効果的かつ安全な新しい免疫療法を開発することは非常に興味深いことである。

10

20

30

40

50

【発明の概要】

【0006】

本開示は、所望のヒンジ柔軟性と、好ましいFc受容体結合活性および／または選択性、例えば、FcγRIIBに対して増強された結合親和性および／もしくは選択性または1つ以上のFcγR受容体に対して実質的に低下された結合親和性、とを示す、操作された（バリエーション）Fc領域（例えば、IgG1、IgG2、またはIgG4分子の操作されたFc領域）を含む、CD40結合分子（例えば、CD40アゴニストまたはCD40アンタゴニスト）の設計に、少なくとも部分的に、基づいている。そのようなCD40結合分子は、治療を必要とする対象における免疫応答を調節する（modulate）ために（例えば、免疫応答を選択的に増強または選択的に阻害するために）使用することができる。

10

【0007】

したがって、本開示の一態様は、CD40結合部分と、野生型Fc領域の対応物と比較して、位置220～331のうちのいずれか、例えば、位置228～329のうちのいずれかで少なくとも1つの変異を含む、操作されたFc領域を含む抗体重鎖定常領域と、を含むCD40結合分子（例えば、CD40アゴニストまたはCD40アンタゴニスト）を提供する。番号付けシステムは、EUインデックスに従う。

【0008】

いくつかの実施形態では、CD40結合部分は、CD40Lの細胞外ドメインであり、これは、配列番号140のアミノ酸配列を含み得る。そのようなCD40結合部分を含むCD40結合分子は、CD40アゴニストであり得る。

20

【0009】

他の実施形態では、CD40結合部分は、抗CD40抗体フラグメントであり得る。一実施形態では、抗CD40抗体フラグメントは、本明細書に記載の操作されたFc領域のいずれかに連結される重鎖可変領域を含む重鎖と、軽鎖可変領域および軽鎖定常領域を含む軽鎖とを含む。

【0010】

場合によっては、バリエーションFc領域は、野生型対応物と比較して、FcγRIIBに対する結合親和性および／または選択性を増強させ得る。他の例では、バリエーションFc領域は、1つ以上のFcγR受容体に対して結合親和性を実質的に低下させ得る。いくつかの例では、バリエーションFc領域は、すべてのFcγR受容体に対する結合活性が低い、またはまったくない。

30

【0011】

いくつかの実施形態では、CD40結合分子は、IgG1分子（例えば、ヒトIgG1分子）のバリエーションFc領域を含み得、これは、以下のうちの1つ以上を含む変異を含み得る：（a）位置233～238（例えば、234～238）内のアミノ酸置換もしくは欠失、（b）位置265での置換、（c）位置267での置換、（d）位置297での置換、（e）位置328での置換、位置329での置換；またはこれらの組み合わせ。あるいは、またはさらに、IgG1分子のFcバリエーションは、位置220、226、229、238、273、327、330、および／または331において1つ以上の変異を含み得る。一例では、変異は、位置233～236のうちのいずれかでの置換、位置236～238のうちの1つ以上での欠失、またはこれらの組み合わせを含む。例えば、位置233～235での置換は、E233P、L234V、L234F、L234A、L235A、および／またはL235Eを含み得る。一例では、変異は、位置236～238のうちの1つ以上での欠失を含む。別の例では、位置238での置換は、P238Sであり得、位置265での置換は、D265Aであり得、またはこれらの組み合わせであり得る。さらに別の例では、置換は位置267にあり、S267Eである。さらなる例では、置換は位置329にあり、P329Gである。追加の例では、変異は、位置265での置換、位置297での置換、またはこれらの組み合わせを含み得る。例えば、位置265での置換はD265Aであり得、位置297での置換はN297Aであり得る。さらに、位置22

40

50

0、226、229、327、330、および331での1つ以上の置換は、C220S、C226S、C229S、A327G、A330S、およびP331Sであり得る。ヒトIgG1に由来する例示的なバリエーションFc領域は、G1m1、G1m2、G1m17、G1m27、G1mAA、G1mAAG、G1N297A、G1m240、およびG1m40のうちの1つであり得る。

【0012】

他の実施形態では、CD40結合分子は、IgG2分子（例えば、ヒトIgG2分子）のFc領域を含み得、これは、以下のうちの1つ以上を含む変異を含み得る：（a）位置237および238のうちの1つ以上の欠失、（b）位置265での置換、（b）位置267での置換、（c）位置297での置換、（d）位置328での置換；またはこれらの組み合わせ。いくつかの例では、欠失は、位置237、または位置237および238の両方にある。あるいは、またはさらに、IgG2分子のFcバリエーションは、位置233～235、237、238、268、273、330、および331のうちの1つ以上での置換を含む少なくとも1つの変異を含み得る。例えば、位置233～235、237、238、268、273、330、および331のうちの1つ以上での置換は、P233E、V234A、V234L、A235L、A235S、G237A、P238S、H268A、H268Q、V273E、A330S、およびP331Sであり得る。一例では、置換は位置267にあり、S267Eである。別の例では、置換は位置328にあり、L328Fである。追加の例では、変異は、位置265での置換、位置297としての置換、またはこれらの組み合わせを含み得る。例えば、位置265での置換はD265Aであり得、位置297での置換はN297Aであり得る。いくつかの特定の例では、IgG2に由来するバリエーションFc領域は、G2m1、G2m17、G2m18、G2m19、G2m20、G2m27、G2m28、G2m29、G2m2040、G2m43、G2G4、G2mAA、およびG2m40のうちの1つであり得る。

【0013】

さらに他の実施形態では、CD40結合分子は、IgG4分子（例えば、ヒトIgG4分子）のFc領域を含み得、これは、（a）位置228でのアミノ酸残基置換、（b）任意の1つの位置235～238での置換もしくは欠失、（c）位置265での置換、（d）位置267での置換、（e）位置297での置換、（e）位置328での置換、またはこれらの組み合わせを含み得る。一例では、位置228での置換はS228Pである。別の例では、欠失は、位置236、237、および238のうちの1つ以上に（例えば、位置236および237の両方に）ある。あるいは、またはさらに、IgG4分子のFcバリエーションは、位置233～235、237、および273のうちの1つ以上での置換を含み得る。例えば、1つ以上の位置233～235、237、および273での置換は、E233P、F234V、F234A、L235S、L235E、L235A、G237A、およびV273Eであり得る。別の例では、位置267での置換はS267Eである。さらなる例では、位置328での置換はL328Fである。追加の例では、変異は、位置265での置換、位置297での置換、またはこれらの組み合わせを含み得る。例えば、位置265での置換はD265Aであり得、位置297での置換はN297Aであり得る。いくつかの特定の例では、バリエーションFc領域は、G4m1、G4m2、G4m20、G4m28、G4m30、G4m41、G4m42、G4m46、G4mPE、G4mAA、およびG4m40のうちの1つである。

【0014】

本明細書に記載のバリエーションFc領域のいずれも、野生型Fc領域と比較して、FcγRIIBに対して増強された結合活性および／または増強された選択性を示し得る。あるいは、本明細書に記載のバリエーションFc領域は、FcγR受容体のいずれに対しても結合活性が低い、または全くない可能性がある。場合によっては、バリエーションFc領域はFcγRIIBに対して減少した結合親和性を示す可能性がある。あるいは、またはさらに、バリエーションFc領域はFcRnに結合する。

【0015】

10

20

30

40

50

本明細書に記載のCD40結合分子のいずれかにおける抗CD40抗体フラグメントは、ヒト抗体またはヒト化抗体のものであり得る。いくつかの実施形態では、抗CD40抗体は、アゴニスト抗体である。いくつかの例では、抗CD40抗体は、配列番号128のものと同一重鎖相補性決定領域（HC CDR）、もしくは19G6D6、36G7B8、13F1A7、9F12D9、および17C5C2のうちのいずれか1つと同じ重鎖相補性決定領域（HC CDR）ならびに／または、配列番号129のものと同一軽鎖相補性決定領域（LC CDR）もしくは19G6D6、36G7B8、13F1A7、9F12D9、および17C5C2のうちのいずれか1つと同じ軽鎖相補性決定領域（LC CDR）、を含む。一例では、抗体フラグメントは、配列番号128の重鎖可変領域および／または配列番号129の軽鎖可変領域を含み得る。他の例では、抗体フラグメントは、19G6D6、36G7B8、13F1A7、9F12D9、および17C5C2のうちの1つと同じ重鎖可変領域および／または同じ軽鎖可変領域を含み得る。

10

【0016】

さらに、本明細書で提供されるのは、本明細書に記載のCD40結合分子のいずれかおよび薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物である。そのような薬学的組成物は、対象における免疫応答を選択的に調節する（例えば、選択的に活性化または選択的に阻害する）ために使用され得る。

【0017】

さらに別の態様では、本開示は、対象における免疫応答を選択的に調節する（例えば、選択的に活性化または選択的に阻害する）ための方法を提供し、この方法は、それを必要とする対象に本明細書に記載の有効量のCD40結合分子を投与することを含む。

20

【0018】

本明細書に記載の方法のいずれにおいても、対象は、癌を患っているかまたは癌を患っている疑いのあるヒト患者であり得、CD40結合分子は、CD40アゴニストであり得る。例示的な癌には、肺癌、胃癌、肝臓癌、乳癌、皮膚癌、膵臓癌、脳癌、前立腺癌、膀胱癌、結腸直腸癌、肉腫、骨癌、リンパ腫、および血液癌が含まれる。

【0019】

あるいは、対象は、免疫関連障害を患っているかまたは患っている疑いのあるヒト患者であり得、CD40結合分子は、CD40アンタゴニストであり得る。例示的な免疫障害には、自己免疫疾患、免疫不全、またはアレルギーが含まれる。いくつかの実施形態では、治療の標的疾患は、自己免疫疾患である。

30

【0020】

さらに別の態様では、本開示は、19G6D6、36G7B8、13F1A7、9F12D9、および17C5C2からなる群から選択される参照抗体と同じCD40のエピトープに結合するか、またはエピトープへの結合が参照抗体と競合する、単離された抗CD40抗体を提供する。

【0021】

いくつかの実施形態では、抗体は、重鎖相補性決定領域1（CDR1）、重鎖相補性決定領域2（CDR2）、および重鎖相補性決定領域3（CDR3）を含み、これらは集合的に、参照抗体のそれぞれの重鎖CDRと少なくとも85%同一であり、かつ／または抗体は、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、および軽鎖CDR3を含み、これらは集合的に、参照抗体のそれぞれの軽鎖CDRと少なくとも85%同一である。

40

【0022】

別の実施形態では、重鎖CDR1、重鎖CDR2、および重鎖CDR3は、参照抗体のそれぞれの重鎖CDRと比較して、10個以下のアミノ酸変異を集合的に含み、かつ／または軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、および軽鎖CDR3は、参照抗体のそれぞれの軽鎖CDRと比較して、10個以下のアミノ酸変異を集合的に含む。

【0023】

一実施形態では、抗体は、参照抗体の重鎖可変領域と少なくとも85%同一である重鎖可変領域、および／または参照抗体の軽鎖可変領域と少なくとも85%同一である軽鎖可

50

変領域を含む。

【0024】

いくつかの実施形態では、重鎖可変領域は、参照抗体の重鎖可変領域と比較して10個以下のアミノ酸残基変異、および／または参照抗体の軽鎖可変領域と比較して10個以下のアミノ酸変異を含む軽鎖可変領域を含む。

【0025】

いくつかの例では、本明細書に開示される抗CD40抗体は、参照抗体と同じ重鎖可変領域CDRおよび／または参照抗体と同じ軽鎖可変領域CDRを含み得る。

【0026】

本明細書に記載の抗CD40抗体のいずれも、ヒト抗体またはヒト化抗体であり得る。本明細書に記載の抗CD40抗体のいずれかおよび薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物もまた本明細書に提供される。

【0027】

さらに、本開示は、本明細書に記載のCD40結合分子のいずれかまたは抗CD40抗体のいずれかを集合的にコードする単離された核酸または核酸のセットを特徴とする。核酸または核酸のセットは、1つまたは2つのベクター、例えば、発現ベクターに位置し得る。そのようなベクター（複数可）を含む宿主細胞もまた、本明細書で提供される。

【0028】

本開示はまた、本明細書に記載のCD40結合分子のうちの1つ以上および／または本明細書に開示される抗CD40抗体のうちの1つ以上を含む本明細書に記載の標的障害の治療に使用するための薬学的組成物、または標的障害の治療に使用するための医薬を製造するためのそのようなCD40結合分子および／または抗CD40抗体の使用を特徴とする。

【0029】

本発明の1つ以上の実施形態の詳細は、以下の説明に記載されている。本発明の他の特徴または利点は、以下の図面およびいくつかの実施形態の詳細な説明から、ならびに添付の特許請求の範囲からも明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図1A】示されている様々な濃度で、CHO-K1細胞に発現される様々なタイプのFcγ受容体に対して示される様々な抗CD40抗体383 IgGバリエーションの結合活性を示すグラフである。各IgGバリエーションの濃度は、左から右に、0.1 μg/ml、0.3 μg/ml、1 μg/ml、3 μg/ml、10 μg/ml、および30 μg/mlである。右端の2つのバー（「二次のみ」および「ブランク」）が対照となる。図1A：FcγRIに対する結合親和性。

【図1B】示されている様々な濃度で、CHO-K1細胞に発現される様々なタイプのFcγ受容体に対して示される様々な抗CD40抗体383 IgGバリエーションの結合活性を示すグラフである。各IgGバリエーションの濃度は、左から右に、0.1 μg/ml、0.3 μg/ml、1 μg/ml、3 μg/ml、10 μg/ml、および30 μg/mlである。右端の2つのバー（「二次のみ」および「ブランク」）が対照となる。図1B：FcγRIIに対する結合親和性。

【図1C】示されている様々な濃度で、CHO-K1細胞に発現される様々なタイプのFcγ受容体に対して示される様々な抗CD40抗体383 IgGバリエーションの結合活性を示すグラフである。各IgGバリエーションの濃度は、左から右に、0.1 μg/ml、0.3 μg/ml、1 μg/ml、3 μg/ml、10 μg/ml、および30 μg/mlである。右端の2つのバー（「二次のみ」および「ブランク」）が対照となる。図1C：FcγRIIBに対する結合親和性。

【図1D】示されている様々な濃度で、CHO-K1細胞に発現される様々なタイプのFcγ受容体に対して示される様々な抗CD40抗体383 IgGバリエーションの結合活性を示すグラフである。各IgGバリエーションの濃度は、左から右に、0.1 μg/ml、0

10

20

30

40

50

・ $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $30 \mu\text{g}/\text{ml}$ である。右端の2つのバー（「二次のみ」および「ブランク」）が対照となる。図1D：FcγRIIIAに対する結合親和性。

【図2】IL8分泌によって示される多数の抗CD40抗体383 IgGバリエーションによるレポーターアッセイにおけるヒトCD40活性化の刺激を示すグラフである。各IgGバリエーションの濃度は、左から右に、 $0.003 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.03 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ に対応する。

【図3A】CHO-K1細胞に発現する様々なタイプのFcγ受容体に対して示される、多数の抗CD40抗体383 IgGバリエーションの結合活性を示すグラフである。各抗CD40抗体383 IgGバリエーションの濃度は、左から右に、 $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $30 \mu\text{g}/\text{ml}$ である。右端の2つのバー（「二次のみ」および「ブランク」）が対照となる。図3A：FcγRIIBに対する結合親和性。

10

【図3B】CHO-K1細胞に発現する様々なタイプのFcγ受容体に対して示される、多数の抗CD40抗体383 IgGバリエーションの結合活性を示すグラフである。各抗CD40抗体383 IgGバリエーションの濃度は、左から右に、 $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $30 \mu\text{g}/\text{ml}$ である。右端の2つのバー（「二次のみ」および「ブランク」）が対照となる。図3B：FcγRIに対する結合親和性。

20

【図3C】CHO-K1細胞に発現する様々なタイプのFcγ受容体に対して示される、多数の抗CD40抗体383 IgGバリエーションの結合活性を示すグラフである。各抗CD40抗体383 IgGバリエーションの濃度は、左から右に、 $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $30 \mu\text{g}/\text{ml}$ である。右端の2つのバー（「二次のみ」および「ブランク」）が対照となる。図3C：FcγRIIAに対する結合親和性。

【図3D】CHO-K1細胞に発現する様々なタイプのFcγ受容体に対して示される、多数の抗CD40抗体383 IgGバリエーションの結合活性を示すグラフである。各抗CD40抗体383 IgGバリエーションの濃度は、左から右に、 $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $30 \mu\text{g}/\text{ml}$ である。右端の2つのバー（「二次のみ」および「ブランク」）が対照となる。図3D：FcγRIIIAに対する結合親和性。

30

【図4A】溶液および／またはFcγRIIB発現細胞との共培養、における多数の抗CD40抗体383 IgGバリエーションによるレポーターアッセイでのIL8分泌により示されるヒトCD40活性化の刺激を示すグラフである。各IgGバリエーションの濃度は、左から右に、 $0.003 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.03 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ に対応する。破線は、各アッセイのベースラインレポーターシグナルを示している。図4A：IgGバリエーションIgG1m2、IgG2m20、IgG1m40、IgG4m40。

【図4B】溶液および／またはFcγRIIB発現細胞との共培養、における多数の抗CD40抗体383 IgGバリエーションによるレポーターアッセイでのIL8分泌により示されるヒトCD40活性化の刺激を示すグラフである。各IgGバリエーションの濃度は、左から右に、 $0.003 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.03 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ に対応する。破線は、各アッセイのベースラインレポーターシグナルを示している。図4B：IgGバリエーションIgG1m240、IgG2m2040、IgG4m41、IgG4m42、IgG2m43、IgG2m44、およびIgG4mAA。

40

【図4C】溶液および／またはFcγRIIB発現細胞との共培養、における多数の抗CD40抗体383 IgGバリエーションによるレポーターアッセイでのIL8分泌により示されるヒトCD40活性化の刺激を示すグラフである。各IgGバリエーションの濃度は、左

50

から右に、 $0.003 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.03 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ に対応する。破線は、各アッセイのベースラインレポーターシグナルを示している。図4C：IgGバリエーションIgG1N297A、IgG2mAA、IgG2G4、IgG4mPE、およびIgG1mAA G。

【図4D】溶液および／またはFcγRIIB発現細胞との共培養、における多数の抗CD40抗体383 IgGバリエーションによるレポーターアッセイでのIL8分泌により示されるヒトCD40活性化の刺激を示すグラフである。各IgGバリエーションの濃度は、左から右に、 $0.003 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.03 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ に対応する。破線は、各アッセイのベースラインレポーターシグナルを示している。図4D：IgGバリエーションIgG1m47、IgG1m48、IgG1m49、IgG1m50、およびIgG1mAA。

【図4E】溶液および／またはFcγRIIB発現細胞との共培養、における多数の抗CD40抗体383 IgGバリエーションによるレポーターアッセイでのIL8分泌により示されるヒトCD40活性化の刺激を示すグラフである。各IgGバリエーションの濃度は、左から右に、 $0.003 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.03 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ に対応する。破線は、各アッセイのベースラインレポーターシグナルを示している。図4E：IgGバリエーションIgG4m46およびIgG4m30。

【図4F】溶液および／またはFcγRIIB発現細胞との共培養、における多数の抗CD40抗体383 IgGバリエーションによるレポーターアッセイでのIL8分泌により示されるヒトCD40活性化の刺激を示すグラフである。各IgGバリエーションの濃度は、左から右に、 $0.003 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.03 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ に対応する。破線は、各アッセイのベースラインレポーターシグナルを示している。図4F：IgGバリエーションIgG1m27、IgG2m19、IgG2m1、IgG4m2およびIgG4m20。

【図5A】溶液における（図5Aおよび5B）またはヒトFcγRIIBを発現するCHO細胞の共培養における（図5Cおよび5D）、抗体による健康なドナーからのヒト樹状細胞（DC）の活性化で示される、例示的な抗CD40抗体383 IgGバリエーションの活性を示す棒グラフのセットを含む。DC活性化は、培養上清中のIL-8のシグナル棒グラフによって示される。

【図5B】溶液における（図5Aおよび5B）またはヒトFcγRIIBを発現するCHO細胞の共培養における（図5Cおよび5D）、抗体による健康なドナーからのヒト樹状細胞（DC）の活性化で示される、例示的な抗CD40抗体383 IgGバリエーションの活性を示す棒グラフのセットを含む。DC活性化は、培養上清中のIL-8のシグナル棒グラフによって示される。

【図5C】溶液における（図5Aおよび5B）またはヒトFcγRIIBを発現するCHO細胞の共培養における（図5Cおよび5D）、抗体による健康なドナーからのヒト樹状細胞（DC）の活性化で示される、例示的な抗CD40抗体383 IgGバリエーションの活性を示す棒グラフのセットを含む。DC活性化は、培養上清中のIL-8のシグナル棒グラフによって示される。

【図5D】溶液における（図5Aおよび5B）またはヒトFcγRIIBを発現するCHO細胞の共培養における（図5Cおよび5D）、抗体による健康なドナーからのヒト樹状細胞（DC）の活性化で示される、例示的な抗CD40抗体383 IgGバリエーションの活性を示す棒グラフのセットを含む。DC活性化は、培養上清中のIL-8のシグナル棒グラフによって示される。

【図6A】CHO-K1細胞に発現するヒトCD40に対して示される、抗CD40抗体383 IgGバリエーションの結合活性を示すグラフである。各IgGバリエーションの濃度は、左から右に、 $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ である。右端の3つのバー（「ハーセプチン」、「二次のみ」、および「ブランク」）が対照となる。図6A：示されるように、多数の抗CD40抗体383 IgGバリエーションは、CD40と結合する。

10

20

30

40

50

アント。

【図6B】CHO-K1細胞に発現するヒトCD40に対して示される、抗CD40抗体383 IgGバリエーションの結合活性を示すグラフである。各IgGバリエーションの濃度は、左から右に、 $0.01\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 、および $10\mu\text{g}/\text{ml}$ である。右端の3つのバー（「ハーセプチン」、「二次のみ」、および「ブランク」）が対照となる。図6B：示されるように、多数の抗CD40抗体383 IgGバリエーション。

【図7A】マウス腫瘍モデルに示される様々な抗CD40抗体383 IgGバリエーションの腫瘍成長曲線を示すグラフである。図7A：ホモ接合体B-hCD40 C57BL6マウスにおける抗体処理後の様々な時点での腫瘍体積変化を示すグラフ。腫瘍サイズの平均±SEMを示す。

10

【図7B】マウス腫瘍モデルに示される様々な抗CD40抗体383 IgGバリエーションの腫瘍成長曲線を示すグラフである。図7B：ホモ接合体B-hCD40 C57BL6マウスにおいて示される、抗体の処理後の血清アラニン转スアミナーゼ（ALT、肝損傷時に血清中に放出される肝酵素）レベルを示すグラフである。腫瘍サイズの平均±SEMを示す。

【発明を実施するための形態】

【0031】

本明細書で提供されるのは、CD40結合部分（例えば、CD40リガンドの細胞外ドメインまたは抗CD40抗体フラグメント）および操作された（バリエーション）Fc領域を含むCD40結合分子（例えば、CD40アゴニストまたはCD40アンタゴニスト）であり、1つ以上のFc受容体に対して改変された結合親和性および／または特異性、例えば、FcγRIIBに対して増強した結合親和性、FcγRIIBに対して増強した結合特異性、および／または1つ以上のFcγR受容体に対して実質的に低下した結合親和性（例えば、すべてのFcγR受容体に対して低い結合活性または結合活性がない）、を有し得る。

20

【0032】

このようなCD40結合分子は、予想外の優れた治療活性を示すことが期待されている。例えば、FcγRIIBに対して増強した結合親和性を有するバリエーションFc領域を有するCD40結合分子は、増強されたアゴニスト活性を示すことが期待され、FcγRIIBに対して増強した結合特異性を有するバリエーションFc領域を有するCD40結合分子は、野生型対応物と比較してより高い腫瘍選択性を示すことが期待される。さらに、FcγR受容体に対して低い結合親和性を有するまたは全く有しないCD40結合分子は、腫瘍微小環境においてCD40陽性免疫細胞を活性化し、かつ／または免疫障害においてCD40陽性免疫細胞を遮断するのに役立つ。

30

【0033】

したがって、本明細書に記載されているのは、CD40結合部分と、IgG分子（例えば、ヒトIgG1、ヒトIgG2、およびヒトIgG4分子などのIgG1、IgG2、およびIgG4分子）のものであり得る操作されたFc領域（Fcバリエーション）とを含むCD40結合分子を設計するためのアプローチ、および免疫応答を調節するためのそれらの使用である。そのようなFcバリエーションは、野生型対応物と比較して、FcγRIIB（CD32B）に対して増強された結合親和性および／またはFcγRIII（CD16）などの他のFc受容体と比較して増強された結合選択性を有し得る。あるいは、そのようなFcバリエーションは、野生型対応物と比較して、1つ以上のFcγR受容体（例えば、すべてのFcγR受容体）に対して実質的に低下した結合親和性を有し得る。「実質的に低下した」とは、FcバリエーションのFcγR受容体に対する結合親和性が、同じFcγR受容体に対する野生型対応物の結合親和性より少なくとも60%低い（例えば、70%低い、80%低い、90%低い、95%低い、98%低い、または99%低い）ことを意味する。いくつかの例では、Fcバリエーションは、すべてのFcγR受容体に対して低い結合親和性を有し得るかまたは全く結合親和性を有し得ない、すなわち、結合親和性が従来の

40

50

アッセイによって検出できないか、または結合親和性が実質的に低く、有意な生物活性が誘発されない。

【0034】

I. CD40 結合分子

本明細書に記載されているのは、本明細書に記載の、1つ以上のFc受容体に対して改変された結合親和性および／または特異性を有する操作されたFc領域に連結されたCD40結合部分を含むCD40結合分子である。このようなCD40結合分子は、細胞表面CD40に結合すると、CD40／CD40Lによって媒介されるシグナル伝達を誘発することができるCD40アゴニストになり得る。あるいは、本明細書に記載のCD40結合分子は、細胞表面CD40に結合するとCD40／CD40Lによって媒介されるシグナル伝達を阻害することができる、CD40アンタゴニストである。CD40結合分子は、治療を必要とする対象に投与された場合、免疫応答を調節する（選択的に調節する）のに有用である。

【0035】

(i) CD40 結合部分

本明細書に記載のCD40結合部分は、CD40、例えばヒトCD40、に結合する任意のペプチドまたはポリペプチドであり得る。CD40は当技術分野でよく知られている免疫細胞受容体である。例えば、NCBI GenBankアクセッション番号P25942.1およびAAB08705.1は、それぞれヒトおよびマウスCD40に関する情報を提供する。以下に提供されるのは、例示的なヒトCD40ポリペプチドのアミノ酸配列である。

【0036】

ヒトCD40：

MVRLPLQCVLWGC LLTAVHPEPPTACREKQYLINSQCCSL
CQPGQKLVSDCTEFTETEC LPCGESEFLDT
WNRETHCHQH KYCDPNLGLRVQQKGTSETDTICTCEE GWH
CTSEACESCVLHRSCSPGF GVKQIATGVSD
TICEPCPVGFFSNVSSAF EKCHPWTSCETKDLVVQQAGTN
KTDVVCGPQDRLRALVV IPIIFGILFAILL
VLVFIKKVAKKPTNKAPHPKQEPQEINFPDDLPGSNTAAP
VQETLHGCQPVTQEDGKESRISVQERQ (配列番号141)

他の種からのCD40ポリペプチドは当技術分野で知られており、ヒト配列またはマウス配列のいずれかをクエリとして使用して、公的に利用可能な遺伝子データベース、例えば、GenBankから取得することができる。

【0037】

いくつかの実施形態では、CD40結合部分は、CD40リガンド（CD40LまたはCD154）の細胞外ドメインを含むポリペプチドであり得る。CD40Lは、T細胞の表面に発現する膜糖タンパク質である。この分子は、B細胞の増殖およびサイトカインの存在下での免疫グロブリンの分泌を刺激することが示されている。さらに、CD40Lは末梢血単球でサイトカイン産生と殺腫瘍活性を誘導し得る。CD40Lの配列およびその細胞外ドメインは当技術分野でよく知られている。例えば、NCBI GenBankアクセッション番号NP_000065.1（細胞外ドメイン、アミノ酸47～261）は、ヒトCD40Lに関する情報を提供する。以下に提供されるのは、例示的なヒトCD40Lの細胞外ドメインのアミノ酸配列である。

【0038】

ヒトCD40L（細胞外ドメイン）：

HRRLDKIEDERNLHEDFVFMKTIQRCNTGERSLSLLNCEE
IKSQFEGFVKDIMLNKEETKKENSFEMQKGDQNPQIAAHV
ISEASSKTTTSVLQWAEKGYTMSNNLVTLENGKQLTVKRQ
GLYYIYAQVTFCSNREASSQAPFIASLCLKSPGRFERILL

RAANTHSSAKPCGQQSIHLGGVFELQPGASVFNVTDP SQ
VSHGTGFTSFGLLKL (配列番号140)

他の種からのCD40Lポリペプチドは当技術分野で知られており、ヒト配列をクエリとして使用して、公的に利用可能な遺伝子データベース、例えば、GenBankから取得することができる。

【0039】

他の実施形態では、本明細書に記載のCD40結合部分は、抗CD40抗体を含むことができる。本明細書で使用される場合、「抗CD40抗体」という用語は、CD40ポリペプチドに結合することができる任意の抗体を指し、これは、好適な供給源、例えば、ヒトまたは非ヒト哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、サルなどの霊長類）のものであり得る。

【0040】

本明細書に記載の抗CD40抗体は、本明細書に記載のFcバリエーションのいずれかに連結される重鎖可変ドメインを含む重鎖、ならびに任意選択で、軽鎖可変領域および軽鎖定常領域を含む軽鎖を含む。重鎖可変領域（V_H）および任意選択で軽鎖可変領域（V_L）は通常、抗原（この場合はCD40）の結合に関与する。

【0041】

V_HおよびV_L領域は、「相補性決定領域」（「CDR」）としても知られる超可変性の領域にさらに細分化でき、「フレームワーク領域」（「FR」）として知られる、より保存された領域が点在する。各V_HおよびV_Lは、典型的には、3つのCDRおよび4つのFRから構成され、アミノ末端からカルボキシ末端まで、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順序で配置されている。フレームワーク領域およびCDRの範囲は、当技術分野で知られている方法論を使用して、例えば、これらすべてが当技術分野でよく知られている、Kabat定義、Chothia定義、AbM定義、および／または接触定義によって、正確に同定できる。例えば、Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242, Chothia et al., (1989) Nature 342:877, Chothia, C. et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917, Al-lazikani et al (1997) J. Molec. Biol. 273:927-948、およびAlmagro, J. Mol. Recognit. 17:132-143 (2004)を参照されたい。hgm.p.mrc.ac.ukおよびbioinf.org.uk/absも参照されたい。

【0042】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD40抗体は、CD40に結合し、CD40の活性を少なくとも50%（例えば、その中の任意の増分を含めて、60%、70%、80%、90%、95%以上）阻害することができる。阻害剤の効力の尺度を提供する見かけの阻害定数（K_i^{app}またはK_{i, app}）は、酵素活性を低下させるために必要な阻害剤の濃度に関連し、酵素濃度に依存しない。本明細書に記載の抗CD40抗体の阻害活性は、当技術分野で知られている通常の方法によって決定することができる。

【0043】

抗体のK_{i, app}値は、反応の程度（例えば、酵素活性）に対する様々な濃度の抗体の阻害効果を測定することによって決定することができ、阻害剤濃度の関数としての疑似一次速度定数（v）の変化を修正されたモリソン方程式（式1）に当てはめると、見かけのK_i値の推定値が得られる。競合阻害剤の場合、K_i^{app}は、K_{i, app}対基質濃度のプロットの線形回帰分析から抽出されたy切片から取得することができる。

【0044】

【数1】

10

20

30

40

50

$$v = A \cdot \frac{([E] - [I] - K_i^{app}) + \sqrt{([E] - [I] - K_i^{app})^2 + 4[E] \cdot K_i^{app}}}{2} \quad (\text{式 1})$$

ここで、Aは、 v_0/E に相当し、阻害剤の非存在下での酵素反応の初速度（ v_0 ）を総酵素濃度（E）で割ったものである。

【0045】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD40抗体は、標的抗原または抗原エピトープについて1000、900、800、700、600、500、400、300、200、100、50、40、30、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5pM以下の K_i^{app} 値を有し得る。いくつかの実施形態では、抗CD40抗体のいずれかは、標的抗原またはその抗原性エピトープに対する抗体の K_i^{app} を低下させるために、さらに親和性成熟され得る。

【0046】

場合によっては、抗CD40抗体は、CD40/CD40L相互作用によって誘発されるシグナル伝達を少なくとも50%（例えば、その中の任意の増分を含めて、60%、70%、80%、90%、95%以上）抑制することができる。そのような阻害活性は、従来の方法または本明細書に記載のアッセイによって決定することができる。

【0047】

本明細書に記載の抗体は、マウス、ラット、ヒト、または他の任意の起源（キメラまたはヒト化抗体を含む）であり得る。そのような抗体は、天然に存在しない、すなわち、ヒトの作用なしに動物で産生されない（例えば、そのような動物を所望の抗原またはそのフラグメントで免疫するか、または抗体ライブラリーから単離する）。

【0048】

いくつかの実施形態では、抗CD40抗体は、ヒト化抗体であり、これは、本明細書の以下または他の箇所に記載される要素または特徴のうちの1つ以上を有し得る。ヒト化抗体は、特異的なキメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、または非ヒト免疫グロブリンに由来する最小限の配列を含むそれらの抗原結合フラグメントである非ヒト（例えば、マウス）抗体の形態を指す。一般に、ヒト化抗体は、レシピエントのCDRからの残基が、所望の特異性、親和性、および容量を有するマウス、ラット、またはウサギなどの非ヒト種（ドナー抗体）のCDRからの残基によって置き換えられるヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。場合によっては、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域（FR）残基が、対応する非ヒト残基に置き換えられる。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にも、移入されたCDRもしくはフレームワーク配列にも見られないが、抗体性能をさらに洗練および最適化するために含まれる残基を含み得る。場合によっては、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、および典型的には2つの可変ドメインの実質的にすべてを含み得、ここで、CDR領域のすべてまたは実質的にすべてが、非ヒト免疫グロブリンの領域に対応し、かつFR領域のすべてまたは実質的にすべてが、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列の領域である。ヒト化抗体はまた、最適には、免疫グロブリン定常領域またはドメイン（Fc）の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンのものを含むであろう。抗体は、WO99/58572に記載されているように修飾されたFc領域を有し得る。他の形態のヒト化抗体は、元の抗体に対して改変された1つ以上のCDR（1、2、3、4、5、または6つ）を有し、これらは元の抗体に由来する1つ以上のCDRに「由来する」1つ以上のCDRとも呼ばれる。ヒト化抗体はまた、親和性成熟を伴い得る。

【0049】

ヒト化抗体を構築するための方法もまた、当技術分野でよく知られている。例えば、Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10029-10033 (1989)を参照されたい。一例では、親非ヒト抗体の V_H および V_L の可変領域は、当技術分野で知られている方法に従って三次元分子モデリング分析に供さ

れる。次に、正しいCDR構造の形成に重要であると予測されるフレームワークアミノ酸残基が、同じ分子モデリング分析を使用して同定される。並行して、親非ヒト抗体のアミノ酸配列と相同であるアミノ酸配列を有するヒトV_HおよびV_L鎖は、検索クエリとして親V_HおよびV_L配列を使用して任意の抗体遺伝子データベースから同定される。次に、ヒトV_HおよびV_Lアクセプター遺伝子を選択される。

【0050】

選択されたヒトアクセプター遺伝子内のCDR領域は、親非ヒト抗体またはその機能的バリエーションからのCDR領域で置き換えることができる。必要に応じて、CDR領域との相互作用に重要であると予測される親鎖のフレームワーク領域内の残基を使用して、ヒトアクセプター遺伝子の対応する残基を置き換えることができる。

【0051】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD40抗体は、対応する標的抗原またはそのエピトープ、例えば、CD40抗原またはエピトープに特異的に結合する。抗原またはエピトープに「特異的に結合する」抗体は、当技術分野でよく理解されている用語である。分子は、代替の標的よりも頻繁に、より迅速に、より長い持続時間で、および／または特定の標的抗原とのより大きな親和性で反応する場合、「特異的結合」を示すといわれる。抗体は、他の物質に結合するよりも高い親和性で、アビディティで、より容易に、および／またはより長い持続時間で結合する場合、標的抗原またはエピトープに「特異的に結合する」。例えば、抗原(CD40)またはその中の抗原性エピトープに特異的に(または優先的に)結合する抗体は、それが同じ抗原内の他の抗原または他のエピトープに結合するよりも、より高い親和性で、アビディティで、より容易に、および／またはより長い持続時間でこの標的抗原に結合する抗体である。この定義により、例えば、第1の標的抗原に特異的に結合する抗体は、第2の標的抗原に特異的または優先的に結合する場合もしない場合もあることも理解される。したがって、「特異的結合」または「優先的結合」は、(それを含むことができるが)必ずしも排他的結合を必要としない。いくつかの例では、標的抗原またはそのエピトープに「特異的に結合する」抗体は、同じ抗原内の他の抗原または他のエピトープに結合しない場合がある(すなわち、ベースライン結合活性のみが従来の方法で検出できる)。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD40抗体は、CD40に特異的に結合する。あるいは、またはさらに、本明細書に記載の抗CD40抗体は、マウス対応物と比較してヒトCD40またはそのフラグメントに特異的に結合するか、またはその逆である(例えば、同じアッセイ条件下で同じアッセイで決定されるように、一方の抗原に対して他方よりも少なくとも10倍高い結合親和性を有する)。他の例では、本明細書に記載の抗CD40抗体は、ヒトおよび非ヒトCD40(例えば、マウス)と交差反応する可能性があり、例えば、ヒトおよび非ヒトCD40に対する結合親和性の差は5倍未満、例えば2倍未満、または実質的に同様である。

【0052】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるような抗CD40抗体は、標的抗原(例えば、CD40)またはその抗原性エピトープに対して好適な結合親和性を有する。本明細書で使用される場合、「結合親和性」は、見かけの会合定数またはK_Aを指す。K_Aは、解離定数(K_D)の逆数である。本明細書に記載される抗CD40抗体は、標的抗原または抗原性エピトープに対して少なくとも10⁻⁵、10⁻⁶、10⁻⁷、10⁻⁸、10⁻⁹、10⁻¹⁰ Mの、またはそれより低い結合親和性(K_D)を有する。結合親和性の増加は、K_Dの減少に相当する。第2の抗原と比較して第1の抗原に対する抗体のより高い親和性結合は、第2の抗原を結合するためのK_A(または数値K_D)よりも第1の抗原を結合するためのより高いK_A(またはより小さい数値K_D)によって示すことができる。そのような場合、抗体は、第2の抗原(例えば、第2のコンフォメーションもしくはその模倣物の同じ第1のタンパク質、または第2のタンパク質)と比較して、第1の抗原(例えば、第1のコンフォメーションもしくはその模倣物の第1のタンパク質)に対して特異性を有する。結合親和性の違い(例えば、特異性または他の比較のための)は、少なくとも1.5、2、3、4、5、10、15、20、37.5、50、70、80、91、

10

20

30

40

50

100、500、1000、10,000または 10^5 倍になり得る。いくつかの実施形態では、抗CD40抗体のいずれかは、標的抗原またはその抗原性エピトープに対する抗体の結合親和性を増加させるために、さらに親和性成熟され得る。

【0053】

結合親和性（または結合特異性）は、平衡透析、平衡結合、ゲル濾過、ELISA、表面プラズモン共鳴、または分光法（例えば、蛍光アッセイを使用）を含む様々な方法によって決定することができる。結合親和性を評価するための例示的な条件は、HBSP緩衝液（10mM HEPES pH7.4、150mM NaCl、0.005%（v/v）Surfactant P20）である。これらの技術は、標的タンパク質濃度の関数として結合した結合タンパク質の濃度を測定するために使用することができる。結合した結合タンパク質の濃度（[Bound]）は、一般に、次の式によって遊離の標的タンパク質（[Free]）の濃度に関連している。

$$[\text{Bound}] = [\text{Free}] / (K_d + [\text{Free}])$$

ただし、例えば、ELISAまたはFACS分析などの方法を使用して決定される親和性の定量的測定を取得するだけで K_A に比例する場合があります、したがって、例えば2倍高いなどのより高い親和性が親和性の定性的測定値を取得することであるか、または例えば機能アッセイ、例えばインビトロもしくはインビボアッセイ、における活性による親和性の推測を取得することであるかどうかを決定するなどの比較に使用できるため、 K_A の正確な決定を行う必要は必ずしもない。

【0054】

以下に、例である抗CD40抗体383を提供する（ V_H および V_L アミノ酸配列、CDRは太字で示されている）。

V_H ：

【化1】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWRQAPGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTR
DTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGTLVTVSS（配列番号128）

V_L ：

【化2】

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFT
LTISSLQPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGTKVEIK（配列番号129）

さらなる例示的な抗CD40抗体を以下に提供する（CDRは太字で示されている）。

【0055】

19G6D6

V_H ：

【化3】

EVQLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDINPNNDISIYNQKFRGKATLTV
DKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCARRFAYWGQGTLVTVSA（配列番号130）

V_L ：

【化4】

DVVMVTQIPLSLPVSIGDQASISCRSSQSLVYSYGNTYLHWFLQKPGQSPKLLIYNVSNRFSGVDPDRFSGSGS
GTDFTLRISRVEAEDLGVFCSQGTHVPWTFGGGTKLEIK（配列番号131）

36G7B8

V_H ：

10

20

30

40

50

【化 5】

QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYIFISYWIHWLKQRPGRGLEWIGRIDPNNGGTTYNEKFRYKASLTV
DKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTKGVITTLVAGDYWGQGTTTLTVSS

(配列番号 1 3 2)

V_L :

【化 6】

DIQMTQSPASLSASLGTVSIECLASEDISNDLAWYQQKSGKSPQLLIYFVDRLLDGVPSPRFSGSGSGTRHS
LKISGMQPEDEADYFCQQSYKYPPTFGGGTKLELK (配列番号 1 3 3)

10

1 3 F 1 A 7

V_H :

【化 7】

EVQILETGGGLVKPGGSLRLSCATSGFNFNDSFMNWVRQAPGKGLEWVAQIRNKNYNYATYYTESLEGRVTI
SRDDSKSRVYLQVSSLRAEDSAVYYCTSYYYDGFADYFDYWGQGVMTVSS (配列番号 1 3 4)

V_L :

【化 8】

EIVLTQSPPTMAASPGKITITCSASSSISSNYLHWYQQKPGSSPKVLIYRTSNLASGVPVRFSGSGSGTSY
SLTIGTMEADVATYYCQQGSSIPYTFGGGTKLEIK (配列番号 1 3 5)

20

9 F 1 2 D 9

V_H :

【化 9】

EVHLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFTFTNYGLHWIRQAPTKGLEWVASISPSGGVTTYRDSVKGRFTISR
DNGKTTLHLQMDSLRSEDATYYCALPFLGWGGANWIAHWGQGTTLTVSS (配列番号 1 3 6)

V_L :

【化 10】

DIKVTQSPSFLSASVGDRATINCKASQNLNKYLNWYQQKPGEPKLLIYNTDNLTYTGIPSRFSGSGSVADFT
LTISGLQPEDVATYFCMQHNVRRTFGGGTKLELK (配列番号 1 3 7)

30

1 7 C 5 C 2

V_H :

【化 11】

EVHILETGGGLVKPGGSLGLSCTTSGFNFNDFMNWVRQAPGKGLEWVAQIRNGNYDYAAYYAESLEGRVTI
SRDDSKSSVNLQVSSLRAEDTAIYYCTSYYYDGHFDYFDNWGHGVMVTVSS (配列番号 1 3 8)

V_L :

【化 12】

DIKMTQSPSFLSASVGDSVTFTCKASQNIYIYLNWYQQKFGAPKLLIYNTNNLQTGIPSRFSGSESGTVFT
LTISSLQPEDVATYFCLOHSSRRTFGGGTKLELK (配列番号 1 3 9)

40

【0 0 5 6】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗 CD 40 抗体は、本明細書に記載の例示的な抗体のいずれかと同じエピトープに結合するか、または CD 40 抗原に対する結合から例示的な抗体と競合する。

【0 0 5 7】

「エピトープ」は、抗体によって認識され、結合される標的抗原上の部位を指す。この部位は、完全にアミノ酸成分で構成されていても、完全にタンパク質のアミノ酸の化学修

50

飾（例えば、グリコシル部分）で構成されていても、またはこれらの組み合わせで構成されていてもよい。重複するエピトープには、少なくとも1つの共通のアミノ酸残基が含まれる。エピトープは線形であり得、これは典型的には、6～15アミノ酸長である。あるいは、エピトープは立体構造であり得る。抗体が結合するエピトープは、通常の技術、例えば、エピトープマッピング法によって決定することができる（例えば、以下の説明を参照されたい）。本明細書に記載の例示的な抗体と同じエピトープに結合する抗体は、例示的な抗体と、正確に同じエピトープまたは実質的に重複するエピトープ（例えば、3つ未満の重複しないアミノ酸残基、2つ未満の重複しないアミノ酸残基、または1つのみの重複しないアミノ酸残基を含む）に結合し得る。同族の抗原に対する結合で2つの抗体が互いに競合するかどうかは、当技術分野でよく知られている競合アッセイによって決定することができる。

10

【0058】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗CD40抗体は、(a) 配列番号128および配列番号129、(b) 配列番号130および配列番号131（19G6D6）、(c) 配列番号132および配列番号133（36G7B8）、(d) 配列番号134および配列番号135（13F1A7）、(e) 配列番号136および配列番号137（9F12D9）、または(f) 配列番号138および配列番号139（17C5C2）のものと同じ重鎖および軽鎖CDRを含む。いくつかの例では、抗CD40抗体は、配列番号128、配列番号130、配列番号132、配列番号134、配列番号136、もしくは配列番号138の重鎖可変ドメイン、および／または配列番号129、配列番号131、配列番号133、配列番号135、配列番号137、もしくは配列番号139の軽鎖可変ドメインを含む。

20

【0059】

また、本開示の範囲内に、本明細書に開示される例示的な抗CD40抗体のいずれか1つの機能的バリエーションがある。このような機能的バリエーションは、構造的および機能的の両方において、例示的な抗CD40抗体のいずれか1つと実質的に類似している。機能的バリエーションは、例示的な抗CD40抗体のいずれか1つと実質的に同じV_HおよびV_LCDRを含む。例えば、それは、抗体の全CDR領域（集合的に）において最大10（例えば、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1）個のアミノ酸残基変異のみを含むことができ、CD40の同じエピトープに実質的に同様の親和性で結合する（例えば、同じオーダーでのK_D値を有する）。あるいは、またはさらに、アミノ酸残基変異は、保存的なアミノ酸残基の置換である。本明細書で使用される場合、「保存的なアミノ酸置換」は、アミノ酸置換が行われるタンパク質の相対的な電荷またはサイズ特性を改変させないアミノ酸置換を指す。バリエーションは、当技術分野の通常の技術の1つに知られているポリペプチド配列を改変するための方法、例えばそのような方法をまとめる参考文献、例えば、*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, J. Sambrook, et al., eds., Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989、または*Current Protocols in Molecular Biology*, F. M. Ausubel, et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., New Yorkに見られるような方法、に従って調製することができる。アミノ酸の保存的な置換には、以下のグループ内のアミノ酸間で行われる置換が含まれる (a) M、I、L、V、(b) F、Y、W、(c) K、R、H、(d) A、G、(e) S、T、(f) Q、N、および(g) E、D。

30

【0060】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD40抗体は、組み合わせて（集合的に）、配列番号128、配列番号130、配列番号132、配列番号134、配列番号136、または配列番号138の重鎖CDRと少なくとも80%（例えば、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%およびその中の任意の増分パーセント）の配列同一性を有する重鎖CDRを含み得る。あるいは、またはさらに、抗CD40

50

抗体は、集合的に、配列番号129、配列番号131、配列番号133、配列番号135、配列番号137、または配列番号139のものと少なくとも80%（例えば、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%およびその中の任意の増分パーセント）の配列同一性を有する軽鎖CDRを含み得る。

【0061】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗CD40抗体は、配列番号128、130、132、134、136、もしくは138に対して少なくとも80%（例えば、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%およびその中の任意の増分パーセント）である重鎖可変ドメインおよび／または配列番号129、131、133、135、137、もしくは139と少なくとも80%（例えば、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%およびその中の任意の増分パーセント）同一である軽鎖可変ドメインを含み得る。

【0062】

2つのアミノ酸配列の「パーセント同一性」は、Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77, 1993のように修正される、Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68, 1990のアルゴリズムを使用して決定される。このようなアルゴリズムは、Altschul, et al. J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990のNBLASTおよびXBLASTプログラム（バージョン2.0）に組み込まれている。BLASTタンパク質検索は、XBLASTプログラム、スコア=50、ワード長=3を用いて実施され、目的のタンパク質分子に相同なアミノ酸配列を取得することができる。2つの配列の間にギャップが存在する場合、Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402, 1997に記載されているように、Gapped BLASTを利用することができる。BLASTおよびGapped BLASTプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム（例えば、XBLASTおよびNBLAST）のデフォルトパラメータを使用することができる。

【0063】

(ii) 操作されたFc領域

本明細書に記載のCD40結合分子は、Fcドメインが修飾されて、FcγRなどのFc受容体に対するその結合親和性および／または特異性を調節する、修飾された重鎖定常領域を含む。

【0064】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のCD40結合分子におけるFcバリエーションは、その野生型対応物と比較して、FcγRIIB選択性が増強されている。FcγRIIBに対する選択性、FcγRIIBに対する選択的結合、またはFcγRIIBに対する特異的結合を有するFcフラグメントは、当技術分野でよく理解されている用語である。分子は、別の標的（例えば、FcγRIII受容体）との反応よりも、特定の標的抗原（例えば、FcγRIIB受容体）と、より頻繁に、より迅速に、より長い持続時間で、および／またはより大きな親和性で、反応する場合、「選択的結合」または「特異的結合」を示すといわれる。Fcフラグメントは、他のFc受容体に結合するよりも、より高い親和性で、アビディティで、より容易に、および／またはより長い持続時間で結合する場合、Fc受容体に「特異的に結合」する。例えば、FcγRIIBに特異的に（または優先的に）結合するFcフラグメントは、他のFc受容体に結合するよりもより高い親和性、アビディティで、より容易に、および／またはより長い持続時間でこのFc受容体に結合するFcフラグメントである。この定義により、例えば、第1のFc受容体に選択的または特異的に結合するFcフラグメントは、第2のFc受容体に特異的または優先的に結合する場合もしない場合もあることも理解される。したがって、「選択的結合」、「特異的結合」または「優先的結合」は、（それを含むことができるが）必ずしも排他的結合を必要としない。いくつかの例では、標的Fc受容体（例えば、FcγRIIB）に「選択

10

20

30

40

50

的に結合する」または「特異的に結合する」Fcフラグメントは、他のFc受容体に結合しない（すなわち、通常の方法では結合できない）場合がある。他の実施形態では、バリエーションFcフラグメントは、いずれのFcγRにも結合しない。

【0065】

異なるFc受容体に対するIgG1、IgG2、およびIgG4の相対的結合親和性を以下の表1に示す。

【表1】

表1. Fc受容体に対するヒトおよびマウスの免疫グロブリンの相対的結合親和性

ヒト				マウス			
FcγR	IgG1	IgG2	IgG4	FcγR	IgG1	IgG2a	IgG2b
I	++++	-	++++	I	-	++++	++++
IIA(H131)	+++	++	++	III	++	++	++
IIA(R131)	+++	+	++				
IIB	++	+/-	++	IIB	+++	++	+++
IIIA(V158)	+++	+	++	IV	-	+++	++
IIIA(F158)	++	+/-	++				

【0066】

本明細書に記載のFcバリエーションは、それらの野生型対応物（Fcバリエーションを産生するために変異が導入される野生型親Fc領域）と比較して、FcγRIIBに対する選択性を増強することができる。そのようなFcバリエーションの、FcγRIIB対他のFc受容体（例えば、FcγRIII）、に対する相対的結合活性は、野生型対応物の、FcγRIIB対他のFc受容体（例えば、FcγRIII）に対する相対的結合活性よりも高い。Fcバリエーションは、FcγRIIBに対する結合活性を増強させ、かつ／または別のFc受容体、例えば、FcγRIIIに対する結合活性を減少させ得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のFcバリエーションは、FcγRIIBおよび別のFc受容体（例えば、FcγRIII）の両方に対する結合活性を減少させ得るが、しかしながら、他のFc受容体（例えば、FcγRIII）に対する減少した結合活性のレベルは、FcγRIIBに対する減少した結合活性のレベルよりも大きい。

【0067】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のFcバリエーションは、FcγRIIBに対して好適な結合親和性を有し、例えば、Fcバリエーションが由来する野生型親Fcと比較して増強される。本明細書で使用される場合、「結合親和性」は、見かけの会合定数または K_A を指す。 K_A は、解離定数（ K_D ）の逆数である。本明細書に記載されるFcバリエーションは、FcγRIIBに対して、少なくとも 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} M、またはそれより低い結合親和性（ K_D ）を有することができる。結合親和性の増加は、 K_D の減少に相当する。第2のFc受容体と比較して第1のFc受容体に対するFcフラグメントのより高い親和性結合は、第2のFc受容体を結合するための K_A （または数値 K_D ）よりも第1のFc受容体を結合するためのより高い K_A （またはより小さい数値 K_D ）によって示すことができる。このような場合、Fcバリエーションは、第2のFc受容体と比較して第1のFc受容体に特異性を有する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のFcバリエーションは、FcγRIII（FcγRIIIAまたはFcγRIIIBのいずれか）に対する結合親和性と比較して、FcγRIIBに対するより高い結合親和性（より高い K_A またはより小さい K_D ）を有する。結合親和性の違い（例えば、特異性または他の比較のための）は、少なくとも1.5、2、3、4、5、10、15、20、37.5、50、70、80、91、100、500、1000、10,000または 10^5 倍になり得る。

【0068】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のFcバリエーションは、例えば、対応するマウスIgG、例えばマウスIgG1のアミノ酸残基に照らして、野生型のヒトIgG1、IgG2、またはIgG4 Fcフラグメントの1つ以上のアミノ酸残基を変異させることによって設計され得る。ヒトおよびマウスIgG（それぞれhIgGおよびmIgG）の配列比較を以下に示す（上から下へ、配列番号60～64、それぞれが対応するFc領域のフラグメント211～245、260～278、および320～332の組み合わせを表す）：

【化13】

	21-	22-	23-	24-	...26-	27-	...32-	33-
	12345678	9012345	67890123456789012345...	0123456789012345...	0123456789012345...	789012345678901234567890123456789012		
	上部		コア下部		CH2			
hIgG1	VDKKVEPK-SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVKFNWY...KCKVSNKALPAPI							
hIgG2	VDKTVRK-CC-V-E-CPPCPAPPVA-GPSVFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG4	VDKRVESKYG---PPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPSSI							
mIgG1	VDKKIVPR-DC--GCKPCICTVPEVS---SVFIFPP...TCVVVDISKDDPEVQFSWF...KCRVNSAAPPAPI							
mIgG2a	VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFLFPP...TCVVVDVSEDDPDVQISWF...KCKVNNKDLPAPI							

10

【0069】

野生型マウスIgG1およびIgG2 Fcフラグメントのアミノ酸配列、およびFcγR結合が低下した例示的なFcバリエーションを以下に示す。

野生型マウスIgG1 Fcフラグメントのアミノ酸配列：

VDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITL
TPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQ
FNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAPPAPIEKT
ISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVS L TCMITDFFPE
DITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNQKS
NWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTTEKSLSHSPGK（配列番号142）

20

野生型マウスIgG2a Fcフラグメントのアミノ酸配列：

VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFFPPKIKD
VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFFVNNVEVHTAQT
QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDL
APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMV
TDFMPEDIYVEWTNNGKTELN YK NTEPVLDSDGSYFMYSK
LRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK（配
列番号143）

30

変異型マウスIgG1mDANA Fcフラグメントのアミノ酸配列：

VDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITL
TPKVTCVVVAISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQ
FASTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAPPAPIEKT
ISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD KVS L TCMITDFFPE
DITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNQKS
NWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTTEKSLSHSPGK（配列番号144）

40

変異型マウスIgG2a1mDANA Fcフラグメントのアミノ酸配列：

VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFFPPKIKD
VLMISLSPIVTCVVVAVSEDDPDVQISWFFVNNVEVHTAQT
QTHREDYASTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDL
APIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMV
TDFMPEDIYVEWTNNGKTELN YK NTEPVLDSDGSYFMYSK
LRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK（配
列番号145）

【0070】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のFcバリエーションは、Fcフラグメントのヒ

50

ンジドメインに1つ以上の変異（例えば、アミノ酸置換、欠失、または付加）を含むヒトIgG1、G2、またはG4Fcバリエーションである。ヒトIgGは、ヒンジドメイン（EUインデックスによれば位置226～229）にCPPCまたはCPS Cのコアモチーフを含んでいる。位置216～225はヒンジドメインの上部（upper portion）とみなされ、位置230～238はヒンジドメインの下部（lower portion）とみなされる。ここで使用されている番号付けシステムは、明示的に示されていない限り、EUインデックスに準拠している。いくつかの例では、1つ以上の変異は、ヒンジドメインの上部に位置することができる。あるいは、またはさらに、1つ以上の変異は、ヒンジドメインの下部に位置することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される抗CD40分子のいずれかのFc領域は、位置220～331のうちのいずれか、好ましくは位置228～329のうちのいずれかで少なくとも1つの変異を含み得る。このようなFcバリエーションは、それらの天然の対応物と比較して、Fc受容体のうちの1つ以上（例えば、FcγRIIB、FcγRI、FcγRIIA、またはFcγRIIA）に対して改変された結合親和性および／または特異性を有する可能性がある。

【0071】

いくつかの実施形態では、ヒトIgG Fcに対する変異は、マウスIgG1のヒンジドメインにおける対応するアミノ酸残基に従って行うことができる。例えば、マウスIgG1には、位置236～238にGGPモチーフが含まれていない。したがって、このGGPモチーフの1つ以上の残基を、ヒトIgG1、IgG2、またはIgG4Fcフラグメントから削除して、本明細書に記載のFcバリエーションを産生することができる。

【0072】

あるいは、またはさらに、ヒトFcバリエーションは、ヒンジドメインの上部、下部、または両方に1つ以上のアミノ酸置換を含み得る。例えば、Fcバリエーションは、位置233、234、235、および／または236のうちの1つ以上で1つ以上のアミノ酸置換を含み得る。このようなアミノ酸置換は、本明細書に記載のGGPモチーフ（236～238）の1つ以上の欠失と組み合わせてもよい。これらの変異は、ヒトIgG2またはIgG4Fcフラグメントに導入されて、本明細書に記載のFcバリエーションを産生し得る。いくつかの例では、本明細書に記載のFcバリエーションは、位置236～238のうちの1つ以上（例えば、236、237、238またはそれらの任意の組み合わせ）に欠失を含む。

本明細書に記載のヒンジドメインの変異のいずれも、Fc受容体との相互作用に関与する1つ以上の位置での変異（例えば、アミノ酸置換）と組み合わせてもよい。そのような位置には、位置265、267、273、297、および327～331、またはこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。これらの位置での例示的なアミノ酸置換には、D265A、S267E、V273E、N297A、L328F、P329G、A330S、および／またはP331Sが含まれる。

【0073】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるFcバリエーションは、IgG1分子（例えば、ヒトIgG1）に由来し得、位置220、226、229、234～238、265、267、297、および327～331のうちの1つ以上の位置に1つ以上の変異を含む。例えば、Fcバリエーションは、位置234～238内に置換もしくは欠失、位置265での置換（例えば、D265A）、位置267での置換（例えば、S267E）、位置297での置換（例えば、N297A）、位置328での置換（例えば、L328F）、位置329での置換（例えば、P329G）、またはこれらの組み合わせを含み得る。あるいは、またはさらに、それは、位置220（例えば、C220S）、226（例えば、C226S）、229（例えば、C229S）、327（例えば、A327G）、330（例えば、A330S）、および331（例えば、P331S）のうちの1つ以上での置換を含み得る。場合によっては、IgG1分子に由来するFcバリエーションは、位置236～238のうちの1つ以上での欠失を含み得る。

【0074】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるFcバリエーションは、IgG2分子（例

例えば、ヒト IgG2) に由来し得、233~235、237~238、265~268、273、297、328、330、および331のうちの1つ以上の位置に1つ以上の変異を含む。いくつかの例では、そのようなFcバリエーションは、位置237~238内の欠失(例えば、位置237での欠失または位置237および238の両方の欠失)、位置265での置換(例えば、D265A)、位置267での置換(例えば、S267E)、位置297での置換(例えば、N297A)、位置328での置換(例えば、L328F)、またはこれらの組み合わせを含み得る。あるいは、またはさらに、IgG2分子に由来するFcバリエーションは、位置233~235、237、238、268、273、330、および331のうちの1つ以上での置換(例えば、P233E、V234A、V234L、A235L、A235S、G237A、P238S、H268A、H268Q、V273E、A330S、およびP331S)を含み得る。

10

【0075】

さらに他の実施形態では、本明細書に開示されるFcバリエーションは、IgG4分子(例えば、ヒトIgG4) に由来し得、位置228、233~238、265、267、273、297、および328のうちの1つ以上において、1つ以上の変異を含む。いくつかの例では、このようなFcバリエーションは、位置228(例えば、S228P)での置換、位置235~238のうちのいずれかでの置換もしくは欠失(例えば、位置236~238のうちの1つ、例えば、位置236および位置237での欠失)、位置265での置換(例えば、D265A)、位置267での置換(例えば、S267E)、位置273での置換(例えば、V273E)、位置297での置換(例えば、N297A)、位置328

20

【0076】

位置265、267、273、297、328、および/または329に1つ以上の変異を含むIgG2またはIgG4分子に由来するFcバリエーションもまた、本開示の範囲内である。このような変異は、これらの位置の1つ以上でのアミノ酸置換、例えば、D265A、S267E、V273E、N297A、L328F、および/またはP329Gを含み得る。

30

【0077】

場合によっては、本明細書に開示されるFcバリエーションのいずれかは、位置309での変異、例えば、置換(例えば、V309L)をさらに含み得る。このようなFcバリエーションは、IgG2分子(例えば、ヒトIgG2) に由来し得る。いくつかの実施形態では、位置309での変異は、位置234、268、330、および331のうちの1つ以上での変異と組み合わせられ得る。このようなFcバリエーションの例には、G2m43が含まれる。

【0078】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のFcバリエーションは、その野生型対応物(例えば、本明細書に記載の野生型ヒトIgG1、IgG2、またはIgG4のFcフラグメント)と少なくとも85%(例えば、90%、95%、98%、99%、またはそれ以上)同一のアミノ酸配列を含み得る。

40

【0079】

一例では、本明細書に記載のFcバリエーションにおけるアミノ酸残基置換は、保存的アミノ酸残基置換である。

【0080】

以下に提供されるのは、変異がhIgG1、hIgG2、およびIgG4に導入されて、本開示のための様々なFcバリエーションを産生することができる例示的な位置を示す配列アラインメントである。

【0081】

50

【化 1 4】

20

30

【化15】

	21-	22-	23-	24-	...26-	27-	...32-	33-
	12345678	9012345	6789 0123456789012345...0123456 7 89012 3 45678...01234567 8 9012					
	上部	コア下部		CH2				
hIgG2	VDKTVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA-GPSVFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG2m1	TVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA---SVFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG2m-1	KTVERK- SCDKTHTCPPC PAPPVA-GPSVFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG2m2	TVERK-CC-V-E- CPPC PAPP flg GPSVFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG2m-4	KTVERK YG --- PPCPPC PAPPVA-GPSVFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG2m5	TVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA-GPSVFLFPP...TCVVVDVSHEDP eo FNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG2m7	TVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA-GPSVFLFPP...TCVVVDV eh EDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG2m8	TVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA-GPSVFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKG f PAPI							
hIgG2m9	TVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA-GPSVFLFPP...TCVVVDV eh EDPEVQFNWY...KCKVSNKG f PAPI							
hIgG2m10	TVERK-CC-V-E- CPPC PAP evs ---SVFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKG f PAPI							
hIgG2m15	TVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA---SVFLFPP...TCVVVDVSHEDP eo FNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG2m17	TVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA---SVFLFPP...TCVVVDV eh EDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG2m18	TVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA---SVFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKG f PAPI							
hIgG2m19	TVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA---SVFLFPP...TCVVVDV eh EDPEVQFNWY...KCKVSNKG f PAPI							
hIgG2m20	TVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA--PSVFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG2m27	TVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA--PSVFLFPP...TCVVVDV eh EDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG2m28	TVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA--PSVFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKG f PAPI							
hIgG2m40	VDKTVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA-GPSVFLFPP...TCVV va VSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG2m43	VDKTVERK-CC-V-E- CPPC PAPP aa - as SVFLFPP...TCVVVDV sa EDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG2m44	VDKTVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA-GPSVFLFPP...TCVVVDV sq EDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG2mAA	VDKTVERK-CC-V-E- CPPC PAPP aa - aps VFLFPP...TCVVVDVSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPAPI							
G2m2040	VDKTVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA--PSVFLFPP...TCVV va VSHEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLPAPI							
hIgG2G4	VDKTVERK-CC-V-E- CPPC PAPPVA-GPSVFLFPP...TCVVVDV sq EDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							

【0083】

野生型ヒトIgG4と比較するヒトIgG4バリエーションの配列アラインメント（上から下へ、配列番号65、106-127、および174-177）

【化16】

	21-	22-	23-	24-	...26-	27-	...32-	33-
	12345678	9012345	6789 0123456789012345...0123456 7 89012 3 45678...01234567 8 9012					
	上部	コア下部		CH2				
hIgG4	VDKRVESKYG--- PPCP SCPAPEFLGGPSVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m1	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFL---SVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m-1	KRVESK- SCDKTHTCPPC PAPEFLGGPSVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m2	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFL-GPSVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m-2	KRVESK- CC-v-e-CP PCPAPEFLGGPSVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m3	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFLGGPSVFLFPP...TCVVVDVSQEDP eo FNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m4	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFL---SVFLFPP...TCVVVDVSQEDP eo FNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m5	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFL-GPSVFLFPP...TCVVVDVSQEDP eo FNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m7	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFLGGPSVFLFPP...TCVVVDV eo QEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m8	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFLGGPSVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKG f P ssi							
hIgG4m9	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFLGGPSVFLFPP...TCVVVDV eo QEDPEVQFNWY...KCKVSNKG f P ssi							
hIgG4m10	KRVESKYG--- PPCP SCPAPE vs ---SVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKG f P ssi							
hIgG4m15	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFL---SVFLFPP...TCVVVDVSQEDP eo FNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m17	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFL---SVFLFPP...TCVVVDV eo QEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m18	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFL---SVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKG f P ssi							
hIgG4m19	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFL---SVFLFPP...TCVVVDV eo QEDPEVQFNWY...KCKVSNKG f P ssi							
hIgG4m20	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFLG---SVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m25	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFL-GPSVFLFPP...TCVVVDVSQEDP eo FNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m27	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFL-GPSVFLFPP...TCVVVDV eo QEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m28	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFL-GPSVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKG f P ssi							
hIgG4m29	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFL-GPSVFLFPP...TCVVVDV eo QEDPEVQFNWY...KCKVSNKG f P ssi							
hIgG4m30	KRVESKYG--- PPCP SCPAPEFL---PSVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4mPE	KRVESKYG--- PPCP SCPAPE fe GGPSVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m40	VDKRVESKYG--- PPCP SCPAPEFLGGPSVFLFPP...TCVV va VSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m41	VDKRVESKYG--- PPCP SCPA pva GGPSVFLFPP...TCVV va VSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m42	VDKRVESKYG--- PPCP SCPA pva GGPSVFLFPP...TCVV va VSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							
hIgG4m46	VDKRVESKYG--- PPCP SCPA alGa PSVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi *							
hIgG4mAA	VDKRVESKYG--- PPCP SCPA aa GGPSVFLFPP...TCVVVDVSQEDPEVQFNWY...KCKVSNKGLP ssi							

【0084】

野生型ヒトIgG1、IgG2、およびIgG4Fcフラグメントのアミノ酸配列、およびいくつかの例示的なhIgG1、hIgG2、およびhIgG4Fcバリエーション（EU番号付けに基づく位置221以降）を以下に示す。

【0085】

野生型ヒトIgG1Fcフラグメントのアミノ酸配列：

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列
番号1）

10

【0086】

野生型ヒトIgG2Fcフラグメントのアミノ酸配列：

VDKTV ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTFRVVS
VLT
TVV
H
QDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK
TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号2）

20

【0087】

野生型ヒトIgG4Fcフラグメントのアミノ酸配列：

VDKRVESKYGP
PCP
SCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGLGK（配列番号3）

30

【0088】

ヒトIgG4S228PFcバリエーションのアミノ酸配列：

VDKRVESKYGP
PCP
CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGLGK（配列番号4）

【0089】

例示的なヒトIgG1Fcバリエーションのアミノ酸配列：

G1m1：

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK（配列番号5）

40

G1m2：

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
PSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP

50

IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号6)

G1m-2:

VDKKVEPKCCVECPPCPAPELLSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号7)

10

G1m-4:

VDKKVEPKYGPCCPPCPAPELLGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号8)

G1m5:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEEKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号9)

20

G1m7:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号10)

30

G1m8:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号11)

40

G1m9:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号12)

50

G1m15:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEEKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号1
3)

G1m17:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号1
4)

G1m18:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号1
5)

G1m19:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号1
6)

G1m25:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEEKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番
号17)

G1m27:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番
号18)

G1m28:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPSVFLFPPKPKDTL

10

20

30

40

50

MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFAP
IEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番
号19)

G1m29:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFAP
IEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番
号20)

10

G1mAA:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列
番号21)

20

G1mAG:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列
番号22)

30

G1m40:

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列
番号160)

G1m45

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPpvaGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
IEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番
号178)

40

G1m240

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP

50

IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号179)

G1 N297A

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号180)

10

G1m47

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPpvaGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKgLPSsIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号181)

20

G1m48

VDKKVEPKSsDKTHTsPPsPAPELLGGsSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号182)

G1m49

VDKKVEPKSCDKTHTsPPsPAPpvaGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号183)

30

G1m50

VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEfeGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAsIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号184)

40

【0090】

例示的なヒトIgG2Fcバリアントのアミノ酸配列：

G2m1：

VDKTV ERKCCVECP P P P V A S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T F R V V S V L T V V H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P A P I E K T I

50

SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 23)

G2m-1:

VDKTVERKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLM
MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAP
IEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番
号 24)

10

G2m2:

VDKTVERKCCVECPAPPPFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIE
KTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番
号 25)

G2m-4:

20

VDKTVERKYGPCCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK
TIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 26)

G2m5:

VDKTVERKCCVECPAPPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVDVSHEDPEEQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK
TIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 27)

30

G2m7:

VDKTVERKCCVECPAPPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVDVEHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK
TIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 28)

40

G2m8:

VDKTVERKCCVECPAPPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGFPAPIEK
TIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 29)

G2m9:

VDKTVERKCCVECPAPPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVDVEHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE

50

QFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGFPAPIEK
TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号30)

G2m10:

VDKTVERKCCVECPPCPAPEVSSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGFPAPIEKTI
SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号31)

10

G2m15:

VDKTVERKCCVECPPCPAAPPVAVSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSHEDPEEQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI
SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号32)

G2m17:

VDKTVERKCCVECPPCPAAPPVAVSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVEHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI
SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号33)

20

G2m18:

VDKTVERKCCVECPPCPAAPPVAVSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGFPAPIEKTI
SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号34)

30

G2m19:

VDKTVERKCCVECPPCPAAPPVAVSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVEHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGFPAPIEKTI
SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号35)

G2m20:

VDKTVERKCCVECPPCPAAPPVAPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
FNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT
ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号36)

40

G2m27:

VDKTVERKCCVECPPCPAAPPVAPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVEHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
FNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT

50

ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号37)

G2m28:

VDKTVERKCCVECPPCPAPPVAPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
FNSTFRVVS VLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKGFPAIEKT
ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号38)

10

G2m40:

VDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISR
RTPEVTCVVVA VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFASTFRVVS VLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAIEK
TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号161)

G2m43

VDKTVERKCCVECPPCPAPP a a a s SVFLFPPKPKDTLMISR
RTPEVTCVVVDV S a EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTFRVVS VLT V L HQDWLNGKEYKCKVSNKGLP s s IEK
TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号185)

20

G2m44

VDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISR
RTPEVTCVVVDV S q EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTFRVVS VLT V L HQDWLNGKEYKCKVSNKGLP s s IEK
TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号186)

30

G2mA A

VDKTVERKCCVECPPCPAPP a a a P SVFLFPPKPKDTLMISR
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTFRVVS VLT V V HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAIEK
TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号213)

40

G2m2040

VDKTVERKCCVECPPCPAPPVAPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVA VSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
FASTFRVVS VLT V V HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAIEKT
ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号187)

G2G4

50

VDKTV ERKCCVECP PCPAPPVAGPSVFLFP PKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK
SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 18
8)

【0091】

例示的なヒト IgG4 Fc バリアントのアミノ酸配列：

G4m1：

VDKRVESKYGP PCPPCPAPEFLSVFLFP PKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR
WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 39)

G4m-1：

VDKRVESKSCDKTHTPPCP PCPPEFLGGPSVFLFP PKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL
PSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL
VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 40)

G4m2：

VDKRVESKYGP PCPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK
SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 41)

G4m-2：

VDKRVESKCCVEPPCP PCPPEFLGGPSVFLFP PKPKDTL
MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSS
IEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT
VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番
号 42)

G4m3：

VDKRVESKYGP PCPPCPAPEFLGGPSVFLFP PKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSQEDPEEQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
KTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV
DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 4
3)

G4m4：

VDKRVESKYGP PCPPCPAPEFLSVFLFP PKPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEEQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF

10

20

30

40

50

NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR
WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 4 4)

G 4m 5 :

VDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSQEDPEEQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 4
5)

10

G 4m 7 :

VDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 4
6)

20

G 4m 8 :

VDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGFPS
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 4
7)

G 4m 9 :

VDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGFPS
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 4
8)

30

G 4m 10 :

VDKRVESKYGPCCPPCPAPEVSSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGFPS
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 4
9)

40

G 4m 17 :

VDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 5
0)

50

G 4m18 :

VDKRVESKYGP P C P P C P A P E F L S V F L F P P K P K D T L M I S R T
P E V T C V V V D V S Q E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F
N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G F P S S I E K T I
S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D
I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D K S R
W Q E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S L G K (配列番号 51)

G 4m19 :

VDKRVESKYGP P C P P C P A P E F L S V F L F P P K P K D T L M I S R T
P E V T C V V V D V E Q E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F
N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G F P S S I E K T I
S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D
I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D K S R
W Q E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S L G K (配列番号 52)

10

G 4m20 :

VDKRVESKYGP P C P P C P A P E F L G S V F L F P P K P K D T L M I S R
T P E V T C V V V D V S Q E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q
F N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P S S I E K T
I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S
D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D K S
R W Q E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S L G K (配列番号 53)

20

G 4m25 :

VDKRVESKYGP P C P P C P A P E F L G P S V F L F P P K P K D T L M I S
R T P E V T C V V V D V S Q E D P E E Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E
Q F N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P S S I E K
T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D K
S R W Q E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S L G K (配列番号 54)

G 4m27 :

VDKRVESKYGP P C P P C P A P E F L G P S V F L F P P K P K D T L M I S
R T P E V T C V V V D V E Q E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E
Q F N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P S S I E K
T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D K
S R W Q E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S L G K (配列番号 55)

30

G 4m28 :

VDKRVESKYGP P C P P C P A P E F L G P S V F L F P P K P K D T L M I S
R T P E V T C V V V D V S Q E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E
Q F N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G F P S S I E K
T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D K
S R W Q E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S L G K (配列番号 56)

40

G 4m29 :

VDKRVESKYGP P C P P C P A P E F L G P S V F L F P P K P K D T L M I S
R T P E V T C V V V D V E Q E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E
Q F N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G F P S S I E K
T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D K
S R W Q E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S L G K (配列番号 57)

G 4m30 :

50

VDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKS
RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 58)

G 4mPE :

VDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 59)

10

G 4m40 :

VDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVAVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 162)

20

G 4m41

VDKRVESKYGPPCPPCPAPPVAGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVAVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 189)

30

G 4m42

VDKRVESKYGPPCPPCPAPPVAGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVAVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 190)

G 4m46

VDKRVESKYGPPCPPCPAPEaLGaPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKaYKCKVSNKGLPSSIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (配列番号 191)

40

G 4mAA

VDKRVESKYGPPCPPCPAPEaaGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE

50

K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y
P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D
K S R W Q E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S L G K (配列番号 1
92)

【0092】

本明細書に記載のFcバリエーションは、野生型対応物と比較して、FcγRIIBに対する増強された結合活性を示し得る。例としては、G2m2、G2m5、G2m7、G2m8、G2m9、G2m19、G2m44、G1m7、G1m9、G1m27、G1m45、G1m47、G1m49、G1m50、G4m7、G4m46、G4mPEが挙げられる。あるいは、またはさらに、Fcバリエーションは、それらの野生型対応物、例えば、G2m1、G2m20、G2m43、G2m44、G2G4、G2mAA、G1m2、G1m15、G1m17、G1m18、G1m19、G1m27、G1m28、G1m29、G4m1、G4m2、G4m7、G4m8、G4m9、G4m20、G4m25、G4m27、G4m28、G4m30、G4m46およびG4mPEと比較して、FcγRIIBに対する増強された選択性を有し得る。このようなFcバリエーションは、FcRnに対する結合活性を保持し得る。これらのFcバリエーションは、免疫受容体およびFcγRIIB受容体を架橋することができる本明細書に記載の治療薬を構築するために使用することができる。

10

【0093】

あるいは、本明細書に記載の特定のFcバリエーションは、FcγRIIBに対する選択性を有し、かつ／または任意のFcγRに対する明らかに低いまたは結合活性を有しない可能性がある。例としては、G1m2、G1m25、G1m40、G1mAAG、G1m240、G2m1、G2m20、G2m40、G2m2040、G4m5、G4m18、G4m19、G4m20、G4m30、G4m40、G4m41、G4m42が挙げられる。このようなFcバリエーションは、FcRnに対する結合活性を保持し得る。このようなFcバリエーションを含む治療薬（例えば、抗体）は、アビディティ効果のために免疫受容体とFcγRIIB受容体を架橋することができる可能性がある。

20

【0094】

野生型対応物と比較した、例示的なFcバリエーションの結合親和性／特異性の変化を、以下の表2～4に提供する。「N/A」は、利用可能なデータがないことを示す。Fcバリエーションの結合活性が野生型対応物と比較して「変化なし」であることがわかった場合、それは、同じ実験条件下での同じアッセイにより示されるように、Fcバリエーションと野生型対応物との間に結合活性の有意な変動がないことを意味する。Fcバリエーションの結合活性がその野生型対応物と比較して「増加」または「減少」する場合、Fcバリエーションの結合活性は、同じ実験条件下での同じアッセイによって決定された野生型対応物の結合活性よりも高いかまたは低く、当業者に知られているように、変動は有意（例えば、生物学的に有意）であることを意味する。Fcバリエーションの結合活性がその野生型対応物と比較して「わずかに増加」または「わずかに減少」する場合、Fcバリエーションの結合活性は、同じ実験条件下での同じアッセイによって決定された野生型対応物の結合活性よりも高いかまたは低く、変動は統計的に有意であるが、限られたレベル（例えば、最大10%）であることを意味する。

30

40

【表 2】

表 2 野生型ヒト IgG1 と比較するヒト IgG1 変異体の FcγR 結合活性

IgG1 変異体	野生型対応物と比較する結合活性の変化					
	FcγRI	FcγRIIA(H131)	FcγRIIA(R131)	FcγRIIB	FcγRIIC	FcγRIII
G1m1	減少	減少	減少	減少	減少	減少
G1m2	減少	減少	減少	減少	減少	減少
G1m-2	変化なし	N/A	N/A	変化なし	N/A	変化なし
G1m-4	変化なし	N/A	N/A	変化なし	N/A	変化なし
G1m5	増加	増加	増加	変化なし	増加	わずかに減少
G1m7	増加	増加	増加	増加	増加	わずかに減少
G1m8	増加	わずかに減少	変化なし	増加	わずかに増加	わずかに減少
G1m9	増加	減少	増加	増加	増加	変化なし
G1m15	減少	減少	減少	減少	減少	減少
G1m17	減少	減少	減少	減少	減少	減少
G1m18	減少	減少	変化なし	減少	減少	減少
G1m19	減少	増加	増加	増加	増加	減少
G1m25	減少	減少	減少	減少	減少	減少
G1m27	減少	減少	減少	増加	減少	減少
G1m28	減少	減少	減少	減少	減少	減少
G1m29	減少	減少	増加	増加	増加	減少
G1mAA	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少
G1mAAG	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少
G1m240	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少
G1m45	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少
G1N297A	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少
G1m47	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少
G1m48	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少
G1m49	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少
G1m50	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少

10

20

30

40

50

【表 3】

表 3. 野生型ヒト IgG2 と比較するヒト IgG2 変異体の FcγR 結合活性

IgG2変異体	野生型対応物と比較する結合活性の変化					
	FcγRI	FcγRIIA(H131)	FcγRIIA(R131)	FcγRIIB	FcγRIIC	FcγRIII
G2m1	変化なし	減少	減少	減少	変化なし	変化なし
G2m2	増加	減少	変化なし	増加	変化なし	変化なし
G2m10	変化なし	減少	変化なし	わずかに減少	変化なし	変化なし
G2m5	わずかに増加	減少	変化なし	減少	変化なし	変化なし
G2m7	変化なし	わずかに増加	増加	増加	わずかに増加	変化なし
G2m8	変化なし	減少	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし
G2m9	変化なし	変化なし	増加	増加	増加	変化なし
G2m-1	増加	N/A	N/A	減少	N/A	変化なし
G2m-4	増加	N/A	N/A	減少	N/A	変化なし
G2m15	変化なし	N/A	N/A	減少	N/A	変化なし
G2m17	変化なし	N/A	増加	変化なし	増加	変化なし
G2m18	わずかに増加	N/A	変化なし	減少	変化なし	変化なし
G2m19	変化なし	N/A	増加	増加	変化なし	変化なし
G2m20	変化なし	N/A	変化なし	減少	変化なし	変化なし
G2m27	わずかに増加	N/A	N/A	増加	N/A	変化なし
G2m28	変化なし	N/A	N/A	増加	N/A	変化なし
G2m2040	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少
G2m43	変化なし	N/A	減少	減少	N/A	減少
G2m44	変化なし	N/A	減少	変化なし	N/A	減少
G2mAA	変化なし	N/A	減少	変化なし	N/A	減少
G2G4	減少	N/A	減少	変化なし	N/A	減少

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4. 野生型ヒト IgG4 と比較するヒト IgG4 変異体の FcγR 結合活性

IgG4変異体	野生型対応物と比較する結合活性の変化					
	FcγRI	FcγRIIA(H131)	FcγRIIA(R131)	FcγRIIB	FcγRIIC	FcγRIII
G4m1	減少	増加	変化なし	わずかに減少	わずかに増加	変化なし
G4m2	減少	変化なし	減少	わずかに減少	変化なし	変化なし
G4m10	減少	変化なし	減少	減少	変化なし	変化なし
G4m20	減少	変化なし	減少	減少	変化なし	変化なし
G4m3	減少	変化なし	変化なし	減少	変化なし	変化なし
G4m7	変化なし	増加	増加	増加	増加	わずかに増加
G4m8	変化なし	変化なし	増加	わずかに増加	変化なし	変化なし
G4m9	変化なし	変化なし	増加	増加	増加	変化なし
G4m17	減少	変化なし	増加	増加	増加	増加
G4m18	減少	変化なし	変化なし	減少	変化なし	増加
G4m19	減少	変化なし	変化なし	減少	変化なし	わずかに増加
G4m25	減少	変化なし	増加	わずかに減少	変化なし	増加
G4m27	減少	変化なし	変化なし	減少	変化なし	わずかに増加
G4m28	減少	変化なし	わずかに増加	増加	増加	変化なし
G4m29	減少	変化なし	増加	増加	増加	わずかに増加
G4m4	減少	変化なし	変化なし	減少	変化なし	変化なし
G4m-1	変化なし	N/A	N/A	変化なし	N/A	変化なし
G4m-2	変化なし	N/A	N/A	減少	N/A	変化なし
G4mPE	減少	N/A	N/A	わずかに減少	変化なし	変化なし
G4m30	減少	N/A	変化なし	減少	変化なし	変化なし
G4m40	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少
G4m41	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少
G4m42	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少
G4mAA	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少
G4m46	減少	N/A	減少	減少	N/A	減少

【0095】

本明細書に記載の Fc バリエーションは、本明細書に提供されるガイダンスに従って設計され、通常の組換え技術を介して産生され得る。様々な Fc 受容体に対するその結合親和性および特異性は、通常の方法で決定できる。以下の例も参照されたい。

【0096】

特定の例では、本明細書に開示される CD40 結合分子（抗 CD40 分子）は、IgG1 親のヒンジ領域を維持し、FcγR2B などの Fc 受容体に対する結合親和性の低下をもたらすが Fc 受容体に対する残留結合活性は維持する、1つ以上の変異（例えば、上で議論したように、マウス IgG1 に照らして位置 236～238 での 1つ以上の欠失）を

含み得る。そのような特性を有する例示的なFcバリエーションには、G1m2、G4m20、G4m30およびG4m46が含まれるが、これらに限定されない。このような抗CD40分子のCD40結合部分は、アゴニスト抗CD40抗体に由来し得る。このようなCD40結合部分は、本明細書に開示される抗CD40抗体383に由来し得る。いくつかの例において、CD40結合部分は、抗体383と同じV_HおよびV_LCDRを含む。いくつかの例では、CD40結合部分は、抗体383（それぞれ、配列番号128および129）と同じV_Hおよび／またはV_L鎖を含み得る。あるいは、CD40結合部分は、本明細書に開示されるように、抗体383の機能的バリエーションであり得る。そのようなCD40結合分子は、以下の実施例に示されるように、いくつかの有利な特徴を有するであろう。例としては、治療ウィンドウが改善され、インビボでの副作用が軽減された（例えば、肝臓毒性が少ない）抗腫瘍効果の増強が含まれ、これは、ベースラインのCD40アゴニスト活性と残留FcγRIIB結合活性に起因する可能性がある。CD40アゴニスト活性および／またはFcγRIIB結合活性が高すぎると、細胞毒性などの副作用が誘導されると予想される。

【0097】

他の特定の例では、本明細書に開示されるCD40結合分子は、IgG2に由来するFcバリエーションドメインを含み（例えば、IgG2ヒンジを維持する）、Fc受容体に対する結合親和性、特にFcγRIIBに対する結合親和性を低下させるために、マウス対応物に照らして位置236～238のうちの1つ以上に、1つ以上の変異（例えば、欠失または置換）を含み得る。場合によっては、そのようなFcバリエーションは、位置236～238の1以上に欠失を有する。あるいは、またはさらに、Fcバリエーションは、位置234、237、238、268またはこれらの組み合わせに置換を有し得る。このようなFcバリエーションは、Fc受容体に対する結合に関与する1つ以上の位置、例えば、位置265（例えば、D265A）にさらなる変異を含み得る。Fcバリエーションは、FcγRIIBなどのFc受容体に対する残留結合活性を維持し得る（例えば、G2m20およびG2m43）。あるいは、Fcバリエーションは、FcγRIIBなどのFc受容体に結合しない可能性がある（例えば、G2m40）。そのような抗CD分子のCD40結合部分は、アゴニスト抗CD40抗体に由来し得る。このようなCD40結合部分は、本明細書に開示される抗CD40抗体383に由来し得る。場合によっては、CD40結合部分は、抗体383と同じV_HおよびV_LCDRを含む。いくつかの例では、CD40結合部分は、抗体383（それぞれ、配列番号128および129）と同じV_Hおよび／またはV_L鎖を含み得る。あるいは、CD40結合部分は、本明細書に開示されるように、抗体383の機能的バリエーションであり得る。そのようなCD40結合分子は、以下の実施例に示されるように、いくつかの有利な特徴を有するであろう。例としては、治療ウィンドウが改善され、インビボでの副作用が軽減された（例えば、肝臓毒性が少ない）抗腫瘍効果の増強が含まれ、これは、ベースラインCD40アゴニスト活性と残留FcγRIIB結合活性の組み合わせ（例えば、383-IgHuG2m20）、または比較的高いCD40アゴニスト活性とFcγRIIBに対する結合がないことの組み合わせ（例えば、383-IgHuG2m40）に起因する可能性がある。

【0098】

本明細書に記載のFACS結合アッセイに加えて、Fcγ受容体に対するFcバリエーションの活性は、代替のアッセイで調べることができる。例えば、FcγRIIB発現細胞の共培養を伴うまたは伴わないCD40レポーターアッセイを使用して、受容体の架橋および活性化の効果を実証することができる。2つの標的（例えば、CD40およびFcγRIIB）に対する抗体の同時結合に起因するアビディティ効果のため、このアッセイはFcγRIIB結合を検出するのにより感度が高くなる。FACSで検出可能な結合が最小限であるか、明らかでない場合、レポーターアッセイで陽性の結果が示されることがある。

【0099】

II. Fcバリエーションを含むCD40結合分子の調製

本明細書に記載のCD40結合分子は、従来の方法論、例えば、組換え技術によって調

製することができる。以下にいくつかの例を示す。

【0100】

CD40Lの細胞外ドメインを含むCD40結合分子の場合、CD40L細胞外ドメインのコード配列を好適なFcバリエーションのコード配列とインフレイムで融合させることができる。CD40結合分子全体のコード配列は、好適な発現ベクターにクローン化することができ、タンパク質発現に適した宿主細胞に導入できる。

【0101】

CD40に結合する抗体は、当技術分野で知られている任意の方法によって調製することができる。例えば、Harlow and Lane, (1998) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New Yorkを参照されたい。いくつかの実施形態では、CD40またはその細胞外ドメインに特異的な抗体は、従来のハイブリドーマ技術によって作製され得る。全長標的受容体またはそのフラグメントは、任意選択でKLHなどの担体タンパク質に結合され、その抗原に結合する抗体を生成するため宿主動物を免疫化するために使用され得る。宿主動物の免疫化の経路およびスケジュールは、一般に、本明細書でさらに説明されるように、抗体の刺激および産生のための確立された従来の技法に従っている。マウス、ヒト化、およびヒト抗体を産生するための一般的な技法は当技術分野で知られており、本明細書に記載されている。ヒトを含む任意の哺乳動物対象またはそれらからの抗体産生細胞は、ヒトを含む哺乳動物ハイブリドーマ細胞株の産生の基礎として役立つように操作され得ることが企図される。典型的には、宿主動物は、本明細書に記載されるものを含む、ある量の免疫原を腹腔内、筋肉内、経口、皮下、足底内、および／または皮内に接種される。

【0102】

ハイブリドーマは、Kohler, B. and Milstein, C. (1975) *Nature* 256: 495-497の一般的な体細胞ハイブリダイゼーション技術、またはBuck, D. W., et al., *In Vitro*, 18: 377-381 (1982)によって修正されたものを使用して、リンパ球および不死化骨髄腫細胞から調製することができる。X63-Ag8.653およびSalk Institute, Cell Distribution Center, San Diego, Calif., USAからのものを含むがこれらに限定されない利用可能な骨髄腫株を、ハイブリダイゼーションに使用することができる。一般に、この技法は、ポリエチレングリコールなどのフソゲン(fusogen)を使用して、または当業者に周知の電気的手段によって、骨髄腫細胞とリンパ球系細胞を融合させることを含む。融合後、細胞を融合培地から分離し、ヒポキサンチン-アミノプテリン-チミジン(HAT)培地などの選択的成長培地で成長させて、ハイブリダイズしていない親細胞を排除する。血清の有無にかかわらず、本明細書に記載の培地のいずれも、モノクローナル抗体を分泌するハイブリドーマを培養するために使用することができる。細胞融合技法の別の代替法として、EBV不死化B細胞を使用して、本明細書に記載の抗免疫細胞受容体モノクローナル抗体を産生することができる。ハイブリドーマは、必要に応じて増やされかつサブクローン化され、上清は、従来の免疫学的試験法(例えば、放射免疫測定法、酵素免疫測定法、または蛍光免疫測定法)によって抗免疫原活性についてアッセイされる。

【0103】

抗体の供給源として使用できるハイブリドーマは、標的免疫細胞受容体の活性を調節することができるモノクローナル抗体を産生する親ハイブリドーマのすべての誘導体、子孫細胞を包含する。そのような抗体を産生するハイブリドーマは、既知の手順を使用してインビトロまたはインビボで成長させることができる。モノクローナル抗体は、必要に応じて、硫酸アンモニウム沈殿、ゲル電気泳動、透析、クロマトグラフィー、および限外濾過などの従来の免疫グロブリン精製手順によって、培養培地または体液から単離することができる。望ましくない活性が存在する場合、例えば、固相に付着した免疫原で作製された吸着剤上で調製物を処理し、免疫原から所望の抗体を溶出または放出させることによって

除去することができる。二官能性または誘導体化剤、例えばマレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル（システイン残基を介した結合）、N-ヒドロキシスクシンイミド（リジン残基を介した）、グルタルアルデヒド、無水コハク酸、SOCL₂、またはR₁N=C=N R（式中、RおよびR₁は異なるアルキル基である）を使用する、キーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、または大豆トリプシン阻害剤など、免疫される種において免疫原性であるタンパク質にコンジュゲートした標的抗原または標的アミノ酸配列を含むフラグメントによる宿主動物の免疫化は、抗体の集団（例えば、モノクローナル抗体）を得ることができる。

【0104】

必要に応じて、（例えば、ハイブリドーマによって産生される）目的の抗体（モノクローナルまたはポリクローナル）を配列決定し、次にポリヌクレオチド配列をベクターにクローン化して、本明細書に記載の抗CD40抗体をさらに構築することができる。目的の抗体をコードする配列は、宿主細胞内のベクターで維持され得、その後、宿主細胞は増やされかつ将来の使用のために凍結され得る。

【0105】

あるいは、ポリヌクレオチド配列は、抗体を「ヒト化」するため、または親和性（親和性成熟）、または抗体の他の特性を改善するための遺伝子操作のために使用され得る。例えば、抗体がヒトでの臨床試験および治療に使用される場合、免疫応答を回避するために、定常領域をヒト定常領域により類似するように操作することができる。抗体配列を遺伝的に操作して、標的抗原に対するより大きな親和性および免疫細胞受容体の活性を阻害または活性化する際のより大きな効力を得ることが望ましい場合がある。1つ以上のポリヌクレオチドの変更を抗体に対して行うことができ、それでも標的受容体に対するその結合特異性を維持することができることは当業者には明らかであろう。

【0106】

他の実施形態では、完全ヒト抗体は、特定のヒト免疫グロブリンタンパク質を発現するように操作された市販のマウスを使用することによって取得することができる。より望ましい（例えば、完全ヒト抗体）またはより強力な免疫応答を産生するように設計されたトランスジェニック動物もまた、ヒト化またはヒト抗体の生成に使用され得る。このような技術の例としては、Amgen, Inc. (Fremont, Calif.) からのXenomouse（登録商標）およびMedarex, Inc. (Princeton, N. J.) からのHuMAb-Mouse（登録商標）およびTC Mouse™がある。別の代替法では、抗体は、ファージディスプレイまたは酵母技術によって組換え的に作製され得る。例えば、米国特許第5,565,332号、同第5,580,717号、同第5,733,743号、および同第6,265,150号、ならびにWinter et al., (1994) Annu. Rev. Immunol. 12:433-455を参照されたい。

【0107】

あるいは、ファージディスプレイ技術（McCafferty et al., (1990) Nature 348:552-553）、酵母ディスプレイ技術、または哺乳動物細胞ディスプレイ技術などの抗体ライブラリー技術を使用して、標的免疫受容体に特異的なヒト抗体などの抗体を単離することができる。

【0108】

ヒト化抗体を構築するための方法もまた、当技術分野でよく知られている。例えば、Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10029-10033 (1989)を参照されたい。一例では、親非ヒト抗体のV_HおよびV_Lの可変領域は、当技術分野で知られている方法に従って三次元分子モデリング分析に供される。次に、正しいCDR構造の形成に重要であると予測されるフレームワークアミノ酸残基が、同じ分子モデリング分析を使用して同定される。並行して、親非ヒト抗体のアミノ酸配列と相同であるアミノ酸配列を有するヒトV_HおよびV_L鎖は、検索クエリとして親V_HおよびV_L配列を使用して任意の抗体遺伝子データベースから同定される。次に、

10

20

30

40

50

ヒトVHおよびVLアクセプター遺伝子が選択される。

【0109】

選択されたヒトアクセプター遺伝子内のCDR領域は、親非ヒト抗体またはその機能的バリエーションからのCDR領域で置き換えることができる。必要に応じて、CDR領域との相互作用に重要であると予測される親鎖のフレームワーク領域内の残基（上記の説明を参照）を使用して、ヒトアクセプター遺伝子の対応する残基を置き換えることができる。

【0110】

標的免疫細胞受容体に結合できる抗体が取得されたら、その重鎖のコード配列を、好適なFcバリエーションのコード配列とインフレームで融合させることができ、それはFcγRIIbに選択的に結合する可能性がある、またはFcγRに結合しない、例えば、通常の組換え技術を介して本明細書に記載されているFcバリエーションのいずれかである。場合によっては、抗体は、それが結合する免疫細胞受容体を活性化するそのアゴニスト効果について最初に調査される。そのようなアゴニスト抗体は、アゴニスト効果を増強するために本明細書に記載のCD40結合分子を作製するのに選択することができる。

【0111】

他の例では、抗体は、それが結合する免疫細胞受容体を阻害するその拮抗作用について最初に調査される。そのようなアンタゴニスト抗体は、免疫応答を下方調節するために本明細書に記載のCD40結合分子を作製するのに選択することができる。あるいは、CD40アンタゴニストを作製するために、Fc受容体に対する結合活性が低いまたは全くないFcバリエーションを選択することができる。

【0112】

得られた抗体分子または本明細書に記載のCD40結合分子は、以下に例示するような通常の組換え技術を介して産生することができる。本明細書に記載の抗体またはCD40結合分子のポリペプチドの重鎖および軽鎖をコードする核酸は、1つの発現ベクターにクローン化することができ、各ヌクレオチド配列は、好適なプロモーターに作動可能に連結している。一例では、重鎖および軽鎖をコードするヌクレオチド配列のそれぞれは、別個のプロンプターに作動可能に連結されている。あるいは、重鎖および軽鎖をコードするヌクレオチド配列は、重鎖および軽鎖の両方が同じプロモーターから発現されるように、単一のプロモーターと作動可能に連結され得る。必要に応じて、内部リボソーム侵入部位（IRES）を重鎖と軽鎖のコード配列の間に挿入することができる。

【0113】

いくつかの例では、抗体の2つの鎖をコードするヌクレオチド配列は、2つのベクターにクローン化され、これは、同じまたは異なる細胞に導入することができる。2つの鎖が異なる細胞で発現される場合、それらのそれぞれは、それを発現する宿主細胞から単離され得、そして単離された重鎖および軽鎖は、抗体の形成を可能にする好適な条件下で混合およびインキュベートされ得る。

【0114】

一般に、抗体の1つまたはすべての鎖をコードする核酸配列は、当技術分野で知られている方法を使用して、好適なプロモーターと作動可能に連結して好適な発現ベクターにクローン化することができる。例えば、ヌクレオチド配列およびベクターは、好適な条件下で、制限酵素と接触させて、互いに対になり、リガーゼと一緒に結合することができる各分子上に相補的末端を作成することができる。あるいは、合成核酸リンカーを遺伝子の末端に連結することができる。これらの合成リンカーには、ベクター内の特定の制限部位に対応する核酸配列が含まれている。発現ベクター／プロモーターの選択は、抗体の産生に使用する宿主細胞のタイプに依存する。

【0115】

本明細書に記載の抗体の発現のために、サイトメガロウイルス（CMV）中間初期プロモーター、ラウス肉腫ウイルスLTR、HIV-LTR、HTLV-1 LTRなどのウイルスLTR、シミアンウイルス40（SV40）初期プロモーター、E. coli lac UV5プロモーター、および単純ヘルペスウイルスプロモーターを含むがこれ

10

20

30

40

50

らに限定されない、様々なプロモーターを使用することができる。

【0116】

調節可能なプロモーターも使用することができる。このような調節可能なプロモーターには、*lac*オペレーターを有する哺乳動物細胞プロモーターからの転写を調節するための転写モジュレーターとして、*E. coli*由来の*lac*リプレッサーを使用するもの [Brown, M. et al., *Cell*, 49:603-612 (1987)]、テトラサイクリンリプレッサー (*tetR*) を使用するもの [Gossen, M., and Bujard, H., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5547-5551 (1992)、Yao, F. et al., *Human Gene Therapy*, 9:1939-1950 (1998)、Shockelt, P., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:6522-6526 (1995)] が含まれる。他のシステムには、アストラジオール (*astradiol*)、RU486、ジフェノールムリスレロン (*diphenol murislerone*)、またはラパマイシンを使用する、FK506ダイマー、VP16またはp65が含まれる。誘導システムは、Invitrogen、Clontech、およびAriadから入手できる。

【0117】

オペロンとともにリプレッサーを含む調節可能なプロモーターを使用することができる。一実施形態では、*E. coli*由来の*lac*リプレッサーは、転写モジュレーターとして機能して、*lac*オペレーターを有する哺乳動物細胞プロモーターからの転写を調節することができ [M. Brown et al., *Cell*, 49:603-612 (1987)]、Gossen and Bujard (1992)、[M. Gossen et al., *Natl. Acad. Sci. USA*, 89:5547-5551 (1992)] 転写活性化因子 (VP16) を有するテトラサイクリンリプレッサー (*tetR*) と組み合わせ、哺乳動物細胞における遺伝子発現を制御する *tetR-tet* オペレーターシステムを作成するヒトサイトメガロウイルス (hCMV) の主要な最初期プロモーターに由来する *tetO* を含む最小プロモーターを使用して、*tetR*-哺乳動物細胞転写活性化因子融合タンパク質 *tTa (tetR-VP16)* を作成する。一実施形態では、テトラサイクリン誘導性スイッチが使用される。テトラサイクリンオペレーターが CMV IE プロモーターの TATA エLEMENT の下流に適切に配置されている場合、*tetR*-哺乳動物細胞転写因子融合誘導体ではなく、テトラサイクリンリプレッサー (*tetR*) のみが、哺乳動物細胞における遺伝子発現を調節する強力なトランスモジュレーターとして機能できる (Yao et al., *Human Gene Therapy*)。このテトラサイクリン誘導性スイッチの1つの特定の利点は、その調節可能な効果を達成するために、テトラサイクリンリプレッサー-哺乳動物細胞トランス活性化因子またはリプレッサー融合タンパク質 (場合によっては細胞に毒性があり得る) の使用を必要としないことである (Gossen et al., *Natl. Acad. Sci. USA*, 89:5547-5551 (1992)、Shockett et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:6522-6526 (1995))。

【0118】

さらに、ベクターは、例えば、以下のいくつかまたはすべてを含むことができる：哺乳動物細胞における安定または一過性のトランスフェクタントを選択するためのネオマイシン遺伝子などの選択可能なマーカー遺伝子、高レベルの転写のためのヒト CMV の最初期遺伝子からのエンハンサー／プロモーター配列、mRNA の安定性のための SV40 からの転写終結および RNA プロセシングシグナル、SV40 ポリオーマ複製起点および適切なエピソーム複製のための ColE1、内部リボソーム結合部位 (IRES)、多用途 (versatile) マルチブルクローニングサイト、ならびにセンスおよびアンチセンス RNA のインビトロ転写用の T7 および SP6 RNA プロモーター。導入遺伝子を含むベクターを産生するための好適なベクターおよび方法はよく知られており、当技術分野で利用可能である。

【0119】

本明細書に記載の方法を実施するのに有用なポリアデニル化シグナルの例には、ヒトコラーゲンⅠポリアデニル化シグナル、ヒトコラーゲンⅡポリアデニル化シグナル、およびSV40ポリアデニル化シグナルが含まれるが、これらに限定されない。

【0120】

抗体のいずれかをコードする核酸を含む1つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）を、抗体を産生するための好適な宿主細胞に導入することができる。宿主細胞は、抗体またはその任意のポリペプチド鎖の発現に好適な条件下で培養することができる。そのような抗体またはそのポリペプチド鎖は、従来の方法、例えば、アフィニティー精製を介して、培養細胞によって（例えば、細胞または培養上清から）回収することができる。必要に応じて、抗体のポリペプチド鎖を好適な条件下で好適な期間インキュベートして、抗体の産生を可能にすることができる。

10

【0121】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体を調製するための方法は、本明細書に記載の抗体の重鎖および軽鎖の両方をコードする組換え発現ベクターを含む。組換え発現ベクターは、従来の方法、例えばリン酸カルシウム媒介トランスフェクションによって、好適な宿主細胞（例えば、dhfr-CHO細胞）に導入することができる。陽性の形質転換体宿主細胞を選択し、抗体を形成する2つのポリペプチド鎖の発現を可能にする好適な条件下で培養することができ、これらは細胞または培養培地から回収することができる。必要に応じて、宿主細胞から回収された2本の鎖を好適な条件下でインキュベートして、抗体の形成を可能にすることができる。

20

【0122】

一例では、2つの組換え発現ベクターが提供され、1つは抗免疫細胞受容体抗体の重鎖をコードし、もう1つは同じ抗体の軽鎖をコードする。2つの組換え発現ベクターの両方は、従来の方法、例えば、リン酸カルシウム媒介トランスフェクションによって、好適な宿主細胞（例えば、dhfr-CHO細胞）に導入することができる。あるいは、発現ベクターのそれぞれを好適な宿主細胞に導入することができる。陽性の形質転換体を選択し、抗体のポリペプチド鎖の発現を可能にする好適な条件下で培養することができる。2つの発現ベクターが同じ宿主細胞に導入される場合、そこで産生された抗体は、宿主細胞または培養培地から回収することができる。必要に応じて、ポリペプチド鎖を宿主細胞または培養培地から回収し、次に抗体の形成を可能にする好適な条件下でインキュベートすることができる。2つの発現ベクターを異なる宿主細胞に導入する場合、それらのそれぞれが対応する宿主細胞または対応する培養培地から回収できる。次に、2つのポリペプチド鎖を、抗体の形成に好適な条件下でインキュベートすることができる。

30

【0123】

標準的な分子生物学技法を使用して、組換え発現ベクターを調製し、宿主細胞をトランスフェクトし、形質転換体を選択し、宿主細胞を培養し、培養培地から抗体を回収する。例えば、一部の抗体は、プロテインAまたはプロテインG結合マトリックスを使用したアフィニティークロマトグラフィーによって分離できる。

【0124】

本明細書に記載の抗体の生物活性は、当技術分野で知られている、または本明細書に記載されているアッセイを使用して検証することができる。

40

【0125】

III. 薬学的組成物

本開示は、CD40結合分子または本明細書に記載の抗CD40抗体のいずれかを含む薬学的組成物、およびCD40/CD40Lシグナル伝達によって誘発される免疫応答を調節するためのそのような使用を提供する。本明細書に記載のCD40結合分子または本明細書にまた記載の抗CD40抗体は、癌または免疫関連障害などの疾患を治療するために使用することができる。

【0126】

50

本明細書に記載のCD40結合分子または抗CD40抗体は、薬学的に許容される担体（賦形剤）と混合して、標的疾患の治療に使用するための薬学的組成物を形成することができる。「許容される」とは、担体が組成物の活性成分（active ingredient）と相溶性でなければならず（そして好ましくは、活性成分を安定化することができる）、治療される対象に有害であってはならないことを意味する。薬学的に許容される賦形剤（担体）は、当技術分野で周知である緩衝液を含む。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hooverを参照されたい。

【0127】

本発明の方法で使用される薬学的組成物は、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で、薬学的に許容される担体、賦形剤、または安定剤を含むことができる。(Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover)。許容される担体、賦形剤、または安定剤は、使用される投与量および濃度でレシピエントに対して無毒であり、ホスフェート、シトレート、および他の有機酸などの緩衝液、アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤、防腐剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド、ヘキサメトニウムクロリド、ベンザルコニウムクロリド、ベンゼトニウムクロリド、フェノール、ブチルもしくはベンジルアルコール、メチルもしくはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、3-ペンタノール、およびm-クレゾールなど）、低分子量（約10残基未満）のポリペプチド、血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリンなどのタンパク質、ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリジンなどのアミノ酸、単糖類、二糖類、およびグルコース、マンノース、もしくはデキストランを含む他の炭水化物、EDTAなどのキレート剤、スクロース、マンニトール、トレハロースもしくはソルビトールなどの糖、ナトリウムなどの塩形成対イオン、金属複合体（例えば、Zn-タンパク質複合体）、および／またはTWEEN（商標）、PLURONICS（商標）、もしくはポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン性界面活性剤、を含み得る。

【0128】

いくつかの例では、本明細書に記載の薬学的組成物は、Epstein, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688 (1985)、Hwang, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030 (1980)、ならびに米国特許第4,485,045号および同第4,544,545号に記載されているような当技術分野で知られている方法によって調製できる抗体（またはコード化核酸）を含むリポソームを含む。循環時間が増強されたリポソームは、米国特許第5,013,556号に開示されている。特に有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール、およびPEG誘導体化ホスファチジルエタノールアミン（PEG-PE）を含む脂質組成物を用いた逆相蒸発法によって生成することができる。リポソームは、規定の孔径のフィルターを通して押し出され、所望の直径を有するリポソームを得る。

【0129】

CD40結合分子、抗CD40抗体、またはコード化核酸（複数可）はまた、例えば、コアセルベーション技法によって、または界面重合によって、調製されたマイクロカプセル、例えば、コロイド状薬物送達システム（例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子およびナノカプセル）またはマクロエマルジョンにおける、それぞれヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチン-マイクロカプセルおよびポリ-マイクロカプセルおよびポリ-（メチルメタシレート）マイクロカプセル、に捕捉され得る。そのような技法は当技術分野で知られており、例えば、Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th

10

20

30

40

50

Ed. Mack Publishing (2000) を参照されたい。

【0130】

他の例では、本明細書に記載の薬学的組成物は、徐放性形式で製剤化することができる。徐放性調製物の好適な例には、抗体を含む固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスが含まれ、これらのマトリックスは、成形品、例えば、フィルムまたはマイクロカプセルの形態である。徐放性マトリックスの例には、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ（2-ヒドロキシエチルメタクリレート）、もしくはポリ（ビニルアルコール））、ポリラクチド（米国特許第3,773,919号）、L-グルタミン酸と7エチル-L-グルタメートとのコポリマー、非分解性エチレン-酢酸ビニル、LUPRON DEPOT（商標）（乳酸-グリコール酸コポリマーと酢酸リユープロリドからなる注射用ミクロスフェア）などの分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、イソ酪酸酢酸スクロース、およびポリ-D-（-）-3-ヒドロキシ酪酸が含まれる。

10

【0131】

インビボ投与に使用される薬学的組成物は、無菌でなければならない。これは、例えば、滅菌濾過膜による濾過によって容易に達成される。治療用抗体組成物は、一般に、無菌アクセスポートを有する容器、例えば、皮下注射針によって貫通可能なストッパーを有する静脈内溶液バッグまたはバイアルに入れられる。

【0132】

本明細書に記載の薬学的組成物は、経口、非経口もしくは直腸の投与、または吸入もしくは吹送による投与のために、錠剤、丸薬、カプセル、粉末、顆粒、溶液または懸濁液、または坐剤などの単位剤形（unit dosage form）であり得る。

20

【0133】

錠剤などの固体組成物を調製するために、主要な活性成分を薬学的担体、例えば、コーンスターチ、ラクトース、スクロース、ソルビトール、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、リン酸ニカルシウムまたはガムなどの従来の錠剤成分、ならびに例えば、水などの他の医薬希釈剤と混合し、本発明の化合物の均一な混合物、またはその非毒性の薬学的に許容される塩を含む固体の予備製剤組成物を形成する。これらの予備製剤組成物を均質なものとして言及する場合、活性成分が組成物全体に均一に分散され、その結果、組成物が錠剤、丸薬およびカプセルなどの同等に有効な単位剤形に容易に細分化され得ることを意味する。次に、この固体予備製剤組成物は、0.1～約500mgの本発明の活性成分を含む上記のタイプの単位剤形に細分化される。新規組成物の錠剤または丸薬は、コーティングするか、または他の方法で配合して、長期作用の利点を与える剤形を提供することができる。例えば、錠剤または丸薬は、内側投薬量および外側投薬量の成分を含むことができ、後者は前者を覆うエンベロープの形態である。2つの成分は、胃での崩壊に抵抗するのに役立ち、内側成分が無傷で十二指腸に通過するか、放出が遅れることを可能にする腸管層によって分離することができる。様々な材料をそのような腸溶層またはコーティングに使用することができ、そのような材料は、いくつかのポリマー酸、ならびにポリマー酸とシェラック、セチルアルコール、および酢酸セルロースなどの材料との混合物を含む。

30

【0134】

好適な界面活性剤には、特に、ポリオキシエチレンソルビタン（例えば、Tween（商標）20、40、60、80または85）および他のソルビタン（例えば、Span（商標）20、40、60、80または85）などの非イオン性薬剤が含まれる。界面活性剤を含む組成物は、便宜上、0.05～5%の界面活性剤を含み、0.1～2.5%であり得る。必要に応じて、他の成分、例えばマンニトールまたは他の薬学的に許容されるビヒクルを添加できることが理解されよう。

40

【0135】

好適なエマルジョンは、Intralipid（商標）、Liposyn（商標）、Infonutrol（商標）、Lipofundin（商標）、およびLipiphysan（商標）などの市販の脂肪エマルジョンを使用して調製することができる。活性成分

50

は、予め混合されたエマルジョン組成物に溶解され得るか、あるいは、それを油（例えば、大豆油、ペニバナ油、綿実油、ゴマ油、コーン油またはアーモンド油）に溶解し、リン脂質（例えば、卵リン脂質、大豆リン脂質または大豆レシチン）および水との混合時にエマルジョンを形成することもできる。エマルジョンの張度を調整するために、他の成分、例えば、グリセロールまたはグルコースを添加できることが理解されよう。好適なエマルジョンは、典型的には、最大20%、例えば5~20%の油を含むであろう。脂肪エマルジョンは、0.1~1.0 μm、特に0.1~0.5 μmの脂肪液滴を含み、5.5~8.0の範囲のpHを有する。

【0136】

エマルジョン組成物は、抗体をIntralipid（商標）またはその成分（大豆油、卵リン脂質、グリセロールおよび水）と混合することによって調製されたものであり得る。

【0137】

吸入または吹送用の薬学的組成物には、薬学的に許容される水性溶媒もしくは有機溶媒、またはそれらの混合物の溶液および懸濁液、ならびに粉末が含まれる。液体または固体の組成物は、上記のような好適な薬学的に許容される賦形剤を含み得る。いくつかの実施形態では、組成物は、局所的または全身的效果のために経口または鼻呼吸経路によって投与される。

【0138】

好ましくは無菌の薬学的に許容される溶媒の組成物は、ガスの使用によって噴霧され得る。噴霧された溶液は、噴霧装置から直接呼吸することができ、または噴霧装置をフェイスマスク、テント、または断続的な陽圧呼吸機器に取り付けることができる。溶液、懸濁液または粉末の組成物は、適切な方法で製剤を送達する装置から、好ましくは経口または経鼻的に投与することができる。

【0139】

IV. 治療応用

本明細書に開示されるCD40結合分子または抗CD40抗体のいずれかを使用して、侵入病原体および／または癌細胞などの罹患細胞に対する免疫応答を調節（例えば、増強または阻害）することができる。

【0140】

本明細書に開示される方法を実施するために、本明細書に記載の有効量の薬学的組成物を、静脈内投与などの好適な経路を介して、例えばボラスとしてまたは一定期間にわたる持続注入により、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、滑液嚢内、髄腔内、経口、吸入または局所経路により、治療を必要とする対象（例えば、ヒト）に投与することができる。ジェットネブライザーおよび超音波ネブライザーを含む、液体製剤用の市販のネブライザーは、投与に有用である。液体製剤は直接噴霧することができ、凍結乾燥粉末は再構成後に噴霧することができる。あるいは、本明細書に記載の抗体は、フルオロカーボン製剤および定量吸入器を使用してエアロゾル化するか、または凍結乾燥および粉碎粉末として吸入することができる。

【0141】

本明細書に記載の方法によって治療される対象は、哺乳動物、より好ましくはヒトであり得る。哺乳動物には、家畜、スポーツ動物、ペット、霊長類、馬、犬、猫、マウス、ラットが含まれるが、これらに限定されない。

【0142】

場合によっては、対象は、肺癌、胃癌、肝臓癌、乳癌、皮膚癌、膵臓癌、脳癌、前立腺癌、膀胱癌、または結腸直腸癌を含むがこれらに限定されない、癌などの細胞媒介性の疾患または障害を患っているか、またはそのリスクがあるヒト患者である。さらなる例示的な癌には、乳癌、胆道癌、膀胱癌、膠芽腫および髄芽腫を含む脳癌、子宮頸癌、絨毛癌、結腸癌、子宮内膜癌、食道癌、胃癌、急性リンパ性白血病および骨髄性白血病を含む血液腫瘍、例えば、B細胞CLL、T細胞急性リンパ芽球性白血病／リンパ腫、有毛細胞白血

10

20

30

40

50

病、慢性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、エイズ関連白血病および成人T細胞白血病／リンパ腫、ボーエン病およびパジェット病を含む上皮内腫瘍、肝臓癌、肺癌、ホジキン病およびリンパ球性リンパ腫を含むリンパ腫、神経芽細胞腫、扁平上皮癌を含む口腔癌、上皮細胞、間質細胞、生殖細胞および間葉系細胞から生じるものを含む卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、直腸癌、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、脂肪肉腫、線維肉腫、および骨肉腫を含む肉腫、黒色腫、メルケル細胞癌、カボジ肉腫、基底細胞癌、および扁平上皮癌を含む皮膚癌、セミノーマ、非セミノーマ（奇形腫、絨毛癌）、間質腫瘍、胚細胞腫瘍などの胚性腫瘍を含む精巣腫瘍、甲状腺腺癌および髄様癌を含む甲状腺癌、ならびに腺癌およびウィルムス腫瘍を含む腎癌、が含まれるが、これらに限定されない。癌を患っている対象は、日常の健康診断、例えば、臨床検査、臓器機能検査、CTスキャン、または超音波によって同定することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法によって治療される対象は、抗癌療法、例えば、化学療法、放射線療法、免疫療法、または外科手術を受けた、または受けているヒト癌患者であり得る。

10

【0143】

他の例では、対象は、免疫関連障害を患っているか、またはそのリスクがあるヒト患者である。免疫関連障害とは、自己免疫疾患、免疫不全、および／またはアレルギーを含む免疫系の機能障害を指す。一実施形態では、免疫関連障害は自己免疫疾患である。免疫関連障害の例には、関節リウマチ（RA）、全身性エリテマトーデス（SLE）、重量筋無力症（MG）、グレーブス病、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、ギラン＝バレー症候群、自己免疫性心筋炎、膜糸球体腎炎、真性糖尿病、I型またはII型糖尿病、多発性硬化症、レイノー症候群、自己免疫性甲状腺炎、胃炎、セリアック病、白斑症、肝炎、原発性胆汁性肝硬変、炎症性腸疾患、脊椎関節症、実験的自己免疫性脳脊髄炎、免疫性好中球減少症、若年発症糖尿病、ならびにサイトカイン、結核、サルコイドーシス、および多発性筋炎に典型的に見られるTリンパ球によって媒介される遅延型過敏症に関連する免疫応答、多発性動脈炎、皮膚血管炎、天疱瘡、類天疱瘡、グッドパスチャー症候群、川崎病、全身性硬化症、抗リン脂質症候群、シェーグレン症候群、移植片対宿主（GVH）病、および免疫性血小板減少症、が含まれるが、これらに限定されない。免疫関連障害を患っている対象は、例えば、臨床検査などの定期健康診断によって同定することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法によって治療される対象は、免疫関連障害治療、例えば、免疫抑制媒介、ホルモン補充療法、輸血、抗炎症薬、および／または鎮痛薬、を受けた、または受けている免疫関連障害を有するヒト対象であり得る。

20

30

【0144】

本明細書で使用される場合、「有効量」とは、単独で、または1つ以上の他の活性剤と組み合わせて、対象に治療効果を与えるのに必要な各活性剤の量を指す。いくつかの実施形態では、治療効果は、標的免疫受容体を調節する（例えば、活性化する）ことであり、それにより、受容体によって媒介される免疫応答を誘発または増強する。本明細書に記載の組成物の量が治療効果を達成したかどうかの決定は、当業者には明らかであろう。当業者によって認識されるように、有効量は、治療される特定の状態、状態の重症度、年齢、体調、サイズ、性別および体重、治療期間、併用療法の性質（もしある場合）、特定の投与経路、および医療従事者の知識および専門知識の範囲内の同様の要因を含む個々の患者のパラメータに応じて変化する。これらの要因は当業者によく知られており、日常的な実験のみで対処することができる。一般に、個々の成分またはそれらの組み合わせの最大用量、すなわち、健全な医学的判断による最高の安全用量を使用することが好ましい。

40

【0145】

半減期などの経験的考察は、一般的に投与量の決定に寄与する。例えば、ヒト化抗体または完全ヒト抗体などのヒト免疫系と適合性のある分子を使用して、抗体の半減期を延長し、抗体が宿主の免疫系によって攻撃されるのを防ぐことができる。投与頻度は、療法の過程にわたって決定および調整することができ、一般に、必ずしもではないが、標的疾患／障害の治療および／または抑制および／または改善および／または遅延に基づく。あるいは、抗体の徐放性製剤が適切である場合もある。徐放を達成するための様々な製剤およ

50

び装置が当技術分野で知られている。

【0146】

一例では、本明細書に記載のCD40結合分子または抗CD40抗体の投与量は、抗体の1回以上の投与（複数可）を受けた個体において経験的に決定され得る。個体には、アゴニストの漸増投与量が与えられる。アゴニストの有効性を評価するために、疾患／障害の指標を追跡することができる。

【0147】

一般に、本明細書に記載のCD40結合分子または抗CD40抗体などの治療薬のいずれかの投与の場合、最初の候補投与量は約2mg/kgであり得る。本開示の目的のために、典型的な1日投与量は、上記の要因に応じて、約0.1μg/kg～3μg/kg～30μg/kg～300μg/kg～3mg/kg、～30mg/kg～100mg/kg以上のいずれかの範囲であり得る。状態に応じて、数日以上反復投与の場合、所望する症状の抑制が起こるまで、または標的疾患もしくは障害、もしくはその症状を緩和するのに十分な治療レベルが達成されるまで、治療が持続される。例示的な投薬計画は、約2mg/kgの初期用量、続いて約1mg/kgの抗体の毎週の維持用量、またはその後隔週で約1mg/kgの維持用量を投与することを含む。しかしながら、医師が達成したい薬物動態学的崩壊のパターンに応じて、他の投与計画が有用であり得る。例えば、週に1～4回からの投薬が企図されている。いくつかの実施形態では、約3μg/mg～約2mg/kg（例えば、約3μg/mg、約10μg/mg、約30μg/mg、約100μg/mg、約300μg/mg、約1mg/kg、および約2mg/kg）の範囲の投薬が使用できる。いくつかの実施形態では、投薬頻度は、毎週1回、2週間ごと、4週間ごと、5週間ごと、6週間ごと、7週間ごと、8週間ごと、9週間ごと、もしくは10週間ごと、または、毎月1回、2か月ごと、または3か月ごと、もしくはそれ以上である。この療法の進行は、従来の技法およびアッセイによって簡単に監視される。投薬計画（使用される治療法を含む）は、時間とともに変化する可能性がある。

【0148】

いくつかの実施形態では、正常体重の成人患者に対して、約0.3～5.00mg/kgの範囲の用量を投与することができる。いくつかの例では、本明細書に記載の抗体などの治療薬の投与量は、10mg/kgであり得る。特定の投与計画、すなわち、用量、タイミング、および繰り返しは、特定の個体およびその個体の病歴、ならびに個々の薬剤の特性（薬剤の半減期、および当技術分野で周知の他の考慮事項など）に応じて変化するであろう。

【0149】

本開示の目的のために、本明細書に記載のCD40結合分子または抗CD40抗体の適切な投与量は、使用される特定の抗体、複数の抗体および／または非抗体ペプチド（またはこれらの組成物）、疾患／障害のタイプおよび重症度、CD40結合分子または抗CD40抗体が予防目的あるいは治療目的で投与されるかどうか、以前の療法、患者の病歴およびアゴニストに対する応答、および主治医の裁量に依存する。典型的には、臨床医は、所望の結果を達成する投与量に達するまで、CD40結合分子または抗CD40抗体を投与する。いくつかの実施形態では、所望の結果は、血栓症の減少である。投薬量が所望の結果をもたらしたかどうかを決定する方法は、当業者には明らかであろう。1つ以上のCD40結合分子または抗CD40抗体の投与は、例えば、レシipientの生理学的状態、投与の目的が治療的であるかまたは予防的であるか、および熟練した医師に知られている他の要因に応じて、連続的または断続的であり得る。CD40結合分子または抗CD40抗体の投与は、事前に選択された期間にわたって本質的に連続的であり得るか、または、例えば、標的疾患または障害の発症前、発症中、または発症後のいずれかである一連の間隔をあけた用量であり得る。

【0150】

本明細書で使用される場合、「治療する」という用語は、障害、疾患の症状、または疾患もしくは障害への素因を治療、治癒、緩和、軽減、変更、救済、向上、改善、または影

10

20

30

40

50

響することを目的として、標的疾患または障害、疾患／障害の症状、または疾患／障害への素因を有する対象への1つ以上の活性剤を含む組成物の適用または投与を指す。

【0151】

標的疾患／障害の緩和には、疾患の発症または進行の遅延、または疾患の重症度の低減が含まれる。疾患の緩和は必ずしも治療的な結果を必要としない。本明細書で使用される場合、標的疾患または障害の発症を「遅延させる」とは、疾患の進行を保留、妨害、減速、遅延、安定化、および／または延期することを意味する。この遅延は、疾患の病歴および／または治療されている個体に応じて、様々な長さの時間であり得る。疾患の発症を「遅延させる」もしくは緩和する方法、または疾患の発症を遅延させる方法は、本方法を使用しない場合と比較した場合、所与の時間枠内で疾患の1つ以上の症状を発症する可能性を低減し、および／または特定の時間枠内で症状の程度を低減する方法である。このような比較は典型的には、統計的に有意な結果をもたらすのに十分な数の対象を使用した臨床研究に基づいている。

10

【0152】

疾患の「発症」または「進行」は、疾患の初期症状および／またはその後の進行を意味する。疾患の発症は、当技術分野で周知の標準的な臨床技法を使用して検出可能であり、評価することができる。しかしながら、発症とは、検出できない可能性のある進行も指す。本開示の目的のため、発症または進行とは、症状の生物学的経過を指す。「発症」には、発現、再発、および発病が含まれる。本明細書で使用される場合、標的疾患または障害の「発病」または「発現」には、初期の発病および／または再発が含まれる。

20

【0153】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体は、治療を必要とする対象に、標的受容体の活性をインビボで少なくとも20%（例えば、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%以上）活性化するのに十分な量で投与される。

【0154】

治療される疾患のタイプまたは疾患の部位に応じて、医学分野の当業者に知られている従来の方法を使用して、薬学的組成物を対象に投与することができる。この組成物はまた、他の従来の経路を介して投与され、例えば、経口的に、非経口的に、吸入スプレーによって、局所的に、直腸的に、鼻腔的に、頰側に、腔内に、または移植リザーバーを介して投与され得る。本明細書で使用される「非経口」という用語は、皮下、皮内、静脈内、筋肉内、関節内、動脈内、滑液嚢内、胸骨内、髄腔内、病変内、および頭蓋内の注射または注入技法を含む。さらに、1ヶ月、3ヶ月、または6ヶ月のデポー注射可能または生分解可能な材料および方法を使用するなどの注射可能なデポー投与経路を介して対象に投与することができる。いくつかの例では、薬学的組成物は、眼内または硝子体内に投与される。

30

【0155】

注射可能な組成物は、植物油、ジメチルアクタミド、ジメチルホルムアミド、乳酸エチル、炭酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、エタノール、およびポリオール（グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコールなど）などの様々な担体を含み得る。静脈内注射の場合、水溶性抗体は点滴法によって投与することができ、それにより、抗体および生理学的に許容される賦形剤を含む薬学的製剤が注入される。生理学的に許容される賦形剤には、例えば、5%デキストロース、0.9%生理食塩水、リンゲル液または他の好適な賦形剤が含まれ得る。筋肉内調製物、例えば、抗体の好適な可溶性塩形態の滅菌製剤は、注射用水、0.9%生理食塩水、または5%グルコース溶液などの薬学的賦形剤に溶解および投与することができる。

40

【0156】

本明細書に記載の方法で使用される特定の投与計画、すなわち、用量、タイミング、および反復は、特定の対象およびその対象の病歴に依存するであろう。

【0157】

いくつかの実施形態では、2つ以上の抗体、または抗体と別の好適な治療薬との組み合わせを、治療を必要とする対象に投与することができる。CD40結合分子または抗CD

50

40 抗体はまた、薬剤の有効性を増強および／または補完するのに役立つ他の薬剤と組み合わせることができる。

【0158】

標的疾患／障害の治療効果は、当技術分野で周知の方法によって評価することができる。

【0159】

本明細書に記載の治療薬は、癌などの標的疾患に対する他のタイプの治療と組み合わせて利用することができる。追加の抗癌療法には、化学療法、手術、放射線療法、遺伝子療法などが含まれる。第2の治療薬が使用される場合、そのような薬剤は、本明細書に記載のCD40結合分子または抗CD40抗体と同時にまたは連続して（任意の順序で）投与することができる。

【0160】

追加の治療薬と同時に投与される場合、各薬剤の好適な治療上有効な投与量は、相加作用または相乗効果のために低減され得る。

【0161】

本開示の治療は、例えば、治療ワクチン（GVAX、DCベースのワクチンなどを含むがこれらに限定されない）、またはチェックポイント阻害剤（CTLA4、PD1、LAG3、TIM3など、を遮断する薬剤を含むがこれらに限定されない）などの他の免疫調節治療と組み合わせることができる。あるいは、本開示の治療は、化学療法剤と組み合わせることができ、例えば、ピリミジン類似体（5-フルオロウラシル、フロクスウリジン、カペシタビン、ゲムシタビンおよびシタラビン）、プリン類似体、葉酸拮抗剤および関連する阻害剤（メルカプトプリン、チオグアニン、ペントスタチンおよび2-クロロデオキシアデノシン（クラドリビン））；ビンカアルカロイド（ビンブラスチン、ビンクリスチン、およびビノレルビン）などの天然物、タキサン（パクリタキセル、ドセタキセル）、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ノコダゾール、エポチロンおよびナベルビンなどの微小管攪乱物質（microtubule disruptor）、エビジポドフィロトキシン（エトポシド、テニポシド）、DNA傷害剤（アクチノマイシン、アムサクリン、アントラサイクリン、ブレオマイシン、ブスルファン、カンプトテシン、カルボプラチン、クロラムブシル、シスプラチン、シクロホスファミド、サイトキサン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、ヘキサメチルネラミンオキサリプラチン、イホスファミド、メルファラン、メクロレタミン、マイトマイシン、ミトキサントロン、ニトロソウレア、プリカマイシン、プロカルバジン、タキソール、タキソテル、テニポシド、トリエチレンチオホスホルアミドおよびエトポシド（VP16））を含む抗増殖／有糸分裂阻害薬；ダクチノマイシン（アクチノマイシンD）、ダウノルビシン、ドキソルビシン（アドリアマイシン）、イダルビシン、アントラサイクリン、ミトキサントロン、ブレオマイシン、プリカマイシン（ミトラマイシン）、マイトマイシンなどの抗生物質；酵素（L-アスパラギンを全身的に代謝し、独自のアスパラギンを合成する能力を持たない細胞を欠乏させる（deprive）L-アスパラギナーゼ）；抗血小板薬、ナイトロジェンマスタード（メクロレタミン、シクロホスファミドおよび類似体、メルファラン、クロラムブシル）、エチレンイミンおよびメチルメラミン（ヘキサメチルメラミンおよびチオテパ）、アルキルスルホネート-ブスルファン、ニトロソウレア（カルムスチン（BCNU）および類似体、ストレプトゾシン）、トラゼン（trazenes）-ダカルバジニン（dacarbazine）（DTIC）などの抗増殖／有糸分裂阻害性アルキル化剤；葉酸類似体（メトトレキサート）などの抗増殖／有糸分裂阻害性代謝拮抗剤；白金配位錯体（シスプラチン、カルボプラチン）、プロカルバジン、ヒドロキシ尿素、ミトタン、アミノグルテチミド；ホルモン、ホルモン類似体（エストロゲン、タモキシフェン、ゴセレリン、ピカルタミド、ニルタミド）およびアロマターゼ阻害剤（レトロゾール、アナストロゾール）；抗凝固剤（ヘパリン、合成ヘパリン塩およびその他のトロンビン阻害剤）；線維素溶解薬（組織プラスミノゲン活性化因子、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼなど）、アスピリン、ジピリダモール、チクロピジン、クロピドグレル、アブシキシマブ；抗遊走剤（antimigratory agent）；分泌抑制剤

10

20

30

40

50

(ブレベルジン (brevelidin)) ; 免疫抑制剤 (シクロスポリン、タクロリムス (FK-506)、シロリムス (ラパマイシン)、アザチオプリン、ミコフェノール酸モフェチル) ; 抗血管新生化合物 (例えば、TNP-470、ゲニステイン、ベバシズマブ) および成長因子阻害剤 (例えば、線維芽細胞成長因子 (FGF) 阻害剤) ; アンジオテンシン受容体遮断薬 ; 一酸化窒素ドナー ; アンチセンスオリゴヌクレオチド ; 抗体 (トラストズマブ) ; 細胞周期阻害剤および分化誘導剤 (トレチノイン) ; mTOR 阻害剤、トポイソメラーゼ阻害剤 (ドキソルビシン (アドリアマイシン)、アムサクリン、カンプトテシン、ダウノルビシン、ダクチノマイシン、エニポシド、エビルビシン、エトポシド、イダルビシンおよびミトキサントロン、トポテカン、イリノテカン)、コルチコステロイド (コルチゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルペドニゾロン (methylprednisolone)、プレドニゾン、プレニゾロン (prednisolone)) ; 成長因子シグナル伝達キナーゼ阻害剤 ; ミトコンドリア機能障害誘導物質 (dysfunction inducer) およびカスパーゼ活性化薬 ; クロマチン攪乱物質 (chromatin disruptor) である。

【0162】

追加の有用な薬剤の例については、また、Physician's Desk Reference, 59. sup. th edition, (2005), Thomson PDR, Montvale N. J., Gennaro et al., Eds. Remington's The Science and Practice of Pharmacy 20. sup. th edition, (2000), Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore Md., Braunwald et al., Eds. Harrison's Principles of Internal Medicine, 15. sup. th edition, (2001), McGraw Hill, NY, Berkow et al., Eds. The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, (1992), Merck Research Laboratories, Rahway N. J. を参照されたい。

【0163】

V. キット

本開示はまた、本明細書に記載のCD40結合分子または抗CD40抗体のいずれかを 사용하여所望の免疫応答を増強するのに使用するためのキットを提供する。

【0164】

いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載の方法のいずれかに従って使用するための取扱説明書を含むことができる。含まれる説明書は、本明細書に記載されているもののよう、標的疾患を治療、発症を遅らせる、または軽減するための治療薬の投与の説明を含むことができる。キットは、その個体が標的疾患を有するかどうかを同定することに基づいて、治療に好適な個体を選別することの説明をさらに含み得る。さらに他の実施形態では、説明書は、標的疾患のリスクのある個体に抗体などの治療薬を投与することの説明を含む。

【0165】

治療薬の使用に関する説明書は、一般に、意図された治療のための投薬量、投薬スケジュール、および投与経路に関する情報を含む。容器は、単位用量、バルクパッケージ (例えば、複数回投与パッケージ) またはサブユニット用量であり得る。本発明のキットで提供される取扱説明書は、典型的には、ラベルまたは添付文書 (例えば、キットに含まれる紙シート) に書かれた取扱説明書であるが、機械可読の取扱説明書 (例えば、磁気または光学記憶ディスクで伝送される取扱説明書) も許容される。

【0166】

ラベルまたは添付文書は、組成物が、癌などの標的疾患または障害を治療、発症を遅らせる、および／または緩和するために使用されることを示している。本明細書に記載の方法のいずれかを実施するための取扱説明書が提供され得る。

【0167】

本発明のキットは、好適なパッケージに入っている。好適な包装には、バイアル、ボトル、ジャー、フレキシブル包装（例えば、密封されたMylarまたはプラスチック袋）などが含まれるが、これらに限定されない。吸入器、経鼻投与装置（例えば、噴霧器）またはミニポンプなどの輸液装置などの特定の装置と組み合わせて使用するためのパッケージも企図される。キットは、無菌のアクセスポートを有し得る（例えば、容器は、静脈内溶液バッグ、または皮下注射針によって貫通可能なストッパーを有するバイアルであり得る）。容器は、無菌のアクセスポートも有し得る（例えば、容器は、静脈内溶液バッグ、または皮下注射針によって貫通可能なストッパーを有するバイアルであり得る）。組成物中の少なくとも1つの活性剤は、本明細書に記載されるものとしての治療剤である。

10

【0168】

キットは、任意選択で、緩衝液および説明情報などの追加要素を提供する場合がある。通常、キットは、容器、および容器上または容器に関連するラベルまたは添付文書を含む。いくつかの実施形態では、本発明は、上記のキットの内容物を含む製品を提供する。

【0169】

一般的技法

本発明の実施は、他に示されない限り、当技術分野の技術の範囲内である、分子生物学（組換え技法を含む）、微生物学、細胞生物学、生化学および免疫学の従来技法を使用する。そのような技法は例えば、以下のような文献で完全に説明されている：Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook, et al., 1989) Cold Spring Harbor Press, Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984), Methods in Molecular Biology, Humana Press, Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press, Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed., 1987), Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press, Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons, Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.), Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.), Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987), Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel, et al., eds., 1987), PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis, et al., eds., 1994), Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al., eds., 1991), Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999), Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997), Antibodies (P. Finch, 1997), Antibodies: a practical approach (D. Catty, ed., IRL Press, 1988-1989), Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000), Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999), The

20

30

40

50

Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)。

【0170】

さらなる詳細なしに、当業者が、上記の説明に基づいて、本発明を最大限に利用することができると考えられる。したがって、本明細書で提供される特定の実施形態は、単なる例示として解釈されるべきであり、いかなる方法であれ、本開示の残りの部分を限定するものではない。本明細書で引用されるすべての刊行物は、本明細書で参照される目的または主題のために参照により組み込まれる。

【0171】

実施例1．操作されたFc領域を有する抗CD40抗体

10

様々な重鎖CH1およびFc領域またはヒトカップ軽鎖定常領域を有する抗CD40抗体可変ドメインをコードするcDNA配列を合成し、クローン化した。対応する重鎖および軽鎖配列を含むプラスミドを用いて、CHO一過性発現を実施した。これらの抗体をプロテインAアフィニティークロマトグラフィーによって精製した。重鎖(HC)および軽鎖(LC)のアミノ酸配列を以下に示す。

383-huIgG LC

DIQMTQSPSSVSASVGVDRVTITCRASQGIYSWLAWYQQKP
GKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQANIFPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC (配列番号146)

20

383-huIgG1m2 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPPCPA
PELLGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEAL
HNHYTQKSLSLSPGK (配列番号147)

30

383-huIgG1m27 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTPPCPA
PELLGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVEHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEAL
HNHYTQKSLSLSPGK (配列番号148)

40

383-huIgG2m1 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA

50

PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPV
ASVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGK
EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPM
LDSDGSSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYT
QKSLSLSLSPGK (配列番号149)

10

383-huIgG2m19 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPV
ASVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVQFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGK
EYKCKVSNKGFPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPM
LDSDGSSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYT
QKSLSLSLSPGK (配列番号150)

20

383-huIgG2m20 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPV
APSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG
KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
MLDSDGSSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHY
TQKSLSLSLSPGK (配列番号151)

30

383-huIgG4m2 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEF
LGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSGSSFLLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNH
YTQKSLSLSLGLGK (配列番号152)

40

50

383-huIgG4m20 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGGGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEF
LGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSLGK (配列番号153)

10

383-huIgG4m30 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGGGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEF
LPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSLGK (配列番号154)

20

383-msIgG LC

DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSWLAWYQQKP
GKAPNLLIYTA STLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQANIFPLTFGGGGTKVEIKRADAAPTVSIFFP
SSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKKIDGSE RQNGVL
NSWTDQDSKDS TYSMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKT
STSPIVKSFNRNEC (配列番号155)

30

383-msIgG1 DANA HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGGGT
LVTVSSASTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVT LGCLVKGYFP
EPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSST
WPSETVTCNV AHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEV
SSVFIFFPPKPKDVL TITLTPKVTCVVVAISKDDPEVQFSW
FVDDVEVHTAQTQPREEQFASTFRSVSELPIMHQDWLNGK
EFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTI PPPKEQ
MAKD KVS L TCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPI
MDTDGSYFVYSKLN VQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHT
EKSLSHSPGK (配列番号156)

40

383-msIgG1 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGGGT

50

L V T V S S A S T T P P S V Y P L A P G S A A Q T N S M V T L G C L V K G Y F P
E P V T V T W N S G S L S S G V H T F P A V L Q S D L Y T L S S S V T V P S S T
W P S E T V T C N V A H P A S S T K V D K K I V P R D C G C K P C I C T V P E V
S S V F I F P P K P K D V L T I T L T P K V T C V V V D I S K D D P E V Q F S W
F V D D V E V H T A Q T Q P R E E Q F N S T F R S V S E L P I M H Q D W L N G K
E F K C R V N S A A F P A P I E K T I S K T K G R P K A P Q V Y T I P P P K E Q
M A K D K V S L T C M I T D F F P E D I T V E W Q W N G Q P A E N Y K N T Q P I
M D T D G S Y F V Y S K L N V Q K S N W E A G N T F T C S V L H E G L H N H H T
E K S L S H S P G K (配列番号157)

383-msIgG2a DANA HC

Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T G Y Y M H W V R Q A
P G Q G L E W M G W I N P D S G G T N Y A Q K F Q G R V T M T R D T S I S T A Y
M E L N R L R S D D T A V Y Y C A R D Q P L G Y C T N G V C S Y F D Y W G Q G T
L V T V S S A S T T A P S V Y P L A P V C G D T T G S S V T L G C L V K G Y F P
E P V T L T W N S G S L S S G V H T F P A V L Q S D L Y T L S S S V T V T S S T
W P S Q S I T C N V A H P A S S T K V D K K I E P R G P T I K P C P P C K C P A
P N L L G G P S V F I F P P K I K D V L M I S L S P I V T C V V V A V S E D D P
D V Q I S W F V N N V E V H T A Q T Q T H R E D Y A S T L R V V S A L P I Q H Q
D W M S G K E F K C K V N N K D L P A P I E R T I S K P K G S V R A P Q V Y V L
P P P E E E M T K K Q V T L T C M V T D F M P E D I Y V E W T N N G K T E L N Y
K N T E P V L D S D G S Y F M Y S K L R V E K K N W V E R N S Y S C S V V H E G
L H N H H T T K S F S R T P G K (配列番号158)

383-msIgG2a HC

Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T G Y Y M H W V R Q A
P G Q G L E W M G W I N P D S G G T N Y A Q K F Q G R V T M T R D T S I S T A Y
M E L N R L R S D D T A V Y Y C A R D Q P L G Y C T N G V C S Y F D Y W G Q G T
L V T V S S A S T T A P S V Y P L A P V C G D T T G S S V T L G C L V K G Y F P
E P V T L T W N S G S L S S G V H T F P A V L Q S D L Y T L S S S V T V T S S T
W P S Q S I T C N V A H P A S S T K V D K K I E P R G P T I K P C P P C K C P A
P N L L G G P S V F I F P P K I K D V L M I S L S P I V T C V V V D V S E D D P
D V Q I S W F V N N V E V H T A Q T Q T H R E D Y N S T L R V V S A L P I Q H Q
D W M S G K E F K C K V N N K D L P A P I E R T I S K P K G S V R A P Q V Y V L
P P P E E E M T K K Q V T L T C M V T D F M P E D I Y V E W T N N G K T E L N Y
K N T E P V L D S D G S Y F M Y S K L R V E K K N W V E R N S Y S C S V V H E G
L H N H H T T K S F S R T P G K (配列番号159)

【0172】

追加のFc変異体を作成し、重鎖（HC）のアミノ酸配列を以下に示す（軽鎖（LC）配列を上に表示されている）。

383-huIgG1 HC

Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T G Y Y M H W V R Q A
P G Q G L E W M G W I N P D S G G T N Y A Q K F Q G R V T M T R D T S I S T A Y
M E L N R L R S D D T A V Y Y C A R D Q P L G Y C T N G V C S Y F D Y W G Q G T
L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P
E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S
S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A
P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P
E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q
D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L
P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y
K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A

LHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号207)

383-huIgG2 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGGGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
NFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCAPPV
AGPSVFLFP PKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLT VVHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK (配列番号208)

10

383-huIgG4SP HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGGGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGKTQTYTCNV DHKPSNTKVDKR VESKYGP PCPPCPAPEF
LGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLT VLVHQDWL
NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSLGK (配列番号209)

20

383-huIgG1mAA

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGGGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLT VLVHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号210)

30

40

383-huIgG1m40 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGGGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTP EVTCVVVaVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY aSTYRVVS VLT VLVHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL

50

PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号193)

383-huIgG1m45 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQG LEWMGWINPD SGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PpvaGPSVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL P
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK (配列番号194)

10

383-huIg G1m240 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQG LEWMGWINPD SGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGPSVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVAVVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL P
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK (配列番号195)

20

383-huIgG1 N297A

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQG LEWMGWINPD SGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号196)

30

40

383-huIgG1m47 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQG LEWMGWINPD SGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PpvaGPSVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

50

VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKgLPSsIEKTISKAKGQPREPQVYTL P
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEAL
HNHHTQKSLSLSPGK (配列番号197)

383-huIgG1m48 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPS S
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSsDKTHTsPPsPA
PELLGGsSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEA
LHNHHTQKSLSLSPGK (配列番号198)

383-huIgG1m49 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPS S
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTsPPsPA
Ppvaggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedp
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEA
LHNHHTQKSLSLSPGK (配列番号199)

383-huIgG1m50 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPS S
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPA
Pefeggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedp
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEA
LHNHHTQKSLSLSPGK (配列番号214)

383-huIgG1mAAG

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPS S

10

20

30

40

50

SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号211)

383-huIgG2m40 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVVSHEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVSVSLTVVHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPAPIEKTIISKTKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK (配列番号200)

383-huIgG2m43 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPa
aasSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSaEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVSLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPssIEKTIISKTKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK (配列番号201)

383-huIgG2m44 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSqEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVSLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPssIEKTIISKTKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK (配列番号202)

383-huIgG2mAA HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT

10

20

30

40

50

LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPa
aaPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PMLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNNH
YTQKSLSLSPGK (配列番号203)

383-huIgG2m2040 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHWRQA
PGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPV
APSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLNG
KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
MLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNNH
YTQKSLSLSPGK (配列番号204)

383-huIgG2G4 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHWRQA
PGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDS DGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNNH
YTQKSLSLSLGK (配列番号205)

383-huIgG4m40 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHWRQA
PGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEF
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PPVLDS DGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHN
HYTQKSLSLSLGK (配列番号206)

383-huIgG4m41 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHWRQA

PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPPV
AGGPSVFLLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVASQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVVHQDWL
NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPS
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSLGK (配列番号 66)

10

383-huIgG4m42 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPPV
AGGPSVFLLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVASQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPS
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSLGK (配列番号 67)

20

383-huIgG4m46 HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEa
LGaPSVFLLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKaYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPS
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSLGK (配列番号 68)

30

383-huIgG4mPE HC

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQA
PGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGKTkTYTCNVdHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEF
EGGPSVFLLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPS
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSLGK (配列番号 212)

40

50

383-huIgG4mAA HC
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHWRQA
PGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAY
MELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGGQT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE SKYGP CPCPCPAPEa
aGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS
QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSLGK (配列番号69)

【0173】

実施例2. Fc変異体を有するCD40抗体の細胞FcγRに対する結合活性の測定

細胞Fc受容体に対するIgG変異体におけるCD40活性の結合活性を決定するために、CHO細胞は、当技術分野で知られているレンチウイルス送達システムを使用して、ヒトFcγR (FcγRI、FcγRIIA、FcγRIIB、およびFcγRIII)を発現するように遺伝子操作された。

【0174】

例示的な抗CD40部分として本明細書に開示される抗CD40抗体383を使用して、383-msIgG1、383-msIgG1 DANA、383-msIgG2a、383-msIgG2a DANA、383-hIgG2、対照huIgG1、383-huIgG1m27、383-huIgG2m19、383-huIgG1m2、383-huIgG2m1、383-huIgG2m20、383-huIgG4m2、383-huIgG4m20、383-huIgG4m30、383-huIgG1mAA、および383-huIgG4SP (上に示されたアミノ酸配列)を含む多数の抗CD40IgGFc変異体が、本明細書の開示に従って設計および構築された。これらのIgG変異体には、上部ヒンジドメイン、下部ヒンジドメイン、またはCH2ドメイン内に変異が含まれている。

【0175】

様々なFcγRに対するIgG変異体の結合をFACS分析するために、トリプシン-EDTAを使用してFcγRを過剰発現するCHO細胞を収集し、冷染色緩衝液(PBS中3%BSA)に懸濁した。染色緩衝液で希釈した試験IgG変異体を細胞に加えた。混合物を4℃で2時間インキュベートした後、冷染色緩衝液で2回洗浄し、PE標識抗ヒトIgGに再懸濁し、続いて4℃で2時間インキュベートした。混合物を染色緩衝液で2回洗浄し、FACS用のPBS中の2%PFAに再懸濁した。

【0176】

図1A~1Dおよび3A~3Dに示されるように、多くの抗CD40ヒトIgG1、IgG2、およびIgG4変異体は、細胞表面に発現されるFcγRに対する結合活性を示したが、他のものは、試験したFcγRに対して明らかな所見を示さなかった。結合特性の変化の概要は、上記の表2~4に記載されている。

【0177】

実施例3. Fc領域を操作したCD40抗体は異なるCD40アゴニスト活性を示した

IgG変異体のアゴニスト活性を測定するために、CD40レポーターアッセイが開発され、これには、ヒトCD40T細胞を過剰発現するレポーター細胞が含まれる。このGS-H2-huCD40レポーター細胞をアッセイ緩衝液に再懸濁し、細胞密度と生存率をトリパンブルーで測定した。細胞懸濁液をアッセイ緩衝液(1%FBSを含むMEM)

で、 1×10^4 細胞/mL に希釈した。アッセイプレート (Nunc、カタログ番号 167425) で最終細胞数が 1000 細胞/ウェルになるように、細胞を 100 μ L/ウェルで添加した。試験試料の連続作業希釈液を、2 倍の最終濃度でアッセイ緩衝液に調製した。試料を、100 μ L/ウェルの試験試料で 2 倍の最終濃度でアッセイプレートに添加した。アッセイプレートを 37°C、5% CO₂ のインキュベーターで 18~20 時間インキュベートした。18~20 時間のインキュベーション後、アッセイプレートの各ウェルから 8 μ L の上清を収集し、HTRF 検出アッセイプレート (Nunc) に添加した。ヒトインターロイキン 8 (CD40 活性化のレポーター) 検出アッセイは、ヒト IL-8 アッセイキット (Cisbio、カタログ番号 62 IL8 PEB) を使用して実施した。具体的には、16 μ L のアッセイ容量を使用した。Tecan F200pro による Time Resolved Fluorescence を使用して結果を読み取り、相対光単位データを記録した。

【0178】

図 2 および図 4 A~4 E に示されるように、試験された抗 CD40 抗体 IgG 変異体のすべては、IL8 の分泌によって証明されるように、ヒト CD40 活性化を刺激した。CD40 活性化の大きさは、各抗体アイソタイプ構造のヒンジの柔軟性により、そこに含まれる Fc バリエーションの影響を受けた。

【0179】

CD40 レポーターアッセイは、Fc γ RIIB を発現する CHO 細胞との共培養でも実施され、結果は図 4 A~4 D に示されている。微小環境で同時に試験された抗体分子による CD40 および Fc γ R2B への結合は、個々の非共有結合相互作用の複数の親和性の累積強度を指すアビディティ効果により、個々の結合に影響を及ぼす。抗体は、Fc γ RIIB に対する結合活性と相関する増加した活性を示した。Fc γ RIIB に対する明らかな結合が弱いか全くない Fc バリエーションを有する抗体は、共培養レポーターアッセイにおいて増強されたアゴニスト活性を示し、アビディティ効果に起因する可能性があるレポーターアッセイのより高い感度を示唆することが注目された。したがって、抗体の Fc 構造は、同じ可変ドメインを持つ抗体のアゴニスト活性に影響を与える可能性がある。

【0180】

実施例 4. 樹状細胞 (DC) 機能アッセイにおける抗 CD40 抗体 IgG 変異体の特性評価
様々な Fc 変異体を含む例示的な抗 CD40 抗体 IgG バリエーションを、上記の実施例に記載の CD40 結合活性およびアゴニスト活性についてインビトロで、ならびに実施例 6 のように抗腫瘍効果および毒性についてインビボで試験した。ヒト樹状細胞を活性化するそれらの活性は、以下のように実施された。

【0181】

健康なドナーからの凍結ヒト PBMC (All cells、カタログ番号 PB005F) を解凍し、25 mL の RPMI 1640 培地を含む 50 mL チューブに移した。EasySep (商標) Human CD14 Positive Selection Kit II (Stemcell、カタログ: 17858) を使用して B 細胞を単離した。PBMC 懸濁液を 250 g で 15 分間遠心分離し、上清を捨てて細胞を 1.5 mL の EasySep (商標) 緩衝液に再懸濁する。選択カクテルを 14 mL (17 x 100 mm) ポリスチレン丸底チューブの試料に加える。100 μ L/mL、各試料に 150 μ L。細胞を 50 mL チューブから 14 mL (17 x 100 mm) ポリスチレン丸底チューブに移し、混合し、室温 (RT) で 15 分間インキュベートする。試料に移す前に磁性粒子を混合する。磁性粒子を試料に移す。50 μ L/mL、各試料に 75 μ L。混合し、室温で 10 分間インキュベートする。8.5 mL の EasySep (商標) 緩衝液を加えて、試料を 10 mL まで補充する。軽く上下に 2~3 回ピペッティングして混合する。チューブを磁石に入れ、5 分間インキュベートする。磁石を手に取り、1 回の連続動作で磁石とチューブを反転させ、上清を注ぎ出す。B 細胞濃縮のためにこの上清を収集する。上記の洗浄手順をさらに 2 回繰り返す。細胞を 5 mL の RPMI 1640 に再懸濁する。細胞密度を計数する。

10

20

30

40

50

【0182】

ヒトPBMCから単離されたCD14⁺細胞を、 1×10^6 細胞/mLに調整し、GM-CSFおよびIL-4を添加し、細胞培養培地に添加した。細胞を37℃、5%CO₂の加湿インキュベーターで3日間インキュベートする。3日目に、培養上清を遠心分離管に移して培地を交換し、250×gで5分間遠心分離した。10mLのGM-CSFとIL-4を含む新鮮な培地を使用して、細胞ペレットを遠心分離管に懸濁した後、遠心分離中にフラスコに加えて、こうして形成された細胞ペレットが10mLの新鮮な培地に再懸濁されるようにした。再懸濁した細胞を同じウェルまたはフラスコに戻し、さらに2日間インキュベートした。5日目に、培地交換のために上記の手順を繰り返した。細胞をさらに2日間さらにインキュベートした。7日目には、未成熟な樹状細胞が観察でき、所望の用途で使用する準備が整う。

10

【0183】

DC活性化アッセイを実施するため、T75フラスコから細胞を含む培地を50mLチューブに取り、500×gで5分間室温で遠心分離する。上清を廃棄し、細胞を3mLのRPMI1640 10%FBS培地に再懸濁した。細胞密度を計数し、細胞濃度を 1×10^6 /mLに調整する。0.05mLの細胞懸濁液を 2.5×10^4 細胞/ウェルで96ウェルプレートに添加した。HuIL-12-P70検出キット(Cisbio、カタログ番号:62HIL12PEH)およびHuIL-8検出キット(Cisbio、カタログ番号:62HIL08PEH)を使用して、24時間後(3日目)に細胞培養上清でIL-8およびIL12P70を検出した。DC活性化アッセイは、FcγR2Bを発現するCHO細胞との共培養でも実施された。

20

【0184】

図5A~5Dに示されるように、試験されたCD40抗体IgG変異体は、抗体インキュベーション後のDC培養物からのIL8の分泌によって証明されるように、様々な程度でヒトCD40活性化を刺激した。DC活性化の大きさは、各抗体アイソタイプ構造のヒンジの柔軟性とDC培養によって発現されるFc受容体との相互作用のために、そこに含まれるFcバリエーションの影響を受けた。

【0185】

CD40活性化に対するFc-FcγRIIB架橋の効果を確認するために、FcγR2B発現CHO細胞との共培養でDC活性化も実施した。微小環境で抗体分子が同時にCD40およびFcγRIIBに結合すると、抗体のCD40アゴニスト効果の変化につながるアビディティ効果により、個々の結合に影響を及ぼす。抗体は、FcγRIIBに対する結合活性と相関する増加した活性を示し、上記のレポーターアッセイでの観察と一致している。したがって、抗体のFc構造は、同じ可変ドメインを持つ抗体の全体的なアゴニスト活性に影響を与える。

30

【0186】

実施例5. IgG変異体のCD40抗体は細胞CD40に対して同様の結合を示す

FACSを使用して、例示的な抗CD40抗体IgGバリエーションの結合特性を評価した。ヒトCD40またはカニクイザルCD40を過剰発現しているCHO細胞を、トリプシン-EDTA部分消化、続いて1000rpmでの5分間の遠心分離を用いて回収した。細胞を冷PBS-BSA(2%)に 5×10^6 /mLで再懸濁し、100μL/チューブに分注した。キメラ抗CD40抗体をPBS-BSAで3倍に希釈し(最終濃度は0.01、0.1、1、および10μg/mL)、各濃度の50μLをCHO-CD40細胞に添加した。細胞溶液を混合し、暗所で4℃で2時間インキュベートした。次に、細胞をPBS-BSAで2回洗浄した。100μL/バイアルの濃度の二次抗体コンジュゲート(ヤギF(ab')₂抗ヒトIgG-Fc(PE)、事前吸着(Abcam#ab98596))を添加し、細胞を混合し、暗所で4℃で1時間インキュベートした。次に、細胞をPBS-BSAで2回洗浄した後、PBS中の2%PFAで固定し、FACS caliberでFACS分析を行った。図6A~6Bに示されるように、これらの抗体は、CHO細胞の表面に発現されたヒトCD40に対して高い結合活性を示した。

40

50

【0187】

実施例6．IgG変異体のCD40抗体は、
インビボでの動物モデルで異なる腫瘍活性を示す

様々なFc変異体を有する例示的な抗CD40抗体をインビボでマウス同系腫瘍モデルで試験して、Fc変異体がこれらの抗体の有効性および毒性にどのように影響を及ぼし得るかを試験した。ヒトCD40細胞外ドメインがノックインしたC57BL/6マウスを使用して、同系のマウス腫瘍モデルを開発した。マウス結腸癌MC38細胞を0日目にホモ接合性ヒトCD40ノックインC57BL/6マウスに皮下移植した。腫瘍サイズが約 $150 \pm 50 \text{ mm}^3$ ($n=6$) のときに、マウスをグループ分けした。CD40抗体は腹腔内注射によって投与され、腫瘍サイズは抗体治療の4～6週間の間に測定された。腫瘍サイズを、キャリバーによって週に2回測定し、 $0.5 \times \text{長さ} \times \text{幅}^2$ の式を使用して腫瘍体積として計算した。抗腫瘍効果は、対照群と抗体治療群の腫瘍サイズの間で評価された。

10

【0188】

図7Aに示されるように、マウスIgG2aDANA (Fcヌル) は、Fab'2誘導性CD40活性化によって引き起こされる参照効力を提供した。ヒトG4m2、G1m2、G2m20およびG2m40は、mIgG2aDANAより優れたまたは同等の有効性を示した。

【0189】

抗体治療後の血清ALTレベルを測定することにより、マウスモデルで抗体誘導性肝毒性の可能性を調べた。ヒトG2は非常に大きなALT上昇を示し、その値はアッセイの上限 ($> 1000 \text{ U/L}$) を超えた。G1m2、G2m20およびG2m40を含む有効なFc変異体は、ALTの上昇が少ないか最小限であった。

20

【0190】

例として、383-G2m20および-G2m40は、架橋がない場合に高いアゴニスト活性を示し、FcγR相互作用でインビボでの有効性を示した (G2m40は結合およびDC活性化アッセイの両方でFcγRヌルである)。さらに、G2m20の残留FcγRIIB結合活性は有効性を高めた。FcバリエーションG2m1およびG2m43は、G2m20およびG2m40と同様のインビトロ活性プロファイルを考えると、同様の有効性を有するが、毒性ウィンドウが改善されると予想される。

【0191】

別の例として、383-G1m2は、架橋がない場合にアゴニスト活性の低下を示した。インビボでの残留FcγRIIB結合活性は、このIgGバリエーションのインビボアゴニスト活性を増強したが、肝臓毒性に対しては最小限であった。FcバリエーションG1mAA、G1N279A、G4m20、G4m30、およびG4m46は、G1m2と同様のインビトロ活性プロファイルを考えると、同様の有効性と毒性ウィンドウを持つと予想される。

30

【0192】

その他の実施形態

本明細書に開示されているすべての特性は、任意の組み合わせで組み合わせることができる。本明細書で開示されている各特性は、同一、同等、または類似の目的を果たす代替特性に置き換えることができる。したがって、特に明記しない限り、開示される各特性は、同等または類似の特性の一般的なシリーズの例にすぎない。

40

【0193】

上記の説明から、当業者は、本開示の本質的な特徴を容易に確認することができ、その精神および範囲から逸脱することなく、開示を様々な使用法および条件に適合させるために様々な変更および修正を行うことができる。したがって、他の実施形態も特許請求の範囲内にある。

【0194】

等価物

いくつかの本発明の実施形態が本明細書に記載および図示されているが、当業者は、機

50

能を実施するため、ならびに／または結果および／もしくは本明細書に記載される1つ以上の利点を得るための様々な他の手段および／または構造を容易に想定し、そのような変形および／または修正のそれぞれは、本明細書に記載される本発明の実施形態の範囲内であるとみなされる。より一般的には、当業者は、本明細書に記載のすべてのパラメータ、寸法、材料、および構成が例示的であることを意味し、実際のパラメータ、寸法、材料、および／または構成が、本発明の教示が用いられる特定の適用または複数の適用に依存することを容易に理解するであろう。当業者は、本明細書に記載の特定の発明の実施形態と等価なものを日常的な実験だけで多く認識し、または確認することができるであろう。したがって、前述の実施形態は例としてのみ提示され、添付の特許請求の範囲およびそれに等価なものの範囲内で、本発明の実施形態は、具体的に記載および請求される以外の方法で実施できることを理解されたい。本開示の本発明の実施形態は、本明細書に記載の個々の特性、システム、物品、材料、キット、および／または方法のそれぞれを対象とする。さらに、そのような特性、システム、物品、材料、キット、および／または方法が相互に矛盾しない場合、そのような特性、システム、物品、材料、キット、および／または方法の2つ以上の任意の組み合わせが、本開示の発明の範囲内に含まれる。

10

【0195】

本明細書で定義および使用されるすべての定義は、辞書の定義、参照により組み込まれる文書内の定義、および／または定義された用語の通常の意味を制御するように理解されるべきである。

【0196】

本明細書に開示されるすべての参考文献、特許、および特許出願は、それぞれが引用される主題に関して参照により組み込まれ、場合によっては、文書全体を包含する場合がある。

20

【0197】

本明細書および特許請求の範囲で本明細書で使用される不定冠詞「a」および「an」は、反対に明確に示されない限り、「少なくとも1つ」を意味すると理解されるべきである。

【0198】

本明細書および特許請求の範囲で本明細書で使用される「および／または」という句は、そのように結合された要素、すなわち、ある場合には結合的に存在し、他の場合には分離的に存在する要素の「いずれかまたは両方」を意味すると理解されるべきである。「および／または」で列挙される複数の要素は、同じ方法で、すなわち、そのように結合された要素の「1つ以上」と解釈されるべきである。「および／または」節によって具体的に識別される要素以外の他の要素は、具体的に同定される要素に関連するか否かにかかわらず、任意選択で存在し得る。したがって、非限定的な例として、「Aおよび／またはB」への言及は、「含む」などの制限のない言語と組み合わせて使用される場合、一実施形態では、Aのみを指し（任意選択で、B以外の要素を含む）、別の実施形態では、Bのみを指し（任意選択でA以外の要素を含む）、さらに別の実施形態では、AおよびBの両方などを指す（任意選択で他の要素を含む）。

30

【0199】

本明細書および特許請求の範囲で使用される場合、「または」は、上記で定義された「および／または」と同じ意味を有すると理解されるべきである。例えば、リスト内の項目を区切る場合、「または」または「および／または」は包括的であると解釈され、すなわち、要素の数またはリスト、および任意選択で追加のリスト項目のうちの少なくとも1つを含むが、2つ以上を含むと解釈される。「ただ1つ」または「正確に1つ」、または特許請求の範囲で使用される場合は「からなる」など、反対に明確に示される用語のみが、要素の数またはリストのうち正確に1個の要素を含むことを指すだろう。一般に、本明細書で使用される「または」という用語は、「いずれか」、「のうちの1つ」、「のうちの1つだけ」、または「のうちの正確に1つ」など、排他性の用語が先行する場合、排他的選択肢を示すもの（すなわち、「両方ではなくどちらか一方」）として解釈されるべきで

40

50

ある。「本質的にからなる」は、特許請求の範囲で 사용되는場合、特許法の分野で 사용되는通常の意味を有するべきである。

【0200】

本明細書の明細書および特許請求の範囲で 사용되는場合、1つ以上の要素のリストに関連する「少なくとも1つ」という句は、要素のリスト内の任意の1つ以上の要素から選択される少なくとも1つの要素を意味すると理解されるべきであるが、要素のリスト内に具体的に列挙されるありとあらゆる要素のうちの少なくとも1つを含む必要はなく、要素のリスト内の要素の任意の組み合わせを除外するものではない。この定義はまた、「少なくとも1つ」という句が言及する要素のリスト内で具体的に同定される要素以外の要素が、具体的に同定される要素に関連するか否かにかかわらず、任意選択で存在し得ることを可能にする。したがって、非限定的な例として、「AおよびBのうちの少なくとも1つ」（または、同等に、「AまたはBのうちの少なくとも1つ」、または同等に「Aおよび／またはBのうちの少なくとも1つ」）は、一実施形態では、少なくとも1つのA（任意選択で2つ以上のAを含む）と、Bが存在しないこと（および任意選択でB以外の要素を含む）、別の実施形態では、少なくとも1つのB（任意選択で2つ以上のBを含む）と、Aが存在しないこと（および任意選択でA以外の要素を含む）、さらに別の実施形態では、少なくとも1つのA（任意選択で2つ以上のAを含む）および少なくとも1つのB（任意選択で2つ以上のBを含む）（および任意選択で他の要素を含む）などについて言及し得る。

【0201】

反対に明確に示されない限り、2つ以上のステップまたは行為を含む本明細書で請求される方法において、本方法のステップまたは行為の順序は、必ずしも、本方法のステップまたは行為が列挙される順序に限定されないことも理解されたい。

10

20

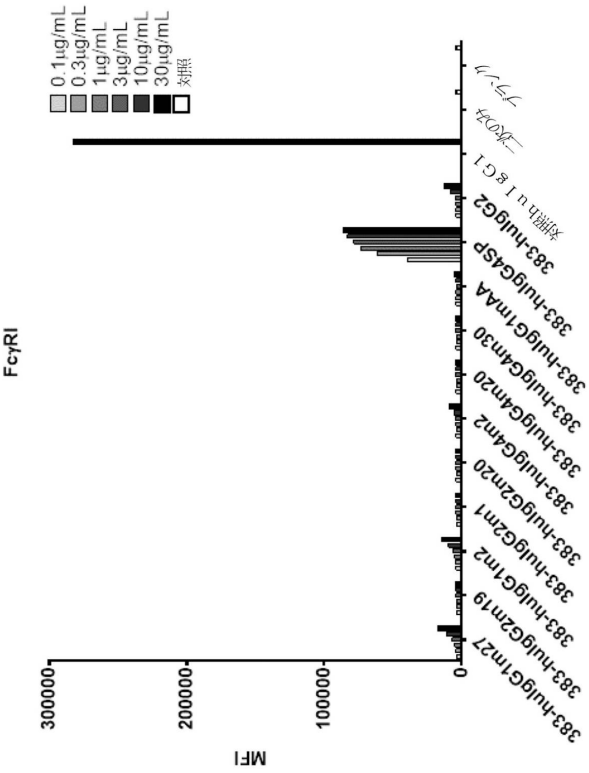
30

40

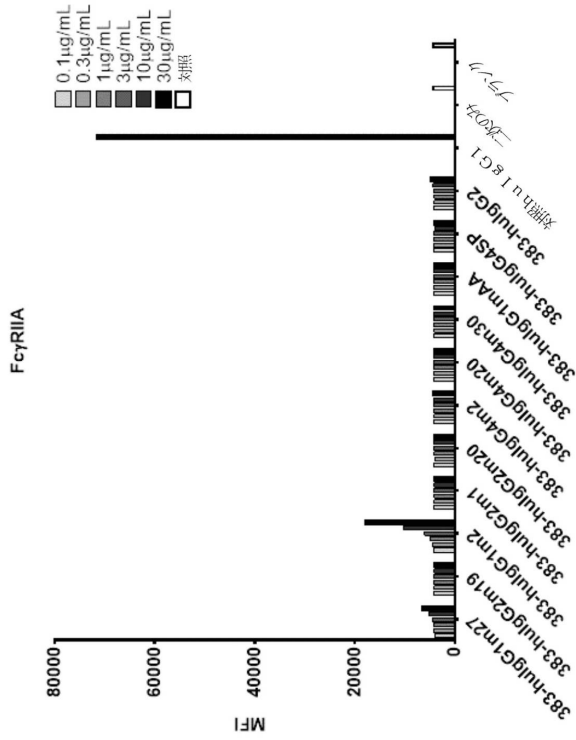
50

【図面】

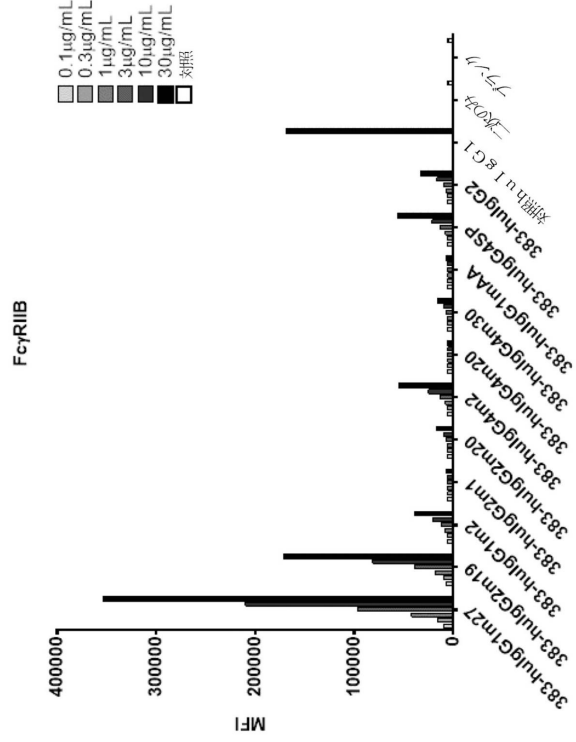
【図 1 A】



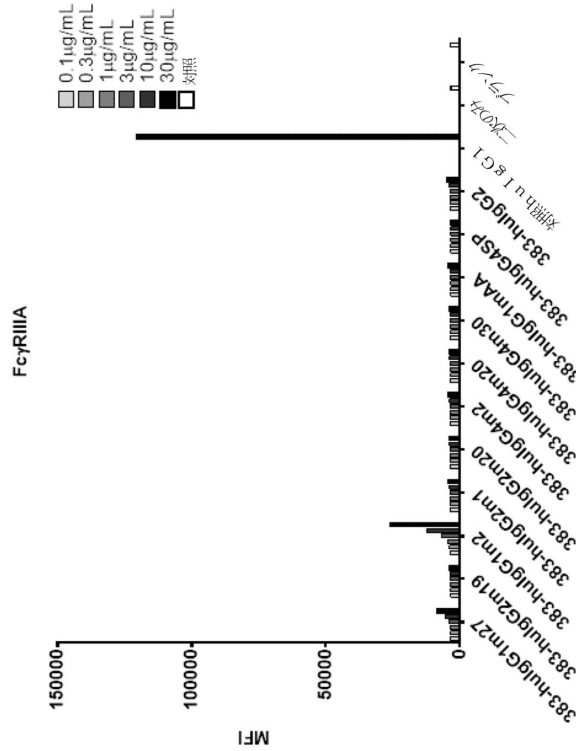
【図 1 B】



【図 1 C】



【図 1 D】



10

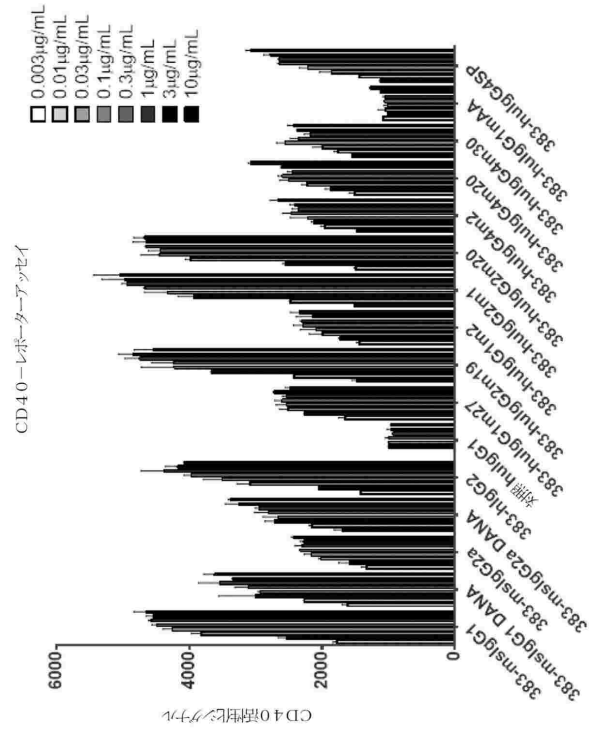
20

30

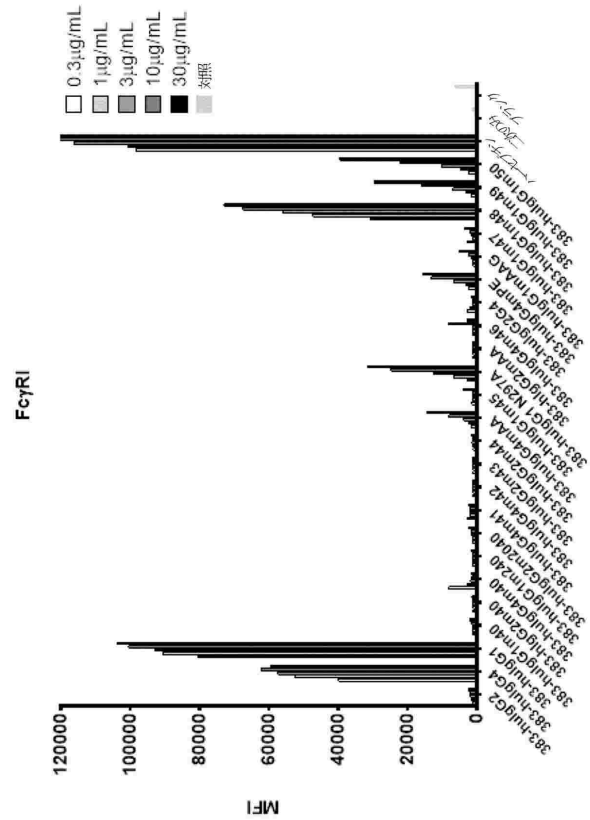
40

50

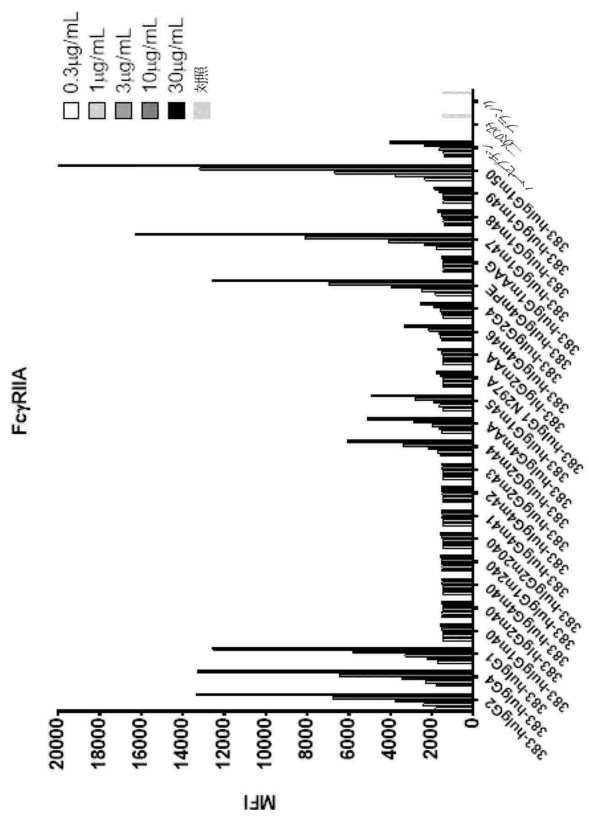
【図 2】



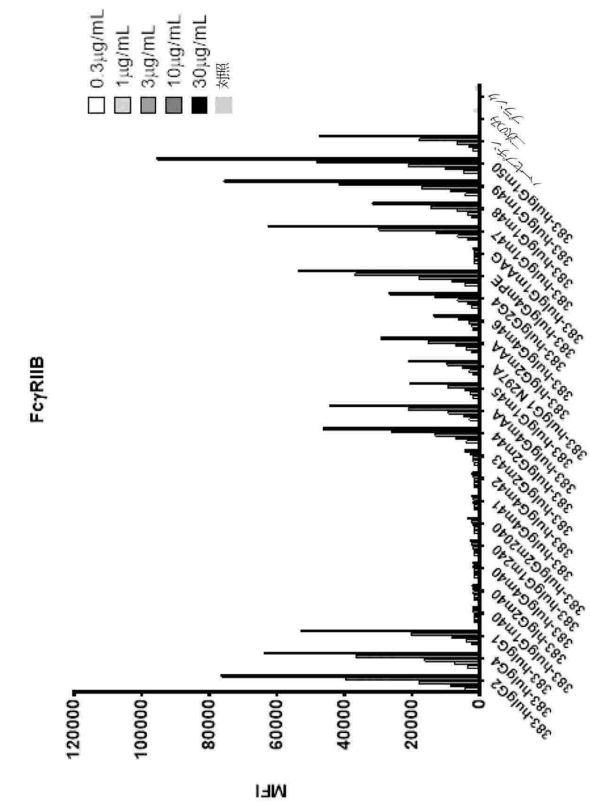
【図 3 A】



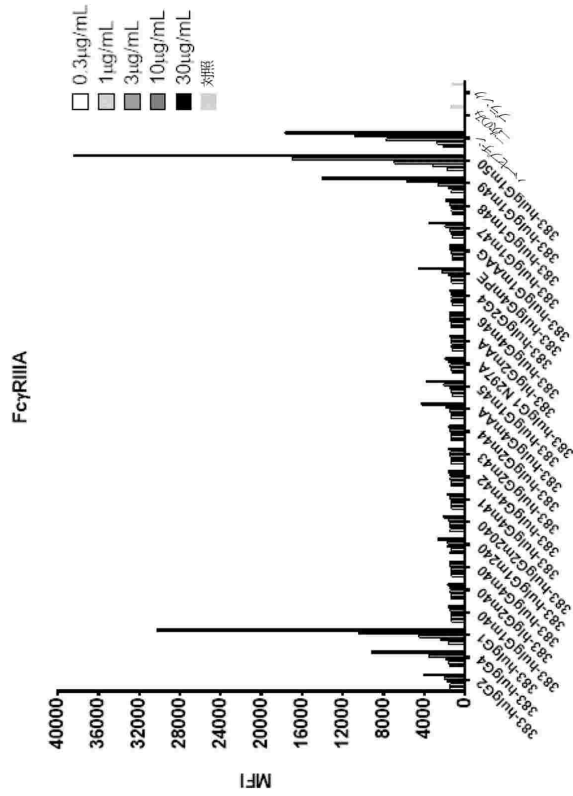
【図 3 B】



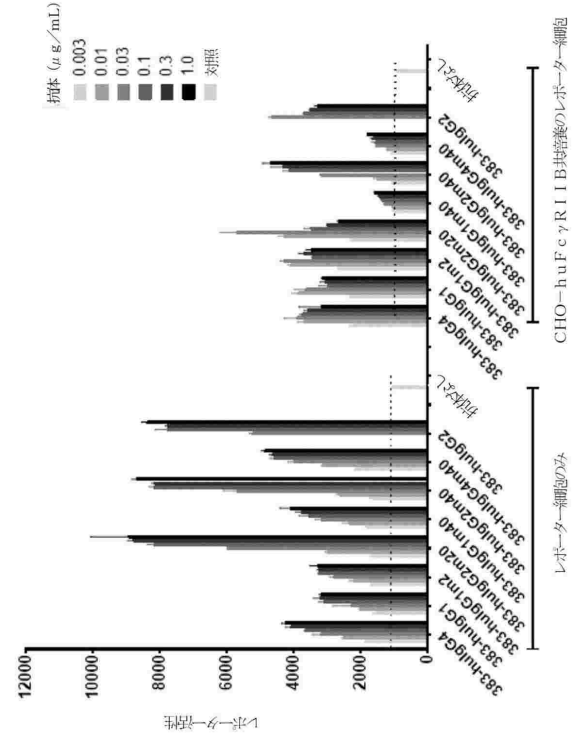
【図 3 C】



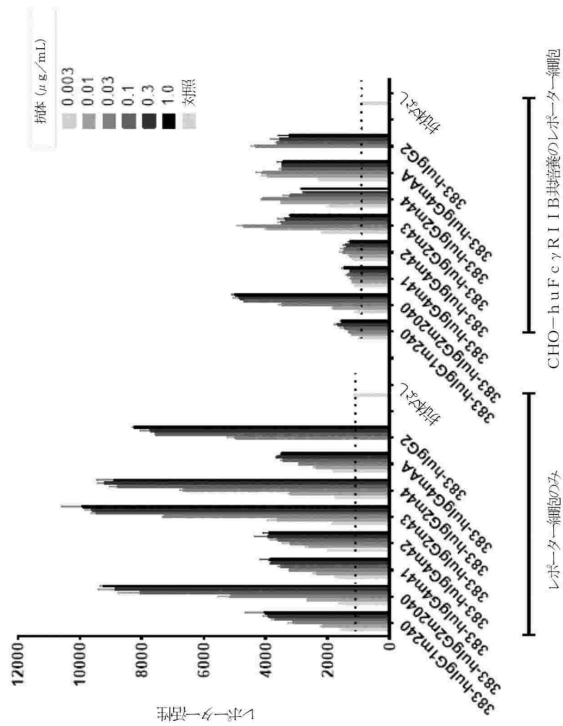
【図 3 D】



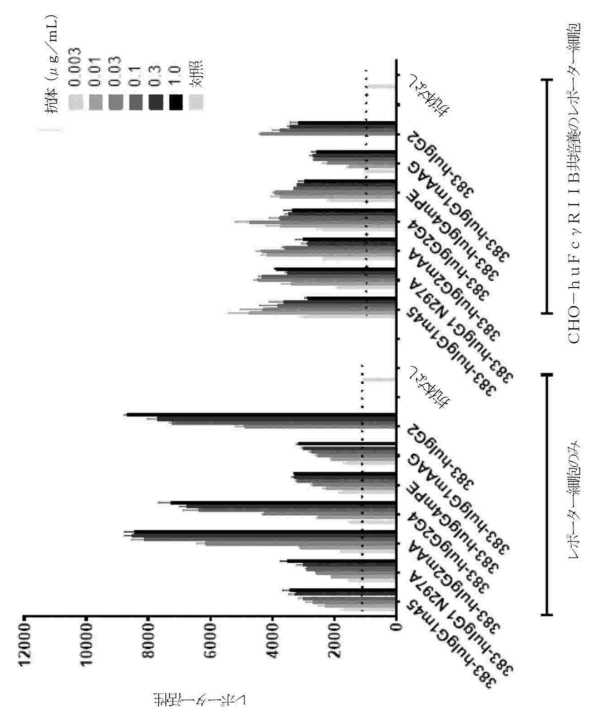
【図 4 A】



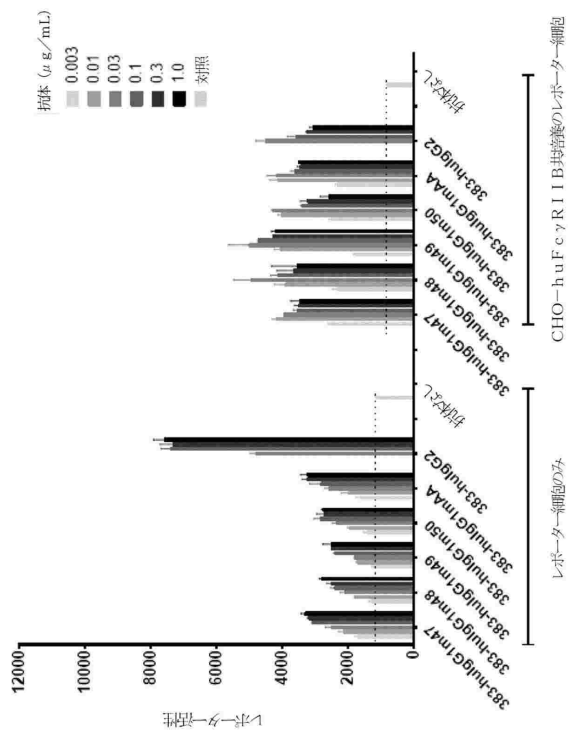
【図 4 B】



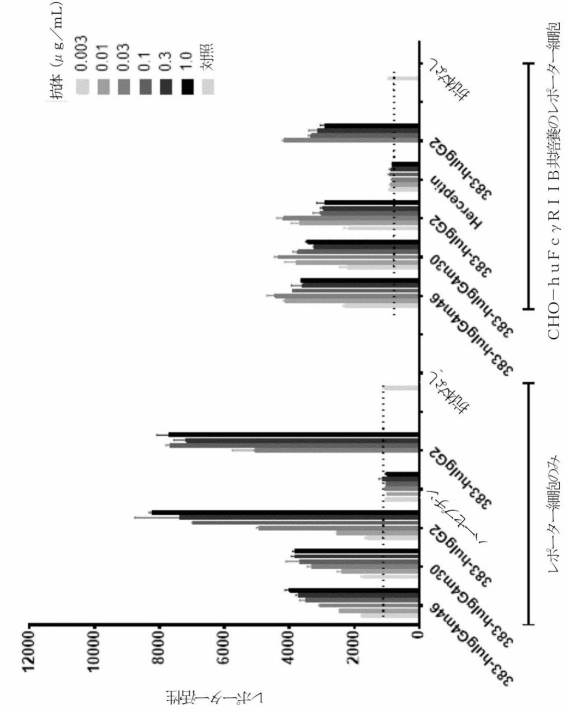
【図 4 C】



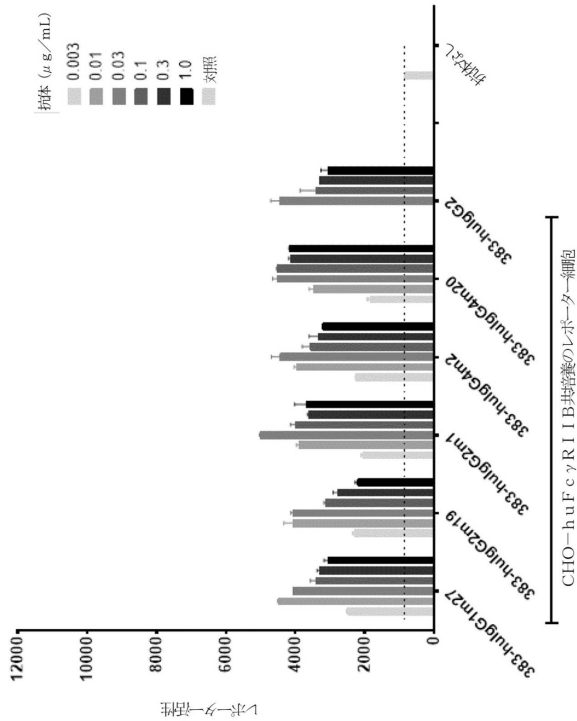
【図 4 D】



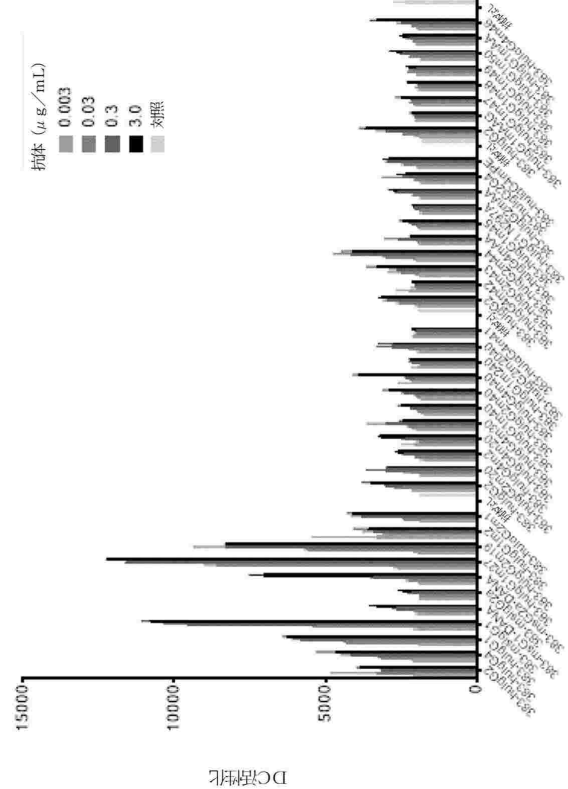
【図 4 E】



【図 4 F】



【図 5 A】



10

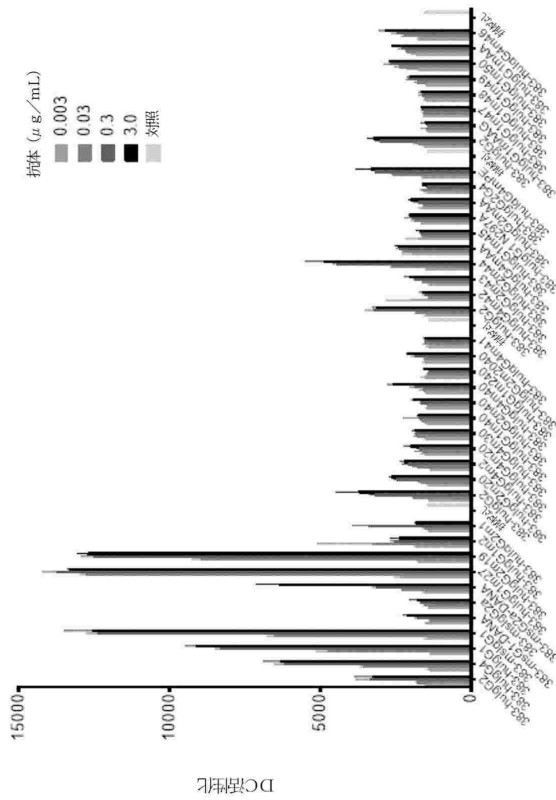
20

30

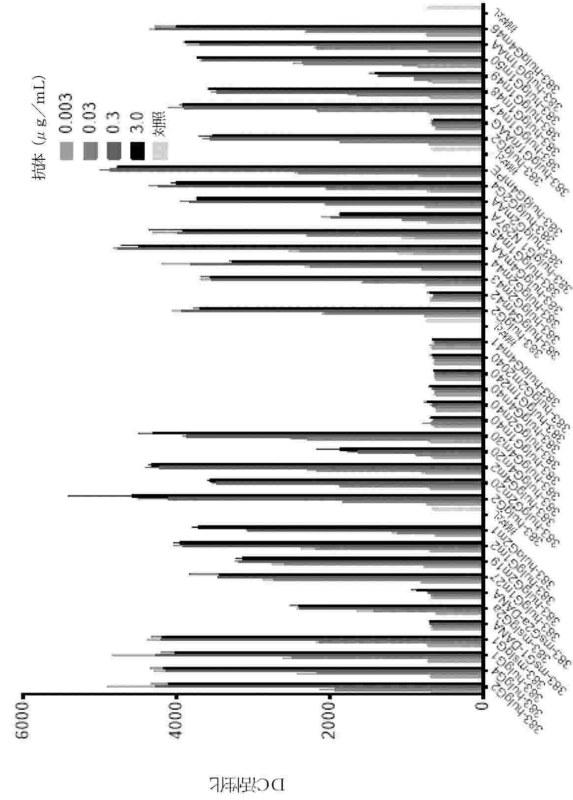
40

50

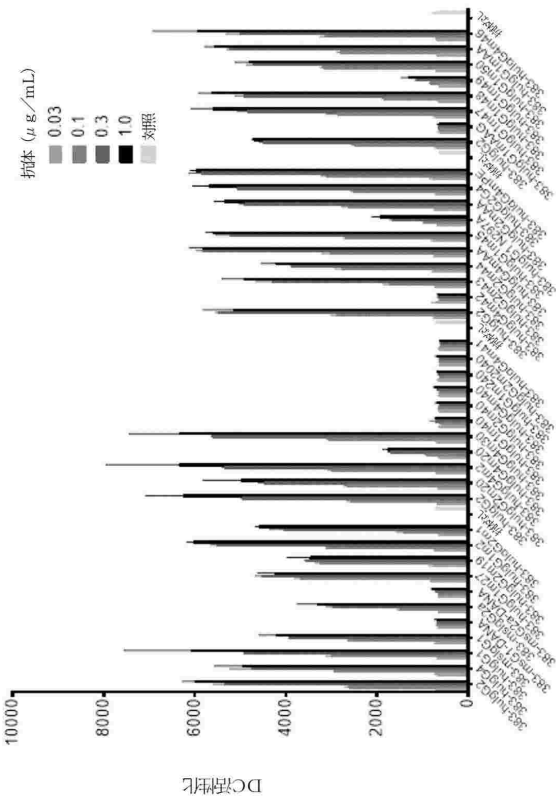
【図 5 B】



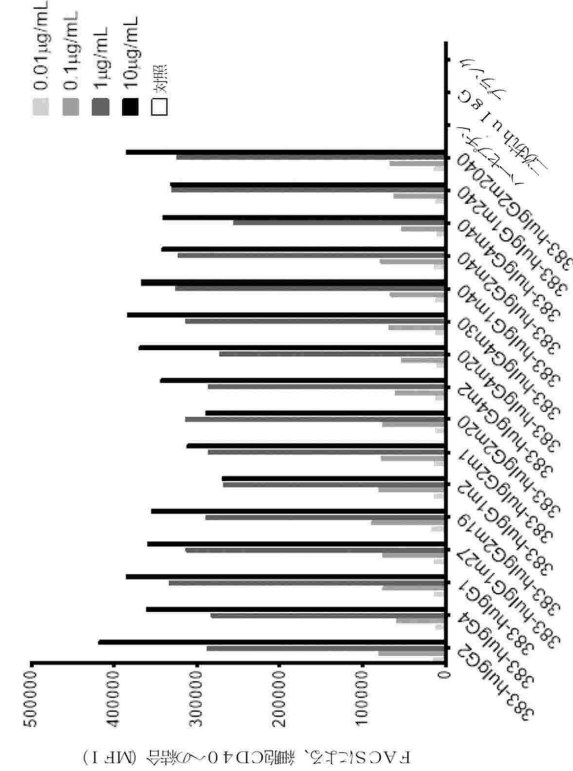
【図 5 C】



【図 5 D】



【図 6 A】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	U
A 6 1 P	3/10 (2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	5/14 (2006.01)	A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	7/00 (2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P	5/14	
A 6 1 P	9/04 (2006.01)	A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P	9/08 (2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	13/12 (2006.01)	A 6 1 P	9/04	
A 6 1 P	17/00 (2006.01)	A 6 1 P	9/08	
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	21/04 (2006.01)	A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	25/02 (2006.01)	A 6 1 P	21/04	
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/02	
A 6 1 P	37/02 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	37/06 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	37/08 (2006.01)	A 6 1 P	37/02	
		A 6 1 P	37/06	
		A 6 1 P	37/08	

弁理士 高橋 香元

(72)発明者

ワン, ジェイ

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94002, ベルモント, 2317 ヘイスティングス ドライブ

(72)発明者

ウー, イー

中華人民共和国, シャンハイ 201203, プードン ジャンジアン ハイ - テク パーク, ビルディング 4, 67 リビン ロード, ルーム207

審査官 岡部 佐知子

(56)参考文献

特表2010-514460 (JP, A)

特表2018-526977 (JP, A)

特表2018-515072 (JP, A)

特開2009-022289 (JP, A)

特表2007-515469 (JP, A)

特表2018-518491 (JP, A)

特表2014-531201 (JP, A)

米国特許出願公開第2017/0253659 (US, A1)

Science, 2011年, Vol. 333, No. 6045, pp. 1030-1034, doi: 10.1126/science.1206954

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 0 7 K

C 1 2 N

A 6 1 K

A 6 1 P

Caplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

UniProt/GeneSeq