

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-535250

(P2019-535250A)

(43) 公表日 令和1年12月12日(2019.12.12)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13 Z N A	4 B 0 6 4
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63 Z	4 B 0 6 5
C O 7 K 16/28 (2006.01)	C O 7 K 16/28	4 C O 7 6
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 C O 8 4
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 C O 8 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 242 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2019-522745 (P2019-522745)	(71) 出願人	509012625
(86) (22) 出願日	平成29年10月27日 (2017.10.27)		ジェネンテック, インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	令和1年6月26日 (2019.6.26)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ ディーエヌエー ウェイ 1
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/058880		
(87) 国際公開番号	W02018/081648	(74) 代理人	110002077
(87) 国際公開日	平成30年5月3日 (2018.5.3)		園田・小林特許業務法人
(31) 優先権主張番号	62/414, 670	(72) 発明者	ロンバナ, トワイラ ノエル
(32) 優先日	平成28年10月29日 (2016.10.29)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 940 80, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1, シー/オー
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		ジェネンテック, インコーポレイテッド
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗M I C抗体及び使用方法

(57) 【要約】

本発明は、抗M I C抗体及びその使用方法を提供する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、及びArg279からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する、前記抗体。

【請求項 2】

前記抗体が、ヒトMICA*008のアミノ酸残基Glu215、His248、及びArg279を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する、請求項1に記載の抗体。

10

【請求項 3】

前記抗体が、ヒトMICA*008のアミノ酸残基Gly243及びArg279を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する、請求項1に記載の抗体。

【請求項 4】

前記抗体が、ヒトMICA*008のアミノ酸残基His248及びArg279を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する、請求項1に記載の抗体。

【請求項 5】

前記抗体が、ヒトMICA*008のアミノ酸残基His248を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する、請求項1に記載の抗体。

【請求項 6】

前記抗体が、ヒトMICA*008のアミノ酸残基Arg279を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する、請求項1に記載の抗体。

20

【請求項 7】

ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の6つの超可変領域（HVR）：

配列番号1のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、
配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、
配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、
配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、
配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、
配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む、前記抗体。

30

【請求項 8】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域（FR）：

配列番号7のアミノ酸配列を含むFR-L1と、
配列番号8のアミノ酸配列を含むFR-L2と、
配列番号9のアミノ酸配列を含むFR-L3と、

配列番号10のアミノ酸配列を含むFR-L4と、をさらに含む、請求項7に記載の抗体。

【請求項 9】

前記抗体が、次の重鎖可変領域FR：

配列番号11のアミノ酸配列を含むFR-H1と、
配列番号12のアミノ酸配列を含むFR-H2と、
配列番号13のアミノ酸配列を含むFR-H3と、

配列番号14のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む、請求項7または8に記載の抗体。

40

【請求項 10】

（a）配列番号15のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、（b）配列番号16のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または（c）（a）にあるとおりのVH配列及び（b）にあるとおりのVL配列を含む、請求項1に記載の抗体。

50

【請求項 1 1】

配列番号 1 5 の V H 配列を含む、請求項 1 0 に記載の抗体。

【請求項 1 2】

配列番号 1 6 の V L 配列を含む、請求項 1 0 に記載の抗体。

【請求項 1 3】

配列番号 1 5 の V H 配列及び配列番号 1 6 の V L 配列を含む、抗体。

【請求項 1 4】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (H V R) :

配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、

10

配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、

配列番号 1 9 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、

配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、

配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、

配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 1 5】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (F R) :

配列番号 2 3 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 と、

配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 と、

配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 と、

20

配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 と、をさらに含む、請求項 1 4 に記載の抗体。

【請求項 1 6】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 F R :

配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 と、

配列番号 2 8 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 と、

配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 と、

配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 と、をさらに含む、請求項 1 4 または 1 5 に記載の抗体。

【請求項 1 7】

30

(a) 配列番号 3 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V H 配列、(b) 配列番号 3 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V L 配列、または (c) (a) にあるとおりの V H 配列及び (b) にあるとおりの V L 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 1 8】

配列番号 3 1 の V H 配列を含む、請求項 1 7 に記載の抗体。

【請求項 1 9】

配列番号 3 2 の V L 配列を含む、請求項 1 7 に記載の抗体。

【請求項 2 0】

配列番号 3 1 の V H 配列及び配列番号 3 2 の V L 配列を含む、抗体。

40

【請求項 2 1】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (H V R) :

配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、

配列番号 3 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、

配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、

配列番号 3 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、

配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、

配列番号 3 8 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 2 2】

50

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域（FR）：

配列番号 39 のアミノ酸配列を含む FR-L 1 と、

配列番号 40 のアミノ酸配列を含む FR-L 2 と、

配列番号 41 のアミノ酸配列を含む FR-L 3 と、

配列番号 42 のアミノ酸配列を含む FR-L 4 と、をさらに含む、請求項 21 に記載の抗体。

【請求項 23】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 FR：

配列番号 43 のアミノ酸配列を含む FR-H 1 と、

配列番号 44 のアミノ酸配列を含む FR-H 2 と、

配列番号 45 のアミノ酸配列を含む FR-H 3 と、

配列番号 46 のアミノ酸配列を含む FR-H 4 と、をさらに含む、請求項 21 または 22 に記載の抗体。

【請求項 24】

（a）配列番号 47 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有する VH 配列、（b）配列番号 48 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有する VL 配列、または（c）（a）にあるとおりの VH 配列及び（b）にあるとおりの VL 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 25】

配列番号 47 の VH 配列を含む、請求項 24 に記載の抗体。

【請求項 26】

配列番号 48 の VL 配列を含む、請求項 24 に記載の抗体。

【請求項 27】

配列番号 47 の VH 配列及び配列番号 48 の VL 配列を含む、抗体。

【請求項 28】

ヒト MICA*008 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域（HVR）：

配列番号 49 のアミノ酸配列を含む HVR-H 1 と、

配列番号 50 のアミノ酸配列を含む HVR-H 2 と、

配列番号 51 のアミノ酸配列を含む HVR-H 3 と、

配列番号 52 のアミノ酸配列を含む HVR-L 1 と、

配列番号 53 のアミノ酸配列を含む HVR-L 2 と、

配列番号 54 のアミノ酸配列を含む HVR-L 3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 29】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域（FR）：

配列番号 55 のアミノ酸配列を含む FR-L 1 と、

配列番号 56 のアミノ酸配列を含む FR-L 2 と、

配列番号 57 のアミノ酸配列を含む FR-L 3 と、

配列番号 58 のアミノ酸配列を含む FR-L 4 と、をさらに含む、請求項 28 に記載の抗体。

【請求項 30】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 FR：

配列番号 59 のアミノ酸配列を含む FR-H 1 と、

配列番号 60 のアミノ酸配列を含む FR-H 2 と、

配列番号 61 のアミノ酸配列を含む FR-H 3 と、

配列番号 62 のアミノ酸配列を含む FR-H 4 と、をさらに含む、請求項 28 または 29 に記載の抗体。

【請求項 31】

（a）配列番号 63 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有する VH 配列、（b）配列番号 64 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有す

10

20

30

40

50

る V L 配列、または (c) (a) にあるとおりの V H 配列及び (b) にあるとおりの V L 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 3 2】

配列番号 6 3 の V H 配列を含む、請求項 3 1 に記載の抗体。

【請求項 3 3】

配列番号 6 4 の V L 配列を含む、請求項 3 1 に記載の抗体。

【請求項 3 4】

配列番号 6 3 の V H 配列及び配列番号 6 4 の V L 配列を含む、抗体。

【請求項 3 5】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (H V R) : 10

配列番号 6 5 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、
配列番号 6 6 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、
配列番号 6 7 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、
配列番号 6 8 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、
配列番号 6 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、
配列番号 7 0 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 3 6】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (F R) :

配列番号 7 1 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 と、 20
配列番号 7 2 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 と、
配列番号 7 3 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 と、
配列番号 7 4 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 と、をさらに含む、請求項 3 5 に記載の抗体。

【請求項 3 7】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 F R :

配列番号 7 5 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 と、
配列番号 7 6 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 と、
配列番号 7 7 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 と、
配列番号 7 8 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 と、をさらに含む、請求項 3 5 または 3 30
6 に記載の抗体。

【請求項 3 8】

(a) 配列番号 7 9 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V H 配列、(b) 配列番号 8 0 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V L 配列、または (c) (a) にあるとおりの V H 配列及び (b) にあるとおりの V L 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 3 9】

配列番号 7 9 の V H 配列を含む、請求項 3 8 に記載の抗体。

【請求項 4 0】

配列番号 8 0 の V L 配列を含む、請求項 3 8 に記載の抗体。 40

【請求項 4 1】

配列番号 7 9 の V H 配列及び配列番号 8 0 の V L 配列を含む、抗体。

【請求項 4 2】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (H V R) :

配列番号 8 1 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、
配列番号 8 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、
配列番号 8 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、
配列番号 8 4 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、
配列番号 8 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、 50

配列番号 86 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 43】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (FR) :

配列番号 87 のアミノ酸配列を含む FR-L1 と、

配列番号 88 のアミノ酸配列を含む FR-L2 と、

配列番号 89 のアミノ酸配列を含む FR-L3 と、

配列番号 90 のアミノ酸配列を含む FR-L4 と、をさらに含む、請求項 42 に記載の抗体。

【請求項 44】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 FR :

配列番号 91 のアミノ酸配列を含む FR-H1 と、

配列番号 92 のアミノ酸配列を含む FR-H2 と、

配列番号 93 のアミノ酸配列を含む FR-H3 と、

配列番号 94 のアミノ酸配列を含む FR-H4 と、をさらに含む、請求項 42 または 43 に記載の抗体。

【請求項 45】

(a) 配列番号 95 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有する VH 配列、(b) 配列番号 96 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有する VL 配列、または (c) (a) にあるとおりの VH 配列及び (b) にあるとおりの VL 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 46】

配列番号 95 の VH 配列を含む、請求項 45 に記載の抗体。

【請求項 47】

配列番号 96 の VL 配列を含む、請求項 45 に記載の抗体。

【請求項 48】

配列番号 95 の VH 配列及び配列番号 96 の VL 配列を含む、抗体。

【請求項 49】

ヒト MICA*008 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (HVR) :

配列番号 97 のアミノ酸配列を含む HVR-H1 と、

配列番号 98 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、

配列番号 99 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、

配列番号 100 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、

配列番号 101 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、

配列番号 102 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 50】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (FR) :

配列番号 103 のアミノ酸配列を含む FR-L1 と、

配列番号 104 のアミノ酸配列を含む FR-L2 と、

配列番号 105 のアミノ酸配列を含む FR-L3 と、

配列番号 106 のアミノ酸配列を含む FR-L4 と、をさらに含む、請求項 49 に記載の抗体。

【請求項 51】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 FR :

配列番号 107 のアミノ酸配列を含む FR-H1 と、

配列番号 108 のアミノ酸配列を含む FR-H2 と、

配列番号 109 のアミノ酸配列を含む FR-H3 と、

配列番号 110 のアミノ酸配列を含む FR-H4 と、をさらに含む、請求項 49 または 50 に記載の抗体。

【請求項 52】

(a) 配列番号 1 1 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V H 配列、(b) 配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V L 配列、または (c) (a) にあるとおりの V H 配列及び (b) にあるとおりの V L 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 5 3】

配列番号 1 1 1 の V H 配列を含む、請求項 5 2 に記載の抗体。

【請求項 5 4】

配列番号 1 1 2 の V L 配列を含む、請求項 5 2 に記載の抗体。

【請求項 5 5】

配列番号 1 1 1 の V H 配列及び配列番号 1 1 2 の V L 配列を含む、抗体。

10

【請求項 5 6】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (H V R) :

配列番号 1 1 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、
配列番号 1 1 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、
配列番号 1 1 5 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、
配列番号 1 1 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、
配列番号 1 1 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、
配列番号 1 1 8 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 5 7】

20

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (F R) :

配列番号 1 1 9 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 と、
配列番号 1 2 0 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 と、
配列番号 1 2 1 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 と、
配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 と、をさらに含む、請求項 5 6 に記載の抗体。

【請求項 5 8】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 F R :

配列番号 1 2 3 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 と、
配列番号 1 2 4 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 と、
配列番号 1 2 5 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 と、
配列番号 1 2 6 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 と、をさらに含む、請求項 5 6 または 5 7 に記載の抗体。

30

【請求項 5 9】

(a) 配列番号 1 2 7 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V H 配列、(b) 配列番号 1 2 8 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V L 配列、または (c) (a) にあるとおりの V H 配列及び (b) にあるとおりの V L 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 6 0】

配列番号 1 2 7 の V H 配列を含む、請求項 5 9 に記載の抗体。

40

【請求項 6 1】

配列番号 1 2 8 の V L 配列を含む、請求項 5 9 に記載の抗体。

【請求項 6 2】

配列番号 1 2 7 の V H 配列及び配列番号 1 2 8 の V L 配列を含む、抗体。

【請求項 6 3】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (H V R) :

配列番号 1 2 9 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、
配列番号 1 3 0 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、
配列番号 1 3 1 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、

50

配列番号 1 3 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、
配列番号 1 3 3 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、
配列番号 1 3 4 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 6 4】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (F R) :

配列番号 1 3 5 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 と、

配列番号 1 3 6 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 と、

配列番号 1 3 7 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 と、

配列番号 1 3 8 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 と、をさらに含む、請求項 6 3 に記載の抗体。

10

【請求項 6 5】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 F R :

配列番号 1 3 9 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 と、

配列番号 1 4 0 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 と、

配列番号 1 4 1 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 と、

配列番号 1 4 2 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 と、をさらに含む、請求項 6 3 または 6 4 に記載の抗体。

【請求項 6 6】

(a) 配列番号 1 4 3 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V H 配列、(b) 配列番号 1 4 4 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V L 配列、または (c) (a) にあるとおりの V H 配列及び (b) にあるとおりの V L 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

20

【請求項 6 7】

配列番号 1 4 3 の V H 配列を含む、請求項 6 6 に記載の抗体。

【請求項 6 8】

配列番号 1 4 4 の V L 配列を含む、請求項 6 6 に記載の抗体。

【請求項 6 9】

配列番号 1 4 3 の V H 配列及び配列番号 1 4 4 の V L 配列を含む、抗体。

【請求項 7 0】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (H V R) :

30

配列番号 1 4 5 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、

配列番号 1 4 6 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、

配列番号 1 4 7 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、

配列番号 1 4 8 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、

配列番号 1 4 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、

配列番号 1 5 0 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 7 1】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (F R) :

配列番号 1 5 1 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 と、

配列番号 1 5 2 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 と、

配列番号 1 5 3 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 と、

配列番号 1 5 4 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 と、をさらに含む、請求項 7 0 に記載の抗体。

40

【請求項 7 2】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 F R :

配列番号 1 5 5 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 と、

配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 と、

配列番号 1 5 7 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 と、

配列番号 1 5 8 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 と、をさらに含む、請求項 7 0 または

50

7 1 に記載の抗体。

【請求項 7 3】

(a) 配列番号 1 5 9 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V H 配列、(b) 配列番号 1 6 0 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V L 配列、または (c) (a) にあるとおりの V H 配列及び (b) にあるとおりの V L 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 7 4】

配列番号 1 5 9 の V H 配列を含む、請求項 7 3 に記載の抗体。

【請求項 7 5】

配列番号 1 6 0 の V L 配列を含む、請求項 7 3 に記載の抗体。

10

【請求項 7 6】

配列番号 1 5 9 の V H 配列及び配列番号 1 6 0 の V L 配列を含む、抗体。

【請求項 7 7】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (H V R) :

配列番号 1 6 1 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、

配列番号 1 6 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、

配列番号 1 6 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、

配列番号 1 6 4 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、

配列番号 1 6 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、

配列番号 1 6 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む、前記抗体。

20

【請求項 7 8】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (F R) :

配列番号 1 6 7 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 と、

配列番号 1 6 8 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 と、

配列番号 1 6 9 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 と、

配列番号 1 7 0 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 と、をさらに含む、請求項 7 7 に記載の抗体。

【請求項 7 9】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 F R :

配列番号 1 7 1 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 と、

配列番号 1 7 2 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 と、

配列番号 1 7 3 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 と、

配列番号 1 7 4 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 と、をさらに含む、請求項 7 7 または 7 8 に記載の抗体。

30

【請求項 8 0】

(a) 配列番号 1 7 5 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V H 配列、(b) 配列番号 1 7 6 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V L 配列、または (c) (a) にあるとおりの V H 配列及び (b) にあるとおりの V L 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

40

【請求項 8 1】

配列番号 1 7 5 の V H 配列を含む、請求項 8 0 に記載の抗体。

【請求項 8 2】

配列番号 1 7 6 の V L 配列を含む、請求項 8 0 に記載の抗体。

【請求項 8 3】

配列番号 1 7 5 の V H 配列及び配列番号 1 7 6 の V L 配列を含む、抗体。

【請求項 8 4】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (H V R) :

配列番号 1 7 7 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、

50

配列番号 178 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、
配列番号 179 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、
配列番号 180 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、
配列番号 181 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、
配列番号 182 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 85】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (FR)：

配列番号 183 のアミノ酸配列を含む FR-L1 と、

配列番号 184 のアミノ酸配列を含む FR-L2 と、

配列番号 185 のアミノ酸配列を含む FR-L3 と、

配列番号 186 のアミノ酸配列を含む FR-L4 と、をさらに含む、請求項 84 に記載の抗体。

【請求項 86】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 FR：

配列番号 187 のアミノ酸配列を含む FR-H1 と、

配列番号 188 のアミノ酸配列を含む FR-H2 と、

配列番号 189 のアミノ酸配列を含む FR-H3 と、

配列番号 190 のアミノ酸配列を含む FR-H4 と、をさらに含む、請求項 84 または 85 に記載の抗体。

【請求項 87】

(a) 配列番号 191 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有する VH 配列、(b) 配列番号 192 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有する VL 配列、または (c) (a) にあるとおりの VH 配列及び (b) にあるとおりの VL 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 88】

配列番号 191 の VH 配列を含む、請求項 87 に記載の抗体。

【請求項 89】

配列番号 192 の VL 配列を含む、請求項 87 に記載の抗体。

【請求項 90】

配列番号 191 の VH 配列及び配列番号 192 の VL 配列を含む、抗体。

【請求項 91】

前記抗体が、約 100 nM 以下の Kd でヒト MICA に結合する、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 92】

前記抗体が、ヒト MICA*002、ヒト MICA*004、及びヒト MICB*005 に結合することができる、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 93】

前記抗体が、ヒト MICA*008、ヒト MICA*002、ヒト MICA*004、ヒト MICA*008、及びヒト MICB*005 の細胞外ドメインに結合することができる、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 94】

前記抗体が、ヒト MICA*008、ヒト MICA*002、ヒト MICA*004、及びヒト MICB*005 のアルファ 3 ドメインに結合することができる、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 95】

前記抗体が、モノクローナルである、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 96】

前記抗体が、ヒト、ヒト化、またはキメラである、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 97】

10

20

30

40

50

前記フレームワーク配列の少なくとも一部分が、ヒトコンセンサスフレームワーク配列である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 98】

前記抗体が、全長抗体である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 99】

前記抗体が、ヒト M I C A * 0 0 8 に結合する抗体断片である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 100】

前記抗体断片が、F a b、F a b'、F a b' - S H、F v、一本鎖可変断片 (s c F V)、及び (F a b')₂ 断片からなる群から選択される、請求項 99 に記載の抗体。

10

【請求項 101】

前記抗体が、I g G クラス抗体である、先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 102】

前記 I g G クラス抗体が、I g G 1 サブクラス抗体である、請求項 101 に記載の抗体。

【請求項 103】

先行請求項のいずれか 1 項に記載の抗体をコードする、単離核酸。

【請求項 104】

請求項 103 に記載の核酸を含む、ベクター。

【請求項 105】

20

請求項 104 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 106】

前記宿主細胞が、原核性である、請求項 105 に記載の宿主細胞。

【請求項 107】

前記宿主細胞が、E s c h e r i c h i a c o l i である、請求項 106 に記載の宿主細胞。

【請求項 108】

前記宿主細胞が、真核性である、請求項 105 に記載の宿主細胞。

【請求項 109】

前記宿主細胞が、293 細胞、C H O 細胞、酵母細胞、または植物細胞である、請求項 108 に記載の宿主細胞。

30

【請求項 110】

請求項 105 ~ 109 のいずれかに記載の宿主細胞を培養培地で培養することを含む、請求項 1 ~ 102 のいずれか 1 項に記載の抗体の産生方法。

【請求項 111】

前記方法が、前記宿主細胞または培養培地から前記抗体を回収することをさらに含む、請求項 110 に記載の方法。

【請求項 112】

請求項 1 ~ 102 のいずれか 1 項に記載の抗体と、細胞傷害性薬剤と、を含む、免疫抱合体。

40

【請求項 113】

請求項 1 ~ 102 のいずれか 1 項に記載の抗体を含む、組成物。

【請求項 114】

薬学的に許容される担体、賦形剤、または希釈剤をさらに含む、請求項 113 に記載の組成物。

【請求項 115】

前記組成物が、薬学的組成物である、請求項 114 に記載の組成物。

【請求項 116】

前記組成物が、P D - 1 軸結合アンタゴニストまたは追加の治療剤をさらに含む、請求項 113 ~ 115 のいずれか 1 項に記載の組成物。

50

【請求項 1 1 7】

M I C のシェディングの低減に使用するための、請求項 1 ～ 1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 1 1 8】

可溶性 M I C のレベルの低減に使用するための、請求項 1 ～ 1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 1 1 9】

M I C のシェディングの低減及び可溶性 M I C のレベルの低減に使用するための、請求項 1 ～ 1 0 2 のいずれかに記載の抗体。

【請求項 1 2 0】

医薬品として使用するための、請求項 1 ～ 1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 1 2 1】

がんの治療またはその進行の遅延を、それを必要とする対象において行うことに使用するための、請求項 1 ～ 1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 1 2 2】

前記がんが、上皮癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、黒色腫、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、膠芽腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌、及び他の血液系悪性腫瘍からなる群から選択される、請求項 1 2 1 に記載の抗体。

【請求項 1 2 3】

免疫関連疾患の治療またはその進行の遅延を、それを必要とする対象において行うことに使用するための、請求項 1 ～ 1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 1 2 4】

前記免疫関連疾患が、N K G 2 D リガンドと関連している、請求項 1 2 3 に記載の抗体。

【請求項 1 2 5】

前記 N K G 2 D リガンドが、M I C である、請求項 1 2 4 に記載の抗体。

【請求項 1 2 6】

前記免疫関連疾患が、消散していない急性感染、慢性感染、及び腫瘍免疫からなる群から選択される、請求項 1 2 3 ～ 1 2 5 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 1 2 7】

免疫応答または機能の増加、増強、または刺激を、それを必要とする対象において行うことに使用するための、請求項 1 ～ 1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 1 2 8】

M I C のシェディングを低減するための医薬品の製造における、請求項 1 ～ 1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体の使用。

【請求項 1 2 9】

可溶性 M I C のレベルを低減するための医薬品の製造における、請求項 1 ～ 1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体の使用。

【請求項 1 3 0】

M I C のシェディング及び可溶性 M I C のレベルを低減するための医薬品の製造における、請求項 1 ～ 1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体の使用。

【請求項 1 3 1】

がんの治療またはその進行の遅延を、それを必要とする対象において行うための医薬品の製造における、請求項 1 ～ 1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体の使用。

【請求項 1 3 2】

前記がんが、上皮癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、黒色腫、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、膠芽腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌、及び他の血液系悪性腫瘍からなる群から選択される、請求項 1 3 1 に記載の使用。

10

20

30

40

50

【請求項 1 3 3】

免疫関連疾患の治療またはその進行の遅延を、それを必要とする対象において行うための医薬品の製造における、請求項 1～1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体の使用。

【請求項 1 3 4】

前記免疫関連疾患が、NKG2D リガンドと関連している、請求項 1 3 3 に記載の使用。

【請求項 1 3 5】

前記 NKG2D リガンドが、MIC である、請求項 1 3 4 に記載の使用。

【請求項 1 3 6】

前記免疫関連疾患が、消散していない急性感染、慢性感染、及び腫瘍免疫からなる群から選択される、請求項 1 3 3～1 3 5 のいずれか 1 項に記載の使用。 10

【請求項 1 3 7】

免疫応答または機能の増加、増強、または刺激を、それを必要とする対象において行うための医薬品の製造における、請求項 1～1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体の使用。

【請求項 1 3 8】

個体において MIC のシェディングを低減する方法であって、前記個体に有効量の請求項 1～1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体を投与して、MIC のシェディングを低減することを含む、前記方法。

【請求項 1 3 9】

個体において可溶性 MIC のレベルを低減する方法であって、前記個体に有効量の請求項 1～1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体を投与して、可溶性 MIC のレベルを低減することを含む、前記方法。 20

【請求項 1 4 0】

個体において MIC のシェディングを低減し、可溶性 MIC のレベルを低減する方法であって、前記個体に有効量の請求項 1～1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体を投与して、MIC のシェディング及び可溶性 MIC のレベルを低減することを含む、前記方法。

【請求項 1 4 1】

対象においてがんを治療またはその進行を遅延するための方法であって、前記対象に有効量の請求項 1～1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体を投与し、これによって前記対象において前記がんを治療またはその進行を遅延することを含む、前記方法。 30

【請求項 1 4 2】

前記がんが、上皮癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、黒色腫、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、膠芽腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌、及び他の血液系悪性腫瘍からなる群から選択される、請求項 1 4 1 に記載の方法。

【請求項 1 4 3】

対象において免疫関連疾患を治療またはその進行を遅延するための方法であって、前記対象に有効量の請求項 1～1 0 2 のいずれか 1 項に記載の抗体を投与し、これによって前記対象において前記免疫関連疾患を治療またはその進行を遅延することを含む、前記方法。 40

【請求項 1 4 4】

前記免疫関連疾患が、NKG2D リガンドと関連している、請求項 1 4 3 に記載の方法。

【請求項 1 4 5】

前記 NKG2D リガンドが、MIC である、請求項 1 4 4 に記載の方法。

【請求項 1 4 6】

前記免疫関連疾患が、消散していない急性感染、慢性感染、及び腫瘍免疫からなる群から選択される、請求項 1 4 3～1 4 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 4 7】

対象において免疫応答または機能を増加、増強、または刺激する方法であって、前記対 50

象に有効量の請求項 1～102 のいずれか 1 項に記載の抗体を投与し、これによって前記対象において免疫応答または機能を増加、増強、または刺激することを含む、前記方法。

【請求項 148】

前記対象に PD-1 軸結合アンタゴニストを投与することをさらに含む、請求項 138～147 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 149】

前記 PD-1 軸結合アンタゴニストが、前記抗体の前記投与の前または後に投与される、請求項 148 に記載の方法。

【請求項 150】

前記 PD-1 軸結合アンタゴニストが、前記抗体と同時に投与される、請求項 148 に記載の方法。 10

【請求項 151】

前記 PD-1 軸結合アンタゴニストが、PD-1 結合アンタゴニスト、PD-L1 結合アンタゴニスト、及び PD-L2 結合アンタゴニストからなる群から選択される、請求項 148～150 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 152】

前記 PD-1 軸結合アンタゴニストが、PD-1 結合アンタゴニストである、請求項 151 に記載の方法。

【請求項 153】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、PD-1 の、そのリガンド結合パートナーへの結合を阻害する、請求項 152 に記載の方法。 20

【請求項 154】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、PD-1 の PD-L1 への結合を阻害する、請求項 153 に記載の方法。

【請求項 155】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、PD-1 の PD-L2 への結合を阻害する、請求項 153 に記載の方法。

【請求項 156】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、PD-1 の、PD-L1 及び PD-L2 の両方への結合を阻害する、請求項 153 に記載の方法。 30

【請求項 157】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、抗 PD-1 抗体である、請求項 152～156 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 158】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、MDX1106（ニボルマブ）、MK-3475（ペンブロリズマブ）、CT-011（ビジリズマブ）、MED1-0680（AMP-514）、PDR001、REGN2810、BGB-108、及び BGB-A317 からなる群から選択される、請求項 153 に記載の方法。

【請求項 159】

前記 PD-1 軸結合アンタゴニストが、PD-L1 結合アンタゴニストである、請求項 151 に記載の方法。 40

【請求項 160】

前記 PD-L1 結合アンタゴニストが、PD-L1 の PD-1 への結合を阻害する、請求項 159 に記載の方法。

【請求項 161】

前記 PD-L1 結合アンタゴニストが、PD-L1 の B7-1 への結合を阻害する、請求項 159 に記載の方法。

【請求項 162】

前記 PD-L1 結合アンタゴニストが、PD-L1 の、PD-1 及び B7-1 の両方への結合を阻害する、請求項 159 に記載の方法。 50

【請求項 163】

前記PD-L1結合アンタゴニストが、抗PD-L1抗体である、請求項159～162に記載の方法。

【請求項 164】

前記抗PD-L1抗体が、MPDL3280A（アテゾリズマブ）、YW243.55.S70、MDX-1105、MED14736（デュルバルマブ）、及びMSB0010718C（アベルマブ）からなる群から選択される、請求項163に記載の方法。

【請求項 165】

前記抗体が、MPDL3280Aである、請求項164に記載の方法。

【請求項 166】

前記PD-1軸結合アンタゴニストが、PD-L2結合アンタゴニストである、請求項151に記載の方法。

【請求項 167】

前記PD-L2結合アンタゴニストが、抗PD-L2抗体である、請求項166に記載の方法。

【請求項 168】

前記PD-L2結合アンタゴニストが、イムノアドヘシンである、請求項166に記載の方法。

【請求項 169】

1つ以上の追加の阻害性共刺激受容体を減少または阻害する薬剤を前記対象に投与することをさらに含む、請求項138～168のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 170】

前記1つ以上の追加の阻害性共刺激受容体が、PD-1、CTLA-4、LAG3、TIM3、BTLA、VISTA、B7H4、及びMMからなる群から選択される、請求項169に記載の方法。

【請求項 171】

前記対象に追加の治療剤を投与することをさらに含む、請求項138～170のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 172】

前記追加の治療剤が、化学療法剤である、請求項171に記載の方法。

【請求項 173】

前記抗体が、非経口、肺内、鼻腔内、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与される、請求項138～172のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 174】

前記対象が、ヒトである、請求項138～173のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 175】

請求項1～102のいずれか1項に記載の抗体と、前記抗体を対象におけるがんの治療またはその進行の遅延に使用するための説明書を含む添付文書と、を含む、キット。

【請求項 176】

請求項1～102のいずれか1項に記載の抗体と、前記抗体を対象における免疫関連疾患の治療またはその進行の遅延に使用するための説明書を含む添付文書と、を含む、キット。

【請求項 177】

請求項1～102のいずれか1項に記載の抗体と、対象における免疫応答または機能を増加、増強、または刺激するための説明書を含む添付文書と、を含む、キット。

【請求項 178】

前記対象が、ヒトである、請求項175～177のいずれか1項に記載のキット。

【請求項 179】

抗体のエピトープをマッピングする方法であって、ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換して置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドを生成するこ

10

20

30

40

50

とと、前記抗体が前記グリコシル化ポリペプチドに結合するかを決定することと、前記抗体の、前記グリコシル化ポリペプチドへの結合が、前記抗体の、前記置換グリコシル化アミノ酸を含まない前記ポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、前記非グリコシル化アミノ酸または前記非グリコシル化アミノ酸の5オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも1つを前記エピトープの一部として特定することと、を含む、前記方法。

【請求項180】

抗体のエピトープをマッピングする方法であって、ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換して置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドを生成することと、前記抗体が前記グリコシル化ポリペプチドに結合するかを決定することと、を含み、前記抗体の、前記グリコシル化ポリペプチドへの結合が、前記抗体の、前記置換グリコシル化アミノ酸を含まない前記ポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、前記非グリコシル化アミノ酸または前記非グリコシル化アミノ酸の5オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも1つが、前記エピトープの一部として特定される、前記方法。

10

【請求項181】

抗体のエピトープをマッピングする方法であって、前記抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドへの結合が、前記抗体の、前記置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、非グリコシル化アミノ酸または前記非グリコシル化アミノ酸の5オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも1つを前記エピトープの一部として特定することを含み、前記グリコシル化ポリペプチドが、前記ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換することによって生成される、前記方法。

20

【請求項182】

ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換することが、前記ポリペプチドにグリコシル化部位を導入することを含む、請求項179～181のいずれかに記載の方法。

【請求項183】

前記エピトープが、立体構造エピトープである、請求項179～182のいずれかに記載の方法。

【請求項184】

前記非グリコシル化アミノ酸が、前記置換グリコシル化アミノ酸を含まない前記ポリペプチドの表面上にある、請求項179～183のいずれかに記載の方法。

30

【請求項185】

前記置換グリコシル化アミノ酸が、N結合グリカンを含む、請求項179～184のいずれかに記載の方法。

【請求項186】

前記ポリペプチドが、Fcドメインを含む、請求項179～185のいずれかに記載の方法。

【請求項187】

抗体の前記グリコシル化ポリペプチドへの結合が、ELISAによって検出される、請求項179～186のいずれかに記載の方法。

40

【請求項188】

前記抗体の前記グリコシル化ポリペプチドへの結合が、前記抗体の、前記置換グリコシル化アミノ酸を含まない前記ポリペプチドへの結合と比較して少なくとも50%低減する、請求項179～187のいずれかに記載の方法。

【請求項189】

抗体をビンニングするための方法であって、第1の抗体のエピトープを請求項179～188のいずれかに記載の方法によってマッピングすることと、第2の抗体のエピトープを請求項179～188のいずれかに記載の方法によってマッピングすることと、前記第1の抗体及び前記第2の抗体が、同じエピトープを有する場合、同じビンにあることを決定

50

することと、を含む、前記方法。

【請求項 190】

抗体の接触アミノ酸を特定するための方法であって、ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換して置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドを生成することと、前記抗体が前記グリコシル化ポリペプチドに結合するかを決定することと、前記抗体の前記グリコシル化ポリペプチドへの結合が、前記抗体の、前記置換グリコシル化アミノ酸を含まない前記ポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、前記非グリコシル化アミノ酸または前記非グリコシル化アミノ酸の 5 オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも 1 つを、前記抗体の前記接触アミノ酸のうちの 1 つとして特定することと、を含む、前記方法。

10

【請求項 191】

抗体の前記接触アミノ酸を特定するための方法であって、ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換して置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドを生成することと、前記抗体が前記グリコシル化ポリペプチドに結合するかを決定することと、を含む、前記抗体の前記グリコシル化ポリペプチドへの結合が、前記抗体の、前記置換グリコシル化アミノ酸を含まない前記ポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、前記非グリコシル化アミノ酸または前記非グリコシル化アミノ酸の 5 オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも 1 つが、前記抗体の前記接触アミノ酸のうちの 1 つとして特定される、前記方法。

20

【請求項 192】

抗体の前記接触アミノ酸を特定するための方法であって、前記抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドへの結合が、前記抗体の、前記置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、非グリコシル化アミノ酸または前記非グリコシル化アミノ酸の 5 オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも 1 つを前記抗体の前記接触アミノ酸のうちの 1 つとして特定することを含み、前記グリコシル化ポリペプチドが、前記ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換することによって生成される、前記方法。

【請求項 193】

前記エピトープが、請求項 179～188 のいずれか 1 項に記載の方法によってマッピングされる、請求項 1～102 のいずれか 1 項に記載の抗体。

30

【請求項 194】

前記接触アミノ酸残基が、請求項 190～192 のいずれか 1 項に記載の方法によって特定される、請求項 1～102 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 195】

ヒト MICA*008 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、ヒト MICA*008 の Glu215、Gly243、His248、Arg279、Arg213、Ser214、Ala216、Ser217、Asn220、Arg271、Arg240、Gln241、Asp242、Val244、Ser245、Thr281、Ser247、Asp249、Thr250、Trp253、Glu276、Glu277、及び Gln278 からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸残基を含むヒト MICA*008 上のエピトープに結合する、前記抗体。

40

【請求項 196】

前記抗体が、第 1 のアミノ酸残基、第 2 のアミノ酸残基、及び第 3 のアミノ酸残基を含むヒト MICA*008 上のエピトープに結合し、前記第 1 のアミノ酸残基が、ヒト MICA*008 の Glu215、Arg213、Ser214、Ala216、Ser217、Asn220、及び Arg271 からなる群から選択され、前記第 2 のアミノ酸残基が、ヒト MICA*008 の His248、Ser247、Asp249、Thr250、及び Trp253 からなる群から選択され、前記第 3 のアミノ酸残基が、ヒト MICA*008 の Arg279、Arg240、Gln241、Asp242、Gly243、Glu276、Glu277、Gln278、及び Thr281 からなる群から選択され

50

る、請求項 195 に記載の抗体。

【請求項 197】

前記抗体が、第 1 のアミノ酸残基及び第 2 のアミノ酸残基を含むヒト MICA*008 上のエピトープに結合し、前記第 1 のアミノ酸残基が、ヒト MICA*008 の Gly 243、Arg 240、Gln 241、Asp 242、Val 244、Ser 245、Arg 279、及び Thr 281 からなる群から選択され、前記第 2 のアミノ酸残基が、ヒト MICA*008 の Arg 279、Arg 240、Gln 241、Asp 242、Gly 243、Glu 276、Glu 277、Gln 278、及び Thr 281 からなる群から選択される、請求項 195 に記載の抗体。

【請求項 198】

前記抗体が、第 1 のアミノ酸残基及び第 2 のアミノ酸残基を含むヒト MICA*008 上のエピトープに結合し、前記第 1 のアミノ酸残基が、ヒト MICA*008 の His 248、Ser 247、Asp 249、Thr 250、または Trp 253 からなる群から選択され、前記第 2 のアミノ酸残基が、ヒト MICA*008 のヒト MICA*008 の Arg 279、Arg 240、Gln 241、Asp 242、Gly 243、Glu 276、Glu 277、Gln 278、及び Thr 281 からなる群から選択される、請求項 195 に記載の抗体。

【請求項 199】

前記抗体が、ヒト MICA*008 の His 248、Ser 247、Asp 249、Thr 250、及び Trp 253 からなる群から選択されるアミノ酸残基を含むヒト MICA*008 上のエピトープに結合する、請求項 195 に記載の抗体。

【請求項 200】

前記抗体が、ヒト MICA*008 の Arg 279、Arg 240、Gln 241、Asp 242、Gly 243、Glu 276、Glu 277、Gln 278、及び Thr 281 からなる群から選択されるアミノ酸残基を含むヒト MICA*008 上のエピトープに結合する、請求項 195 に記載の抗体。

【請求項 201】

前記エピトープが、線状エピトープである、請求項 179～182 のいずれかに記載の方法。

【請求項 202】

ヒト MICA*008 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、ヒト MICA*008 のアミノ酸残基 Gly 243 を含むヒト MICA*008 上のエピトープに結合する、前記抗体。

【請求項 203】

前記抗体が、ヒト MICA*008 のアミノ酸残基 Gly 243 及び Arg 279 を含むヒト MICA*008 上のエピトープに結合する、請求項 202 に記載の抗体。

【請求項 204】

ヒト MICA*008 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域（HVR）：

配列番号 209 のアミノ酸配列を含む HVR-H1 と、

配列番号 210、配列番号 215、配列番号 216、及び配列番号 217 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、

配列番号 211 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、

配列番号 212 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、

配列番号 213 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、

配列番号 214 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 205】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域（FR）：

配列番号 248、配列番号 252、配列番号 258、配列番号 261、及び配列番号 266 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-L1 と、

配列番号 249、配列番号 253、配列番号 256、配列番号 259、配列番号 262、及び配列番号 264 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-L2 と、

配列番号 250、配列番号 254、配列番号 257、配列番号 260、配列番号 263、配列番号 265、及び配列番号 267 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-L3 と、

配列番号 251 または配列番号 255 のアミノ酸配列を含む FR-L4 と、をさらに含む、請求項 204 に記載の抗体。

【請求項 206】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 FR：

配列番号 295、配列番号 299、及び配列番号 303 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-H1 と、

配列番号 296、配列番号 300、及び配列番号 304 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-H2 と、

配列番号 297、配列番号 301、配列番号 305、配列番号 306、配列番号 307、配列番号 308、配列番号 309、配列番号 310、配列番号 311、配列番号 312、配列番号 313、及び配列番号 314 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-H3 と、

配列番号 298 または配列番号 302 のアミノ酸配列を含む FR-H4 と、をさらに含む、請求項 204 または 205 に記載の抗体。

【請求項 207】

(a) 配列番号 369 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有する VH 配列、(b) 配列番号 370 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有する VL 配列、または (c) (a) にあるとおりの VH 配列及び (b) にあるとおりの VL 配列を含む、請求項 202 に記載の抗体。

【請求項 208】

配列番号 369 の VH 配列を含む、請求項 207 に記載の抗体。

【請求項 209】

配列番号 370 の VL 配列を含む、請求項 207 に記載の抗体。

【請求項 210】

配列番号 369 の VH 配列及び配列番号 370 の VL 配列を含む、抗体。

【請求項 211】

ヒト MICA*008 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (HVR)：

配列番号 218 のアミノ酸配列を含む HVR-H1 と、

配列番号 219 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、

配列番号 220 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、

配列番号 221 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、

配列番号 222 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、

配列番号 223 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 212】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域 フレームワーク領域 (FR)：

配列番号 268 または配列番号 272 のアミノ酸配列を含む FR-L1 と、

配列番号 269、配列番号 273、及び配列番号 275 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-L2 と、

配列番号 270、配列番号 274、及び配列番号 276 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-L3 と、

配列番号 255 または配列番号 271 のアミノ酸配列を含む FR-L4 と、をさらに含む、請求項 211 に記載の抗体。

【請求項 213】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 FR：

10

20

30

40

50

配列番号 315、配列番号 319、及び配列番号 323 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-H1 と、

配列番号 316 または配列番号 320 のアミノ酸配列を含む FR-H2 と、

配列番号 317、配列番号 321、配列番号 322、及び配列番号 324 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-H3 と、

配列番号 302 または配列番号 318 のアミノ酸配列を含む FR-H4 と、をさらに含む、請求項 211 または 212 に記載の抗体。

【請求項 214】

(a) 配列番号 415 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有する VH 配列、(b) 配列番号 416 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有する VL 配列、または (c) (a) にあるとおりの VH 配列及び (b) にあるとおりの VL 配列を含む、請求項 202 に記載の抗体。

【請求項 215】

配列番号 415 の VH 配列を含む、請求項 214 に記載の抗体。

【請求項 216】

配列番号 416 の VL 配列を含む、請求項 214 に記載の抗体。

【請求項 217】

配列番号 415 の VH 配列及び配列番号 416 の VL 配列を含む、抗体。

【請求項 218】

ヒト MICA*008 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (HVR) :

配列番号 224 のアミノ酸配列を含む HVR-H1 と、

配列番号 225 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、

配列番号 226 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、

配列番号 227 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、

配列番号 228 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、

配列番号 229 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 219】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (FR) :

配列番号 277 または配列番号 280 のアミノ酸配列を含む FR-L1 と、

配列番号 278、配列番号 281、及び配列番号 283 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-L2 と、

配列番号 279、配列番号 282、及び配列番号 284 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-L3 と、

配列番号 251 または配列番号 255 のアミノ酸配列を含む FR-L4 と、をさらに含む、請求項 218 に記載の抗体。

【請求項 220】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 FR :

配列番号 325、配列番号 329、配列番号 331、及び配列番号 333 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-H1 と、

配列番号 320 または配列番号 326 のアミノ酸配列を含む FR-H2 と、

配列番号 327、配列番号 330、配列番号 332、及び配列番号 334 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む FR-H3 と、

配列番号 302 または配列番号 328 のアミノ酸配列を含む FR-H4 と、をさらに含む、請求項 218 または 219 に記載の抗体。

【請求項 221】

(a) 配列番号 429 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有する VH 配列、(b) 配列番号 430 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% の配列同一性を有する VL 配列、または (c) (a) にあるとおりの VH 配列及び (b) にあるとおりの VL 配列を含む、請求項 202 に記載の抗体。

【請求項 2 2 2】

配列番号 4 2 9 の V H 配列を含む、請求項 2 2 1 に記載の前記抗体。

【請求項 2 2 3】

配列番号 4 3 0 の V L 配列を含む、請求項 2 2 1 に記載の前記抗体。

【請求項 2 2 4】

配列番号 4 2 9 の V H 配列及び配列番号 4 3 0 の V L 配列を含む、抗体。

【請求項 2 2 5】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (H V R) :

配列番号 2 3 6 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、

配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、

配列番号 2 3 8 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、

配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、

配列番号 2 4 0 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、

配列番号 2 4 1 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 2 2 6】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (F R) :

配列番号 2 8 8 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 と、

配列番号 2 8 9 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 と、

配列番号 2 9 0 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 と、

配列番号 2 7 1 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 と、をさらに含む、請求項 2 2 5 に記載の抗体。

【請求項 2 2 7】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 F R :

配列番号 3 3 9 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 と、

配列番号 3 4 0 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 と、

配列番号 3 4 1 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 と、

配列番号 3 4 2 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 と、をさらに含む、請求項 2 2 5 または 2 2 6 に記載の抗体。

【請求項 2 2 8】

(a) 配列番号 4 3 7 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V H 配列、(b) 配列番号 4 3 8 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V L 配列、または (c) (a) にあるとおりの V H 配列及び (b) にあるとおりの V L 配列を含む、請求項 2 0 2 に記載の抗体。

【請求項 2 2 9】

配列番号 4 3 7 の V H 配列を含む、請求項 2 2 8 に記載の抗体。

【請求項 2 3 0】

配列番号 4 3 8 の V L 配列を含む、請求項 2 2 8 に記載の抗体。

【請求項 2 3 1】

配列番号 4 3 7 の V H 配列及び配列番号 4 3 8 の V L 配列を含む、抗体。

【請求項 2 3 2】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、次の 6 つの超可変領域 (H V R) :

配列番号 2 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、

配列番号 2 4 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、

配列番号 2 4 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、

配列番号 2 4 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、

配列番号 2 4 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、

配列番号 2 4 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む、前記抗体。

【請求項 2 3 3】

前記抗体が、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域（F R）：

配列番号 2 9 1 のアミノ酸配列を含む F R－L 1 と、

配列番号 2 9 2 のアミノ酸配列を含む F R－L 2 と、

配列番号 2 9 3 のアミノ酸配列を含む F R－L 3 と、

配列番号 2 9 4 のアミノ酸配列を含む F R－L 4 と、をさらに含む、請求項 2 3 2 に記載の抗体。

【請求項 2 3 4】

前記抗体が、次の重鎖可変領域 F R：

配列番号 3 4 3 のアミノ酸配列を含む F R－H 1 と、

配列番号 3 4 4 のアミノ酸配列を含む F R－H 2 と、

配列番号 3 4 5 のアミノ酸配列を含む F R－H 3 と、

配列番号 3 4 6 のアミノ酸配列を含む F R－H 4 と、をさらに含む、請求項 2 3 2 または 2 3 3 に記載の抗体。

【請求項 2 3 5】

（a）配列番号 4 3 9 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V H 配列、（b）配列番号 4 4 0 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V L 配列、または（c）（a）にあるとおりの V H 配列及び（b）にあるとおりの V L 配列を含む、請求項 2 0 2 に記載の抗体。

【請求項 2 3 6】

配列番号 4 3 9 の V H 配列を含む、請求項 2 3 5 に記載の抗体。

【請求項 2 3 7】

配列番号 4 4 0 の V L 配列を含む、請求項 2 3 5 に記載の抗体。

【請求項 2 3 8】

配列番号 4 3 9 の V H 配列及び配列番号 4 4 0 の V L 配列を含む、抗体。

【請求項 2 3 9】

前記抗体が、約 1 0 0 n M 以下の K d でヒト M I C A に結合する、請求項 2 0 2 ～ 2 3 8 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 2 4 0】

前記抗体が、ヒト M I C A * 0 0 2、ヒト M I C A * 0 0 4、及びヒト M I C B * 0 0 5 に結合することができる、請求項 2 0 2 ～ 2 3 9 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 2 4 1】

前記抗体が、ヒト M I C A * 0 0 8、ヒト M I C A * 0 0 2、ヒト M I C A * 0 0 4、ヒト M I C A * 0 0 8、及びヒト M I C B * 0 0 5 の細胞外ドメインに結合することができる、請求項 2 0 2 ～ 2 4 0 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 2 4 2】

前記抗体が、ヒト M I C A * 0 0 8、ヒト M I C A * 0 0 2、ヒト M I C A * 0 0 4、及びヒト M I C B * 0 0 5 のアルファ 3 ドメインに結合することができる、請求項 2 0 2 ～ 2 4 1 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 2 4 3】

前記抗体が、モノクローナルである、請求項 2 0 2 ～ 2 4 2 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 2 4 4】

前記抗体が、ヒト、ヒト化、またはキメラである、請求項 2 0 2 ～ 2 4 3 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 2 4 5】

前記フレームワーク配列の少なくとも一部分が、ヒトコンセンサスフレームワーク配列である、請求項 2 0 2 ～ 2 4 4 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 2 4 6】

前記抗体が、全長抗体である、請求項 2 0 2 ～ 2 4 5 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 2 4 7】

10

20

30

40

50

前記抗体が、ヒトMICA*008に結合する抗体断片である、請求項202～245のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項248】

前記抗体断片が、Fab、Fab'、Fab'-SH、Fv、一本鎖可変断片(scFV)、及び(Fab')₂断片からなる群から選択される、請求項247に記載の抗体。

【請求項249】

前記抗体が、IgGクラス抗体である、請求項202～248のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項250】

前記IgGクラス抗体が、IgG1サブクラス抗体である、請求項249に記載の抗体 10

【請求項251】

請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体をコードする、単離核酸。

【請求項252】

請求項251に記載の核酸を含む、ベクター。

【請求項253】

請求項252に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項254】

前記宿主細胞が、原核性である、請求項253に記載の宿主細胞。

【請求項255】

前記宿主細胞が、Escherichia coliである、請求項254に記載の宿主細胞。 20

【請求項256】

前記宿主細胞が、真核性である、請求項253に記載の宿主細胞。

【請求項257】

前記宿主細胞が、293細胞、CHO細胞、酵母細胞、または植物細胞である、請求項256に記載の宿主細胞。

【請求項258】

請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体を産生する方法であって、請求項253～257のいずれかに記載の宿主細胞を培養培地で培養することを含む、前記方法。 30

【請求項259】

前記方法が、前記宿主細胞または培養培地から前記抗体を回収することをさらに含む、請求項258に記載の方法。

【請求項260】

請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体と、細胞傷害性薬剤と、を含む、免疫複合体。

【請求項261】

請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体を含む、組成物。

【請求項262】

薬学的に許容される担体、賦形剤、または希釈剤をさらに含む、請求項261に記載の組成物。 40

【請求項263】

前記組成物が、薬学的組成物である、請求項262に記載の組成物。

【請求項264】

前記組成物が、PD-1軸結合アンタゴニストまたは追加の治療剤をさらに含む、請求項261～263のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項265】

MICのシェディングの低減に使用するための、請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項266】

可溶性M I Cのレベルの低減に使用するための、請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項267】

M I Cのシェディングの低減及び可溶性M I Cのレベルの低減に使用するための、請求項202～250のいずれかに記載の抗体。

【請求項268】

医薬品として使用するための、請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項269】

がんの治療またはその進行の遅延を、それを必要とする対象において行うことに使用するための、請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体。

10

【請求項270】

前記がんが、上皮癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、黒色腫、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、膠芽腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌、及び他の血液系悪性腫瘍からなる群から選択される、請求項269に記載の抗体。

【請求項271】

免疫関連疾患の治療またはその進行の遅延を、それを必要とする対象において行うことに使用するための、請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項272】

前記免疫関連疾患が、NKG2Dリガンドに関連している、請求項271に記載の抗体。

20

【請求項273】

前記NKG2Dリガンドが、M I Cである、請求項272に記載の抗体。

【請求項274】

前記免疫関連疾患が、消散していない急性感染、慢性感染、及び腫瘍免疫からなる群から選択される、請求項271～273のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項275】

免疫応答または機能の増加、増強、または刺激を、それを必要とする対象において行うことに使用するための、請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項276】

M I Cのシェディングを低減するための医薬品の製造における、請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体の使用。

30

【請求項277】

可溶性M I Cのレベルを低減するための医薬品の製造における、請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体の使用。

【請求項278】

M I Cのシェディング及び可溶性M I Cのレベルを低減するための医薬品の製造における、請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体の使用。

【請求項279】

がんの治療またはその進行の遅延を、それを必要とする対象において行うための医薬品の製造における、請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体の使用。

40

【請求項280】

前記がんが、上皮癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、黒色腫、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、膠芽腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌、及び他の血液系悪性腫瘍からなる群から選択される、請求項279に記載の使用。

【請求項281】

免疫関連疾患の治療またはその進行の遅延を、それを必要とする対象において行うための医薬品の製造における、請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体の使用。

【請求項282】

50

前記免疫関連疾患が、NKG2Dリガンドと関連している、請求項281に記載の使用。

【請求項283】

前記NKG2Dリガンドが、MICである、請求項282に記載の使用。

【請求項284】

前記免疫関連疾患が、消散していない急性感染、慢性感染、及び腫瘍免疫からなる群から選択される、請求項281～283のいずれか1項に記載の使用。

【請求項285】

免疫応答または機能の増加、増強、または刺激を、それを必要とする対象において行うための医薬品の製造における、請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体の使用。

10

【請求項286】

個体においてMICのシェディングを低減する方法であって、前記個体に有効量の請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体を投与して、MICのシェディングを低減することを含む、前記方法。

【請求項287】

個体において可溶性MICのレベルを低減する方法であって、前記個体に有効量の請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体を投与して、可溶性MICのレベルを低減することを含む、前記方法。

【請求項288】

個体においてMICのシェディングを低減し、可溶性MICのレベルを低減する方法であって、前記個体に有効量の請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体を投与して、MICのシェディング及び可溶性MICのレベルを低減することを含む、前記方法。

20

【請求項289】

対象においてがんを治療またはその進行を遅延するための方法であって、前記対象に有効量の請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体を投与し、これによって前記対象において前記がんを治療またはその進行を遅延することを含む、前記方法。

【請求項290】

前記がんが、上皮癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、黒色腫、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、膠芽腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌、及び他の血液系悪性腫瘍からなる群から選択される、請求項289に記載の方法。

30

【請求項291】

対象において免疫関連疾患を治療またはその進行を遅延するための方法であって、前記対象に有効量の請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体を投与し、これによって前記対象において前記免疫関連疾患を治療またはその進行を遅延することを含む、前記方法。

【請求項292】

前記免疫関連疾患が、NKG2Dリガンドと関連している、請求項291に記載の方法。

40

【請求項293】

前記NKG2Dリガンドが、MICである、請求項292に記載の方法。

【請求項294】

前記免疫関連疾患が、消散していない急性感染、慢性感染、及び腫瘍免疫からなる群から選択される、請求項291～293のいずれか1項に記載の方法。

【請求項295】

対象において免疫応答または機能を増加、増強、または刺激する方法であって、前記対象に有効量の請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体を投与し、これによって前記対象において免疫応答または機能を増加、増強、または刺激することを含む、前記方法。

50

【請求項 296】

前記対象に PD-1 軸結合アンタゴニストを投与することをさらに含む、請求項 286～295 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 297】

前記 PD-1 軸結合アンタゴニストが、前記抗体の前記投与の前または後に投与される、請求項 296 に記載の方法。

【請求項 298】

前記 PD-1 軸結合アンタゴニストが、前記抗体と同時に投与される、請求項 296 に記載の方法。

【請求項 299】

前記 PD-1 軸結合アンタゴニストが、PD-1 結合アンタゴニスト、PD-L1 結合アンタゴニスト、及び PD-L2 結合アンタゴニストからなる群から選択される、請求項 296～298 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 300】

前記 PD-1 軸結合アンタゴニストが、PD-1 結合アンタゴニストである、請求項 299 に記載の方法。

【請求項 301】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、PD-1 の、そのリガンド結合パートナーへの結合を阻害する、請求項 300 に記載の方法。

【請求項 302】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、PD-1 の PD-L1 への結合を阻害する、請求項 301 に記載の方法。

【請求項 303】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、PD-1 の PD-L2 への結合を阻害する、請求項 301 に記載の方法。

【請求項 304】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、PD-1 の、PD-L1 及び PD-L2 の両方への結合を阻害する、請求項 301 に記載の方法。

【請求項 305】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、抗 PD-1 抗体である、請求項 300～304 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 306】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、MDX1106（ニボルマブ）、MK-3475（ペンブロリズマブ）、CT-011（ピジリズマブ）、MED1-0680（AMP-514）、PDR001、REGN2810、BGB-108、及び BGB-A317 からなる群から選択される、請求項 301 に記載の方法。

【請求項 307】

前記 PD-1 軸結合アンタゴニストが、PD-L1 結合アンタゴニストである、請求項 299 に記載の方法。

【請求項 308】

前記 PD-L1 結合アンタゴニストが、PD-L1 の PD-1 への結合を阻害する、請求項 307 に記載の方法。

【請求項 309】

前記 PD-L1 結合アンタゴニストが、PD-L1 の B7-1 への結合を阻害する、請求項 307 に記載の方法。

【請求項 310】

前記 PD-L1 結合アンタゴニストが、PD-L1 の、PD-1 及び B7-1 の両方への結合を阻害する、請求項 307 に記載の方法。

【請求項 311】

前記 PD-L1 結合アンタゴニストが、抗 PD-L1 抗体である、請求項 307～31

10

20

30

40

50

0に記載の方法。

【請求項312】

前記抗PD-L1抗体が、MPDL3280A（アテゾリズマブ）、YW243.55.S70、MDX-1105、MED14736（デュルバルマブ）、及びMSB0010718C（アベルマブ）からなる群から選択される、請求項311に記載の方法。

【請求項313】

前記抗体が、MPDL3280Aである、請求項312に記載の方法。

【請求項314】

前記PD-1軸結合アンタゴニストが、PD-L2結合アンタゴニストである、請求項299に記載の方法。

【請求項315】

前記PD-L2結合アンタゴニストが、抗PD-L2抗体である、請求項314に記載の方法。

【請求項316】

前記PD-L2結合アンタゴニストが、イムノアドヘシンである、請求項314に記載の方法。

【請求項317】

前記対象に1つ以上の追加の阻害性共刺激受容体を減少または阻害する薬剤を投与することをさらに含む、請求項286～316のいずれか1項に記載の方法。

【請求項318】

前記1つ以上の追加の阻害性共刺激受容体が、PD-1、CTLA-4、LAG3、TIM3、BTLA、VISTA、B7H4、及びMMからなる群から選択される、請求項317に記載の方法。

【請求項319】

前記対象に追加の治療剤を投与することをさらに含む、請求項286～318のいずれか1項に記載の方法。

【請求項320】

前記追加の治療剤が、化学療法剤である、請求項319に記載の方法。

【請求項321】

前記抗体が、非経口、肺内、鼻腔内、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与される、請求項286～320のいずれか1項に記載の方法。

【請求項322】

前記対象が、ヒトである、請求項286～321のいずれか1項に記載の方法。

【請求項323】

請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体と、前記抗体を対象におけるがんの治療またはその進行の遅延に使用するための説明書を含む添付文書と、を含む、キット。

【請求項324】

請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体と、前記抗体を対象における免疫関連疾患の治療またはその進行の遅延に使用するための説明書を含む添付文書と、を含む、キット。

【請求項325】

請求項202～250のいずれか1項に記載の抗体と、対象における免疫応答または機能を増加、増強、または刺激するための説明書を含む添付文書と、を含む、キット。

【請求項326】

前記対象が、ヒトである、請求項323～325のいずれか1項に記載のキット。

【請求項327】

ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、ヒトMICA*008のGly243、Arg240、Gln241、Asp242、Val244、Ser245、Arg279、及びThr281からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する、前記抗体。

10

20

30

40

50

【請求項 3 2 8】

前記抗体が、第 1 のアミノ酸残基及び第 2 のアミノ酸残基を含むヒト M I C A * 0 0 8 上のエピトープに結合し、前記第 1 の残基が、ヒト M I C A * 0 0 8 の G l y 2 4 3、A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、A s p 2 4 2、V a l 2 4 4、S e r 2 4 5、A r g 2 7 9、及び T h r 2 8 1 からなる群から選択され、前記第 2 の残基が、ヒト M I C A * 0 0 8 の A r g 2 7 9、A r g 2 7 9、A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、A s p 2 4 2、G l y 2 4 3、G l u 2 7 6、G l u 2 7 7、G l n 2 7 8、及び T h r 2 8 1 からなる群から選択される、請求項 3 2 7 に記載の抗体。

【請求項 3 2 9】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、ヒト M I C A * 0 0 8 の A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、V a l 2 4 4、S e r 2 4 5、H i s 2 4 8、G l u 2 7 6、A r g 2 7 9、T y r 2 8 3、G l u 2 8 5、H i s 2 9 0、及び T h r 2 9 2 からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸残基を含むヒト M I C A * 0 0 8 上のエピトープに結合する、前記抗体。

10

【請求項 3 3 0】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、ヒト M I C A * 0 0 8 の A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、A s p 2 4 2、G l y 2 4 3、V a l 2 4 4、S e r 2 4 5、L e u 2 4 6、S e r 2 4 7、A s p 2 4 9、T h r 2 5 0、A r g 2 7 9、T y r 2 8 3、H i s 2 9 0、S e r 2 9 1、T h r 2 9 2、及び P r o 2 9 4 からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸残基を含むヒト M I C A * 0 0 8 上のエピトープに結合する、前記抗体。

20

【請求項 3 3 1】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、ヒト M I C A * 0 0 8 の A r g 2 4 0、A s p 2 4 2、G l y 2 4 3、V a l 2 4 4、G l u 2 7 7、G l n 2 7 8、A r g 2 7 9、P h e 2 8 0、T h r 2 8 1、T y r 2 8 3、G l u 2 8 5、G l y 2 8 8、A s n 2 8 9、H i s 2 9 0、S e r 2 9 1、T h r 2 9 2、P r o 2 9 4、V a l 2 9 5、P r o 2 9 6、及び S e r 2 9 7 からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸残基を含むヒト M I C A * 0 0 8 上のエピトープに結合する、前記抗体。

【請求項 3 3 2】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、ヒト M I C A * 0 0 8 の A s n 2 3 4、I l e 2 3 5、I l e 2 3 6、L e u 2 3 7、T h r 2 3 8、T r p 2 3 9、及び A r g 2 4 0 からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸残基を含むヒト M I C A * 0 0 8 上のエピトープに結合する、前記抗体。

30

【請求項 3 3 3】

ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、ヒト M I C A * 0 0 8 の V a l 2 6 8、A l a 2 6 9、T h r 2 7 0、A r g 2 7 1、I l e 2 7 2、C y s 2 7 3、A r g 2 7 4、G l y 2 7 5、G l u 2 7 6、G l u 2 7 7、G l n 2 7 8、A r g 2 7 9、及び P h e 2 8 0 からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸残基を含むヒト M I C A * 0 0 8 上のエピトープに結合する、前記抗体。

【請求項 3 3 4】

前記抗体が、二重特異性抗体である、請求項 1 ～ 1 0 2 及び／または 2 0 2 ～ 2 5 0 のいずれか 1 項に記載の抗体。

40

【請求項 3 3 5】

前記 I g G クラス抗体が、I g G 2 サブクラス抗体である、請求項 1 0 1 または 2 4 9 に記載の抗体。

【請求項 3 3 6】

前記 I g G クラス抗体が、I g G 4 サブクラス抗体である、請求項 1 0 1 または 2 4 9 に記載の抗体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

50

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、米国仮出願第62/414,670号の優先権利益を主張するものであり、この仮出願は、その全体において参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

連邦政府支援の研究開発に関する記述

該当せず。(N/A)

【0003】

共同研究契約の当事者

該当せず。(N/A)

10

【0004】

ASCIIテキストファイルでの配列表の提出

ASCIIテキストファイルでの以下の提出内容の全体が、参照により本明細書に組み込まれる：コンピュータ可読形態(CRF)の配列表(ファイル名：146392034740SEQULIST.txt、データ記録日：2017年10月26日、サイズ：226KB)。

【0005】

本発明は、抗MIC抗体、その使用方法、及びエピトープのマッピング方法に関する。

【背景技術】

【0006】

20

MIC(例えば、MICA、MICB)は、ほとんどのヒトNK細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、及びCD8+T細胞で発現する受容体であるNKG2Dのリガンドである。NKG2Dリガンドは通常健康な組織では見られないが、DNA損傷を含む様々な形態の細胞ストレスがリガンド発現を上方制御し、黒色腫を含む多発性固形及び血液系悪性腫瘍におけるそれらの頻繁な検出をもたらす。MICへの結合後、NKG2DはNK細胞によるパーフォリン依存的細胞溶解を活性化し、T細胞の共刺激をもたらし、NKG2D発現細胞、例えば、腫瘍細胞の殺滅をもたらす。しかしながら、このメカニズムにかかわらず、多くのMIC陽性腫瘍が特定されている。研究は、これらの腫瘍細胞からのMICのシェディングによって腫瘍の免疫逃避が達成されていることを示した。可溶性MICは、表面NKG2D受容体の内在化及び下方制御ならびに細胞傷害性リンパ球の機能障害を誘発する。可溶性MICは、Fasリガンド、IL-10及びTGF- β による抗腫瘍細胞傷害性に対抗し得る制御性NKG2D+CD4+Foxp3-T細胞の増殖も刺激し得る。がん患者からの血清は、典型的には上昇したレベルの可溶性形態(sMICA)を含有する。

30

【0007】

治療剤としての開発に最適な臨床的属性を有する薬剤が依然として必要であることは明らかである。本明細書に記載される抗体は、この必要性を満たし、他の利益を提供する。

【0008】

エピトープをマッピングすることは、抗体を特徴付ける重要な態様である。エピトープの知識は、設計、選択、及び/または類似した特性を有する他の抗体の特定を導くのに役立つ。エピトープの特定は、抗体の結合メカニズムについての洞察ももたらし得る。既存のマッピング方法は、X線結晶構造解析、アレイベースのオリゴペプチドスクリーニング、ELISAまたは競合アッセイにおける抗原の合成ペプチドまたはタンパク質分解断片の使用、部位特異的変異誘発、ランダムペプチドまたは抗原断片配列のファージディスプレイライブラリ、結合または非結合断片のいずれかの質量分析を用いた抗体の存在または不在下での抗原のタンパク質分解、及びIntegral Molecularによるショットガン変異誘発を含む。これらの方法の多くは、費用及び時間がかかり、有意義な結果が得られる前に多くのステップを必要とする。よって、依然としてエピトープマッピングの改良された方法が必要である。

40

【0009】

特許出願、特許公報、及びUniProtKB/Swiss-Prot受託番号を含む

50

、本明細書に引用される全ての参考文献は、各個別の参考文献が参照により組み込まれるように具体的かつ個別に示されているかのように、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【発明の概要】

【0010】

本発明は、抗MICA抗体及びその使用方法を提供する。本発明は、エピトープマッピングのための方法も提供する。本明細書に記載されるエピトープマッピング方法は、当該技術分野における既存の方法に対するいくつかの利点を提供する。例えば、本明細書に記載される方法は、適切に折り畳まれたポリペプチドを用いる抗体のエピトープマッピングを可能にするが、他の方法は、誤って折り畳まれているか、または折り畳みがほどけている可能性がある短いポリペプチド断片を用いてエピトープをマッピングする。さらに、グリカンの添加はポリペプチドを安定させることができる一方で、アラニンでの置換はしばしばポリペプチド構造を破壊し、凝集を引き起こし、ポリペプチドを使用不可能にする。また、本明細書に記載される方法は、抗原の大きな表面または表面全体のより迅速なスキャンを可能にし、アラニンスキャンよりも少ない数の構成体を使用する。

【0011】

一態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、及びArg279からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトMICA*008のアミノ酸残基Glu215、His248、及びArg279を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。他の実施形態において、抗体は、ヒトMICA*008のアミノ酸残基Gly243及びArg279を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。他の実施形態において、抗体は、ヒトMICA*008のアミノ酸残基His248及びArg279を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。他の実施形態において、抗体は、ヒトMICA*008のアミノ酸残基Arg279を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。

【0012】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の6つの超可変領域(HVR)：配列番号1のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域(FR)：配列番号7のアミノ酸配列を含むFR-L1と、配列番号8のアミノ酸配列を含むFR-L2と、配列番号9のアミノ酸配列を含むFR-L3と、配列番号10のアミノ酸配列を含むFR-L4と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域FR：配列番号11のアミノ酸配列を含むFR-H1と、配列番号12のアミノ酸配列を含むFR-H2と、配列番号13のアミノ酸配列を含むFR-H3と、配列番号14のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

【0013】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、及びArg279からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、(a)配列番号15のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、(b)配列番号16のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または(c)(a)にあるとおりのVH配列及び(b)にあるとおりのVL配列を含む。いくつかの実施形態において

、抗体は、配列番号 15 の V H 配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号 16 の V L 配列を含む。

【0014】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、配列番号 15 の V H 配列及び配列番号 16 の V L 配列を含む、抗体である。

【0015】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒト M I C A * 008 に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の 6 つの超可変領域 (H V R) : 配列番号 17 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、配列番号 18 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 20 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、配列番号 22 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (F R) : 配列番号 23 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 と、配列番号 24 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 と、配列番号 25 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 と、配列番号 26 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域 F R : 配列番号 27 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 と、配列番号 28 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 と、配列番号 29 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 と、配列番号 30 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 と、をさらに含む。

【0016】

別の態様において、提供されるものは、ヒト M I C A * 008 に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒト M I C A * 008 の G l u 215、G l y 243、H i s 248、及び A r g 279 からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸残基を含むヒト M I C A * 008 上のエピトープに結合し、(a) 配列番号 31 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有する V H 配列、(b) 配列番号 32 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有する V L 配列、または (c) (a) にあるとおりの V H 配列及び (b) にあるとおりの V L 配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 31 の V H 配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号 32 の V L 配列を含む。

【0017】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、配列番号 31 の V H 配列及び配列番号 32 の V L 配列を含む、抗体である。

【0018】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒト M I C A * 008 に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の 6 つの超可変領域 (H V R) : 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、配列番号 34 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、配列番号 35 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 36 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、配列番号 37 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、配列番号 38 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (F R) : 配列番号 39 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 と、配列番号 40 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 と、配列番号 41 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 と、配列番号 42 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域 F R : 配列番号 43 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 と、配列番号 44 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 と、配列番号 45 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 と、配列番号 46 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 と、をさらに含む。

【0019】

別の態様において、提供されるものは、ヒト M I C A * 008 に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒト M I C A * 008 の G l u 215、G l y 243、H i s 248、及び A r g 279 からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸残基を含むヒト M I C A

*008上のエピトープに結合し、(a) 配列番号47のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、(b) 配列番号48のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または(c) (a)にあるとおりのVH配列及び(b)にあるとおりのVL配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号47のVH配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号48のVL配列を含む。

【0020】

別の態様において、提供されるものは、配列番号47のVH配列及び配列番号48のVL配列を含む、抗体である。

【0021】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の6つの超可変領域(HVR)：配列番号49のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、配列番号50のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、配列番号51のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号52のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、配列番号53のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、配列番号54のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域(FR)：配列番号55のアミノ酸配列を含むFR-L1と、配列番号56のアミノ酸配列を含むFR-L2と、配列番号57のアミノ酸配列を含むFR-L3と、配列番号58のアミノ酸配列を含むFR-L4と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域FR：配列番号59のアミノ酸配列を含むFR-H1と、配列番号60のアミノ酸配列を含むFR-H2と、配列番号61のアミノ酸配列を含むFR-H3と、配列番号62のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

【0022】

別の態様において、提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、及びArg279からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、(a) 配列番号63のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、(b) 配列番号64のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または(c) (a)にあるとおりのVH配列及び(b)にあるとおりのVL配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号63のVH配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号64のVL配列を含む。

【0023】

別の態様において、提供されるものは、配列番号63のVH配列及び配列番号64のVL配列を含む、抗体である。

【0024】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の6つの超可変領域(HVR)：配列番号65のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、配列番号66のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、配列番号67のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号68のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、配列番号69のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、配列番号70のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域(FR)：配列番号71のアミノ酸配列を含むFR-L1と、配列番号72のアミノ酸配列を含むFR-L2と、配列番号73のアミノ酸配列を含むFR-L3と、配列番号74のアミノ酸配列を含むFR-L4と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域FR：配列番号75のアミノ酸配列を含むFR-H1と、配列番号76のアミノ酸配列を含むFR-H2と、配列番号77のアミノ酸配列を含むFR-H3と、配列番号78のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

【0025】

別の態様において、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、及びArg279からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、(a)配列番号79のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、(b)配列番号80のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または(c)(a)にあるとおりのVH配列及び(b)にあるとおりのVL配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号79のVH配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号80のVL配列を含む。

【0026】

別の態様において、提供されるものは、配列番号79のVH配列及び配列番号80のVL配列を含む、抗体である。

【0027】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の6つの超可変領域(HVR)：配列番号81のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、配列番号82のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、配列番号83のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号84のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、配列番号85のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、配列番号86のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域(FR)：配列番号87のアミノ酸配列を含むFR-L1と、配列番号88のアミノ酸配列を含むFR-L2と、配列番号89のアミノ酸配列を含むFR-L3と、配列番号90のアミノ酸配列を含むFR-L4と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域FR：配列番号91のアミノ酸配列を含むFR-H1と、配列番号92のアミノ酸配列を含むFR-H2と、配列番号93のアミノ酸配列を含むFR-H3と、配列番号94のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

【0028】

別の態様において、提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、及びArg279からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、(a)配列番号95のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、(b)配列番号96のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または(c)(a)にあるとおりのVH配列及び(b)にあるとおりのVL配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号95のVH配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号96のVL配列を含む。

【0029】

別の態様において、提供されるものは、配列番号95のVH配列及び配列番号96のVL配列を含む、抗体である。

【0030】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の6つの超可変領域(HVR)：配列番号97のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、配列番号98のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、配列番号99のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号100のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、配列番号101のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、配列番号102のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域(FR)：配列番号103のアミノ酸配列を含むFR-L1と、配列番号104のアミノ酸配列を含むFR-L2と、配列番号105のアミノ酸配列を含むFR-L3と、配列番号106のアミノ酸配列を含むFR-L4と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域FR：配列番号107のアミノ

酸配列を含むFR-H1と、配列番号108のアミノ酸配列を含むFR-H2と、配列番号109のアミノ酸配列を含むFR-H3と、配列番号110のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

【0031】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、及びArg279からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、(a)配列番号111のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、(b)配列番号112のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または(c)(a)にあるとおりのVH配列及び(b)にあるとおりのVL配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号111のVH配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号112のVL配列を含む。

10

【0032】

別の態様において、提供されるものは、配列番号111のVH配列及び配列番号112のVL配列を含む、抗体である。

【0033】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の6つの超可変領域(HVR)：配列番号113のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、配列番号114のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、配列番号115のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号116のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、配列番号117のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、配列番号118のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域(FR)：配列番号119のアミノ酸配列を含むFR-L1と、配列番号120のアミノ酸配列を含むFR-L2と、配列番号121のアミノ酸配列を含むFR-L3と、配列番号122のアミノ酸配列を含むFR-L4と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域FR：配列番号123のアミノ酸配列を含むFR-H1と、配列番号124のアミノ酸配列を含むFR-H2と、配列番号125のアミノ酸配列を含むFR-H3と、配列番号126のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

20

30

【0034】

別の態様において、提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、及びArg279からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、(a)配列番号127のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、(b)配列番号128のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または(c)(a)にあるとおりのVH配列及び(b)にあるとおりのVL配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号127のVH配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号128のVL配列を含む。

40

【0035】

別の態様において、提供されるものは、配列番号127のVH配列及び配列番号128のVL配列を含む、抗体である。

【0036】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の6つの超可変領域(HVR)：配列番号129のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、配列番号130のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、配列番号131のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号132のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、配列番号133のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、配列番号134のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は

50

、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域（FR）：配列番号135のアミノ酸配列を含むFR-L1と、配列番号136のアミノ酸配列を含むFR-L2と、配列番号137のアミノ酸配列を含むFR-L3と、配列番号138のアミノ酸配列を含むFR-L4と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域FR：配列番号139のアミノ酸配列を含むFR-H1と、配列番号140のアミノ酸配列を含むFR-H2と、配列番号141のアミノ酸配列を含むFR-H3と、配列番号142のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

【0037】

別の態様において、提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、及びArg279からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、（a）配列番号143のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、（b）配列番号144のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または（c）（a）にあるとおりのVH配列及び（b）にあるとおりのVL配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号143のVH配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号144のVL配列を含む。

【0038】

別の態様において、提供されるものは、配列番号143のVH配列及び配列番号144のVL配列を含む、抗体である。

【0039】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の6つの超可変領域（HVR）：配列番号145のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、配列番号146のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、配列番号147のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号148のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、配列番号149のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、配列番号150のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域（FR）：配列番号151のアミノ酸配列を含むFR-L1と、配列番号152のアミノ酸配列を含むFR-L2と、配列番号153のアミノ酸配列を含むFR-L3と、配列番号154のアミノ酸配列を含むFR-L4と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域FR：配列番号155のアミノ酸配列を含むFR-H1と、配列番号156のアミノ酸配列を含むFR-H2と、配列番号157のアミノ酸配列を含むFR-H3と、配列番号158のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

【0040】

別の態様において、提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、及びArg279からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、（a）配列番号159のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、（b）配列番号160のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または（c）（a）にあるとおりのVH配列及び（b）にあるとおりのVL配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号159のVH配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号160のVL配列を含む。

【0041】

別の態様において、提供されるものは、配列番号159のVH配列及び配列番号160のVL配列を含む、抗体である。

【0042】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の6つの超可変領域（HVR）：配列番号161のアミノ

10

20

30

40

50

酸配列を含むHVR-H1と、配列番号162のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、配列番号163のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号164のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、配列番号165のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、配列番号166のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域(FR)：配列番号167のアミノ酸配列を含むFR-L1と、配列番号168のアミノ酸配列を含むFR-L2と、配列番号169のアミノ酸配列を含むFR-L3と、配列番号170のアミノ酸配列を含むFR-L4と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域FR：配列番号171のアミノ酸配列を含むFR-H1と、配列番号172のアミノ酸配列を含むFR-H2と、配列番号173のアミノ酸配列を含むFR-H3と、配列番号174のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

【0043】

別の態様において、提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、及びArg279からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、(a)配列番号175のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、(b)配列番号176のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または(c)(a)にあるとおりのVH配列及び(b)にあるとおりのVL配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号175のVH配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号176のVL配列を含む。

【0044】

別の態様において、提供されるものは、配列番号175のVH配列及び配列番号176のVL配列を含む、抗体である。

【0045】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の6つの超可変領域(HVR)：配列番号177のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、配列番号178のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、配列番号179のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号180のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、配列番号181のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、配列番号182のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域(FR)：配列番号183のアミノ酸配列を含むFR-L1と、配列番号184のアミノ酸配列を含むFR-L2と、配列番号185のアミノ酸配列を含むFR-L3と、配列番号186のアミノ酸配列を含むFR-L4と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域FR：配列番号187のアミノ酸配列を含むFR-H1と、配列番号188のアミノ酸配列を含むFR-H2と、配列番号189のアミノ酸配列を含むFR-H3と、配列番号190のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

【0046】

別の態様において、提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、及びArg279からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、(a)配列番号191のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、(b)配列番号192のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または(c)(a)にあるとおりのVH配列及び(b)にあるとおりのVL配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号191のVH配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号192のVL配列を含む。

【0047】

別の態様において、提供されるものは、配列番号191のVH配列及び配列番号192

の V L 配列を含む、抗体である。

【0048】

一態様において、本明細書に提供されるものは、ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒト M I C A * 0 0 8 のアミノ酸残基 G l y 2 4 3 を含むヒト M I C A * 0 0 8 上のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒト M I C A * 0 0 8 のアミノ酸残基 G l y 2 4 3 及び A r g 2 7 9 を含むヒト M I C A * 0 0 8 上のエピトープに結合する。

【0049】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の 6 つの超可変領域 (H V R) : 配列番号 2 0 9 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、配列番号 2 1 0、配列番号 2 1 5、配列番号 2 1 6、及び配列番号 2 1 7 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、配列番号 2 1 1 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 2 1 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、配列番号 2 1 3 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、配列番号 2 1 4 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (F R) : 配列番号 2 4 8、配列番号 2 5 2、配列番号 2 5 8、配列番号 2 6 1、及び配列番号 2 6 6 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む F R - L 1 と、配列番号 2 4 9、配列番号 2 5 3、配列番号 2 5 6、配列番号 2 5 9、配列番号 2 6 2、及び配列番号 2 6 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む F R - L 2 と、配列番号 2 5 0、配列番号 2 5 4、配列番号 2 5 7、配列番号 2 6 0、配列番号 2 6 3、配列番号 2 6 5、及び配列番号 2 6 7 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む F R - L 3 と、配列番号 2 5 1 または配列番号 2 5 5 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域 F R : 配列番号 2 9 5、配列番号 2 9 9、及び配列番号 3 0 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む F R - H 1 と、配列番号 2 9 6、配列番号 3 0 0、及び配列番号 3 0 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む F R - H 2 と、配列番号 2 9 7、配列番号 3 0 1、配列番号 3 0 5、配列番号 3 0 6、配列番号 3 0 7、配列番号 3 0 8、配列番号 3 0 9、配列番号 3 1 0、配列番号 3 1 1、配列番号 3 1 2、配列番号 3 1 3、及び配列番号 3 1 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む F R - H 3 と、配列番号 2 9 8 または配列番号 3 0 2 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 と、をさらに含む。

【0050】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒト M I C A * 0 0 8 のアミノ酸残基 G l y 2 4 3 を含むヒト M I C A * 0 0 8 上のエピトープに結合し、(a) 配列番号 3 6 9 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V H 配列、(b) 配列番号 3 7 0 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V L 配列、または (c) (a) にあるとおりの V H 配列及び (b) にあるとおりの V L 配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 3 6 9 の V H 配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号 3 7 0 の V L 配列を含む。

【0051】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、配列番号 3 6 9 の V H 配列及び配列番号 3 7 0 の V L 配列を含む、抗体である。

【0052】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の 6 つの超可変領域 (H V R) : 配列番号 2 1 8 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、配列番号 2 1 9 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、配列番号 2 2 0 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 2 2 1 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、配列番号 2 2 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、配列番号 2 2 3 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (F R) : 配列番号 2 6 8 または配列番号 2 7 2

のアミノ酸配列を含むFR-L1と、配列番号269、配列番号273、及び配列番号275からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むFR-L2と、配列番号270、配列番号274、及び配列番号276からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むFR-L3と、配列番号255または配列番号271のアミノ酸配列を含むFR-L4と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域FR：配列番号315、配列番号319、及び配列番号323からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むFR-H1と、配列番号316または配列番号320のアミノ酸配列を含むFR-H2と、配列番号317、配列番号321、配列番号322、及び配列番号324からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むFR-H3と、配列番号302または配列番号318のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

10

【0053】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のアミノ酸残基Gly243を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、(a)配列番号415のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、(b)配列番号416のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または(c)(a)にあるとおりのVH配列及び(b)にあるとおりのVL配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号415のVH配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号416のVL配列を含む。

20

【0054】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、配列番号415のVH配列及び配列番号416のVL配列を含む、抗体である。

【0055】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の6つの超可変領域(HVR)：配列番号224のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、配列番号225のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、配列番号226のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号227のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、配列番号228のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、配列番号229のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域(FR)：配列番号277または配列番号280のアミノ酸配列を含むFR-L1と、配列番号278、配列番号281、及び配列番号283からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むFR-L2と、配列番号279、配列番号282、及び配列番号284からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むFR-L3と、配列番号251または配列番号255のアミノ酸配列を含むFR-L4と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域FR：配列番号325、配列番号329、配列番号331、及び配列番号333からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むFR-H1と、配列番号320または配列番号326のアミノ酸配列を含むFR-H2と、配列番号327、配列番号330、配列番号332、及び配列番号334からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むFR-H3と、配列番号302または配列番号328のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

30

40

【0056】

別の態様において、提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のアミノ酸残基Gly243を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、(a)配列番号429のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、(b)配列番号430のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または(c)(a)にあるとおりのVH配列及び(b)にあるとおりのVL配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号429のVH配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号430のVL配列を含む。

【0057】

50

別の態様において、提供されるものは、配列番号 4 2 9 の V H 配列及び配列番号 4 3 0 の V L 配列を含む、抗体である。

【0058】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の 6 つの超可変領域 (H V R) : 配列番号 2 3 6 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、配列番号 2 3 8 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、配列番号 2 4 0 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、配列番号 2 4 1 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (F R) : 配列番号 2 8 8 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 と、配列番号 2 8 9 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 と、配列番号 2 9 0 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 と、配列番号 2 7 1 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域 F R : 配列番号 3 3 9 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 と、配列番号 3 4 0 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 と、配列番号 3 4 1 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 と、配列番号 3 4 2 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 と、をさらに含む。

10

【0059】

別の態様において、提供されるものは、ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒト M I C A * 0 0 8 のアミノ酸残基 G l y 2 4 3 を 1 つ以上含むヒト M I C A * 0 0 8 上のエピトープに結合し、(a) 配列番号 4 3 7 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V H 配列、(b) 配列番号 4 3 8 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V L 配列、または (c) (a) にあるとおりの V H 配列及び (b) にあるとおりの V L 配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 4 3 7 の V H 配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号 4 3 8 の V L 配列を含む。

20

【0060】

別の態様において、提供されるものは、配列番号 4 3 7 の V H 配列及び配列番号 4 3 8 の V L 配列を含む、抗体である。

【0061】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であり、抗体は、次の 6 つの超可変領域 (H V R) : 配列番号 2 4 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、配列番号 2 4 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、配列番号 2 4 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 2 4 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、配列番号 2 4 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、配列番号 2 4 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、次の軽鎖可変領域フレームワーク領域 (F R) : 配列番号 2 9 1 のアミノ酸配列を含む F R - L 1 と、配列番号 2 9 2 のアミノ酸配列を含む F R - L 2 と、配列番号 2 9 3 のアミノ酸配列を含む F R - L 3 と、配列番号 2 9 4 のアミノ酸配列を含む F R - L 4 と、をさらに含む。他の実施形態において、抗体は、次の重鎖可変領域 F R : 配列番号 3 4 3 のアミノ酸配列を含む F R - H 1 と、配列番号 3 4 4 のアミノ酸配列を含む F R - H 2 と、配列番号 3 4 5 のアミノ酸配列を含む F R - H 3 と、配列番号 3 4 6 のアミノ酸配列を含む F R - H 4 と、をさらに含む。

30

40

【0062】

別の態様において、ヒト M I C A * 0 0 8 に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒト M I C A * 0 0 8 のアミノ酸残基 G l y 2 4 3 を含むヒト M I C A * 0 0 8 上のエピトープに結合し、(a) 配列番号 4 3 9 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V H 配列、(b) 配列番号 4 4 0 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する V L 配列、または (c) (a) にあるとおりの V H 配列及び (b) にあるとおりの V L 配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 4 3 9 の V H 配列を含む。他の実施形態において、抗体は、配列番号 4 4 0 の V L 配列を含む。

50

【0063】

別の態様において、提供されるものは、配列番号439のVH配列及び配列番号440のVL配列を含む、抗体である。

【0064】

前述の態様のいずれか1つの抗体の特定の実施形態において、抗体は、約100nM以下のKdでヒトMICAに結合する。

【0065】

前述の態様のいずれか1つの抗体の特定の実施形態において、抗体は、ヒトMICA*002、ヒトMICA*004、及びヒトMICB*005に結合することができる。

【0066】

前述の態様のいずれか1つの抗体の特定の実施形態において、抗体は、ヒトMICA*008、ヒトMICA*002、ヒトMICA*004、ヒトMICA*008、及びヒトMICB*005の細胞外ドメインに結合することができる。

【0067】

前述の態様のいずれか1つの抗体の特定の実施形態において、抗体は、ヒトMICA*008、ヒトMICA*002、ヒトMICA*004、及びヒトMICB*005のアルファ3ドメインに結合することができる。

【0068】

前述の態様のいずれか1つの抗体の特定の実施形態において、抗体は、モノクローナルである。

【0069】

前述の態様のいずれか1つの抗体の特定の実施形態において、抗体は、ヒト、ヒト化、またはキメラである。

【0070】

前述の態様のいずれか1つの抗体の特定の実施形態において、フレームワーク配列の少なくとも一部分は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列である。

【0071】

前述の態様のいずれか1つの抗体の特定の実施形態において、抗体は、全長抗体である。

【0072】

前述の態様のいずれか1つの抗体の特定の実施形態において、抗体は、二重特異性抗体である。

【0073】

前述の態様のいずれか1つの抗体の特定の実施形態において、抗体は、ヒトMICA*008に結合する抗体断片である。いくつかの実施形態において、抗体断片は、Fab、Fab'、Fab'-SH、Fv、一本鎖可変断片(scFV)、及び(Fab')₂断片からなる群から選択される。

【0074】

前述の態様のいずれか1つの抗体の特定の実施形態において、抗体は、IgGクラス抗体である。いくつかの実施形態において、IgGクラス抗体は、IgG1サブクラス抗体である。いくつかの実施形態において、IgGクラス抗体は、IgG2サブクラス抗体である。いくつかの実施形態において、IgGクラス抗体は、IgG4サブクラス抗体である。

【0075】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、前述の態様の抗体をコードする、単離核酸である。

【0076】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、前述の態様の核酸を含む、ベクターである。

【0077】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、前述の態様のベクターを含む、宿主細胞である。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、原核性、例えば、*Escherichia coli*である。他の実施形態において、宿主細胞は、真核性、例えば、293細胞、CHO細胞、酵母細胞、または植物細胞である。

【0078】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、いずれかの前述の態様の抗体を産生する方法であり、方法は、前述の態様のいずれかの宿主細胞を培養培地で培養することを含む。いくつかの実施形態において、方法は、抗体を宿主細胞または培養培地から回収することをさらに含む。

【0079】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、前述の態様のいずれかの抗体と、細胞傷害性薬剤と、を含む、免疫複合体である。

【0080】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、前述の態様のいずれかの抗体を含む組成物である。いくつかの実施形態において、組成物は、薬学的に許容される担体、賦形剤、または希釈剤をさらに含む。いくつかの実施形態において、組成物は、薬学的組成物である。他の実施形態において、組成物は、PD-1軸結合アンタゴニストまたは追加の治療剤をさらに含む。

【0081】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、MICのシェディングの低減に使用、可溶性MICのレベルの低減に使用、ならびにMICのシェディング及び可溶性MICのレベルの両方の低減に使用するための、前述の態様の抗体である。

【0082】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、医薬品として使用するための前述の態様の抗体である。

【0083】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、がんの治療またはその進行の遅延を、それを必要とする対象において行うことに使用するための前述の態様の抗体である。この態様の実施形態において、がんは、上皮癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、黒色腫、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、膠芽腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌、または他の血液系悪性腫瘍であり得る。

【0084】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、免疫関連疾患の治療またはその進行の遅延を、それを必要とする対象において行うことに使用するための前述の態様の抗体である。この態様のいくつかの実施形態において、免疫関連疾患は、NKGD2Dリガンドと関連している。さらなる実施形態において、NKGD2Dリガンドは、MICである。この態様の他の実施形態において、免疫関連疾患は、消散していない急性感染、慢性感染、及び腫瘍免疫からなる群から選択される。

【0085】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、免疫応答または機能の増加、増強、または刺激を、それを必要とする対象において行うことに使用するための前述の態様の抗体である。

【0086】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、MICのシェディングを低減するための医薬品の製造における、前述の態様のいずれかの抗体の使用である。別の態様において、本明細書に提供されるものは、可溶性MICのレベルを低減するための医薬品の製造における、前述の態様の抗体の使用である。別の態様において、本明細書に提供されるものは、MICのシェディング及び可溶性MICのレベルを低減するための医薬品の製造における、前述の態様の抗体の使用である。

10

20

30

40

50

【0087】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、がんの治療またはその進行の遅延を、それを必要とする対象において行うための医薬品の製造における、前述の態様の抗体の使用である。この態様の実施形態において、がんは、上皮癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、黒色腫、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、膠芽腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌、または他の血液系悪性腫瘍であり得る。

【0088】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、免疫関連疾患の治療またはその進行の遅延を、それを必要とする対象において行うための医薬品の製造における、前述の態様の抗体の使用である。この態様のいくつかの実施形態において、免疫関連疾患は、NKG2Dリガンドと関連している。さらなる実施形態において、NKG2Dリガンドは、MICである。この態様の他の実施形態において、免疫関連疾患は、消散していない急性感染、慢性感染、及び腫瘍免疫からなる群から選択される。

10

【0089】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、免疫応答または機能の増加、増強、または刺激を、それを必要とする対象において行うための医薬品の製造における、前述の態様の抗体の使用である。

【0090】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、個体に有効量の前述の態様のいずれかの抗体を投与して、MICのシェディングを低減することを含む、個体においてMICのシェディングを低減する方法である。別の態様において、本明細書に提供されるものは、個体に有効量の前述の態様のいずれかの抗体を投与して、可溶性MICのレベルを低減することを含む、個体において可溶性MICのレベルを低減する方法である。別の態様において、本明細書に提供されるものは、個体に有効量の前述の態様のいずれかの抗体を投与して、MICのシェディング及び可溶性MICのレベルを低減することを含む、個体においてMICのシェディング及び可溶性MICのレベルを低減する方法である。

20

【0091】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、対象においてがんを治療またはその進行を遅延するための方法であり、方法は、対象に有効量の前述の態様のいずれかの抗体を投与し、これによって対象においてがんを治療またはその進行を遅延することを含む。この態様の実施形態において、がんは、上皮癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、黒色腫、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、膠芽腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌、及び他の血液系悪性腫瘍であり得る。

30

【0092】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、対象において免疫関連疾患を治療またはその進行を遅延するための方法であり、方法は、対象に有効量の前述の態様のいずれかの抗体を投与し、これによって対象において免疫関連疾患を治療またはその進行を遅延することを含む。この態様のいくつかの実施形態において、免疫関連疾患は、NKG2Dリガンドと関連している。さらなる実施形態において、NKG2Dリガンドは、MICである。この態様の他の実施形態において、免疫関連疾患は、消散していない急性感染、慢性感染、及び腫瘍免疫からなる群から選択される。

40

【0093】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、対象において免疫応答または機能を増加、増強、または刺激する方法であり、対象に有効量の前述の態様のいずれかの抗体を投与し、これによって対象において免疫応答または機能を増加、増強、または刺激することを含む。

【0094】

個体においてMICのシェディングを低減、がんを治療もしくはその進行を遅延、免疫

50

関連疾患を治療もしくはその進行を遅延、または対象において免疫応答もしくは機能を増加、増強、もしくは刺激するための上記方法の特定の実施形態において、方法は、対象にPD-1軸結合アンタゴニストを投与することをさらに含む。いくつかの実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストは、抗体の投与の前または後に投与される。他の実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストは、抗体と同時に投与される。これらの実施形態のPD-1軸結合アンタゴニストは、PD-1結合アンタゴニスト、PD-L1結合アンタゴニスト、またはPD-L2結合アンタゴニストであり得る。

【0095】

いくつかの実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1の、そのリガンド結合パートナーへの結合を阻害する。PD-1結合アンタゴニストは、PD-1のPD-L1への結合を阻害、PD-1のPD-L2への結合を阻害、またはPD-1のPD-L1及びPD-L2の両方への結合を阻害し得る。いくつかの実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、抗PD-1抗体、例えば、MDX-1106（ニボルマブ）、MK-3475（ペンブロリズマブ）、CT-011（ビジリズマブ）、MED-0680（AMP-514）、PDR001、REGN2810、BGB-108、及びBGB-A317である。

【0096】

いくつかの実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストは、PD-L1結合アンタゴニストである。PD-L1結合アンタゴニストは、PD-L1のPD-1への結合を阻害、PD-L1のB7-1への結合を阻害、またはPD-L1のPD-1及びB7-1の両方への結合を阻害し得る。いくつかの実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、抗PD-L1抗体、例えば、MPDL3280A（アテゾリズマブ）、YW243.55.S70、MDX-1105、MED-4736（デュルバルマブ）、及びMSB0010718C（アベルマブ）である。好ましい実施形態において、抗PD-L1抗体は、MPDL3280Aである。

【0097】

いくつかの実施形態において、PD-1軸結合アンタゴニストは、PD-L2結合アンタゴニストである。いくつかの実施形態において、PD-L2結合アンタゴニストは、抗PD-L2抗体である。他の実施形態において、PD-L2結合アンタゴニストは、イムノアドヘシンである。

【0098】

個体においてMICのシェディングを低減、がんを治療もしくはその進行を遅延、免疫関連疾患を治療もしくはその進行を遅延、または対象において免疫応答もしくは機能を増加、増強、もしくは刺激するための上記方法の特定の実施形態において、方法は、対象に1つ以上の追加の阻害性共刺激受容体を減少または阻害する薬剤を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態において、1つ以上の追加の阻害性共刺激受容体は、PD-1、CTLA-4、LAG3、TIM3、BTLA、VISTA、B7H4、及びMMからなる群から選択される。

【0099】

個体においてMICのシェディングを低減、がんを治療もしくはその進行を遅延、免疫関連疾患を治療もしくはその進行を遅延、または対象において免疫応答もしくは機能を増加、増強、もしくは刺激するための上記方法の特定の実施形態において、方法は、対象に追加の治療剤を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、化学療法剤である。

【0100】

個体においてMICのシェディングを低減、がんを治療もしくはその進行を遅延、免疫関連疾患を治療もしくはその進行を遅延、または対象において免疫応答もしくは機能を増加、増強、もしくは刺激するための上記方法の特定の実施形態において、前述の態様の抗体は、非経口、肺内、鼻腔内、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与される。

10

20

30

40

50

【0101】

個体においてMICのシェディングを低減、がんを治療もしくはその進行を遅延、免疫関連疾患を治療もしくはその進行を遅延、または対象において免疫応答もしくは機能を増加、増強、もしくは刺激するための上記方法の特定の実施形態において、対象は、ヒトである。

【0102】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、前述の態様のいずれかの抗体と、抗体を対象におけるがんの治療またはその進行の遅延に使用するための説明書を含む添付文書と、を含む、キットである。別の態様において、本明細書に提供されるものは、前述の態様のいずれかの抗体と、抗体を対象における免疫関連疾患の治療またはその進行の遅延に使用するための説明書を含む添付文書と、を含む、キットである。別の態様において、本明細書に提供されるものは、前述の態様のいずれかの抗体と、対象における免疫応答または機能を増加、増強、または刺激するための説明書を含む添付文書と、を含む、キットである。前述の態様のキットの説明書のいくつかの実施形態において、対象は、ヒトである。

10

【0103】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、抗体のエピトープをマッピングする方法であり、ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換して置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドを生成することと、抗体がグリコシル化ポリペプチドに結合するかを決定することと、抗体のグリコシル化ポリペプチドへの結合が、抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、非グリコシル化アミノ酸または非グリコシル化アミノ酸の5オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも1つをエピトープの一部として特定することと、を含む。

20

【0104】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、抗体のエピトープをマッピングする方法であり、ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換して置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドを生成することと、抗体がグリコシル化ポリペプチドに結合するかを決定することとを含み、抗体のグリコシル化ポリペプチドへの結合が、抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、非グリコシル化アミノ酸または非グリコシル化アミノ酸の5オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも1つは、エピトープの一部として特定される。

30

【0105】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、抗体のエピトープをマッピングする方法であり、抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドへの結合が、抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、非グリコシル化アミノ酸または非グリコシル化アミノ酸の5オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも1つをエピトープの一部として特定することを含み、グリコシル化ポリペプチドは、ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換することによって生成される。

【0106】

エピトープをマッピングするための前述の方法のいくつかの実施形態において、ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換することは、ポリペプチドにグリコシル化部位を導入することを含む。エピトープをマッピングするための前述の方法のいずれかのいくつかの実施形態において、エピトープは、立体構造エピトープである。エピトープをマッピングするための前述の方法のいずれかのいくつかの実施形態において、エピトープは、線状エピトープである。エピトープをマッピングするための前述の方法のいずれかのいくつかの実施形態において、非グリコシル化アミノ酸は、置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドの表面上にある。エピトープをマッピングするための前述の方法のいずれかのいくつかの実施形態において、置換グリコシル化アミノ酸は、N結合グリカンを含む。エピトープをマッピングするための前述の方法のいずれかのいくつかの実施形態におい

40

50

て、ポリペプチドは、Fcドメインを含む。エピトープをマッピングするための前述の方法のいずれかのいくつかの実施形態において、抗体のグリコシル化ポリペプチドへの結合は、ELISAによって検出される。エピトープをマッピングするための方法のいくつかの実施形態において、抗体のグリコシル化ポリペプチドへの結合は、抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの結合と比較して少なくとも50%低減する。

【0107】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、抗体をビンニングするための方法であり、第1の抗体のエピトープを本明細書に記載される前述の方法によってマッピングすることと、第2の抗体のエピトープを本明細書に記載される方法によってマッピングすることと、第1の抗体及び第2の抗体が、同じエピトープを有する場合、同じビンにあることを決定することと、を含む。

10

【0108】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、抗体の接触アミノ酸を特定するための方法であり、ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換して置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドを生成することと、抗体がグリコシル化ポリペプチドに結合するかを決定することと、抗体のグリコシル化ポリペプチドへの結合が、抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、非グリコシル化アミノ酸または非グリコシル化アミノ酸の5オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも1つを、抗体の接触アミノ酸のうちの1つとして特定することと、を含む。

20

【0109】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、抗体の接触アミノ酸を特定するための方法であり、ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換して置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドを生成することと、抗体がグリコシル化ポリペプチドに結合するかを決定することと、を含み、抗体のグリコシル化ポリペプチドへの結合が、抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、非グリコシル化アミノ酸または非グリコシル化アミノ酸の5オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも1つは、抗体の接触アミノ酸のうちの1つとして特定される。

【0110】

別の態様において、本明細書に記載されることは、抗体の接触アミノ酸を特定するための方法であり、抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドへの結合が、抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、非グリコシル化アミノ酸または非グリコシル化アミノ酸の5オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも1つを抗体の接触アミノ酸のうちの1つとして特定することを含み、グリコシル化ポリペプチドは、ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換することによって生成される。

30

【0111】

別の態様において、本明細書に記載されるものは、エピトープが前述の態様のエピトープマッピング方法のいずれかによってマッピングされる、前述の態様のいずれかの抗体である。

40

【0112】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、Arg279、Arg213、Ser214、Ala216、Ser217、Asn220、Arg271、Arg240、Gln241、Asp242、Val244、Ser245、Thr281、Ser247、Asp249、Thr250、Trp253、Glu276、Glu277、及びGln278からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、抗体は、第1のアミノ酸残基、第2のアミノ酸残基、及び第3のアミ

50

ノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、第1のアミノ酸残基は、ヒトMICA*008のGlu215、Arg213、Ser214、Ala216、Ser217、Asn220、及びArg271からなる群から選択され、第2のアミノ酸残基は、ヒトMICA*008のHis248、Ser247、Asp249、Thr250、及びTrp253からなる群から選択され、第3のアミノ酸残基は、ヒトMICA*008のArg279、Arg240、Gln241、Asp242、Gly243、Glu276、Glu277、Gln278、及びThr281からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、抗体は、第1のアミノ酸残基及び第2のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、第1のアミノ酸残基は、ヒトMICA*008のGly243、Arg240、Gln241、Asp242、Val244、Ser245、Arg279、及びThr281からなる群から選択され、第2のアミノ酸残基は、ヒトMICA*008のArg279、Arg240、Gln241、Asp242、Gly243、Glu276、Glu277、Gln278、及びThr281からなる群から選択される。他の実施形態において、抗体は、第1のアミノ酸残基及び第2のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、第1のアミノ酸残基は、ヒトMICA*008のHis248、Ser247、Asp249、Thr250、またはTrp253からなる群から選択され、第2のアミノ酸残基は、ヒトMICA*008のArg279、Arg240、Gln241、Asp242、Gly243、Glu276、Glu277、Gln278、及びThr281からなる群から選択される。さらに他の実施形態において、抗体は、ヒトMICA*008のHis248、Ser247、Asp249、Thr250、及びTrp253からなる群から選択されるアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。さらに他の実施形態において、抗体は、ヒトMICA*008のArg279、Arg240、Gln241、Asp242、Gly243、Glu276、Glu277、Gln278、及びThr281からなる群から選択されるアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。

【0113】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のGly243、Arg240、Gln241、Asp242、Val244、Ser245、Arg279、及びThr281からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。

【0114】

いくつかの実施形態において、抗体は、第1のアミノ酸残基及び第2のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合し、第1の残基は、ヒトMICA*008のGly243、Arg240、Gln241、Asp242、Val244、Ser245、Arg279、及びThr281からなる群から選択され、第2の残基は、ヒトMICA*008のArg279、Arg279、Arg240、Gln241、Asp242、Gly243、Glu276、Glu277、Gln278、及びThr281からなる群から選択される。

【0115】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のArg240、Gln241、Val244、Ser245、His248、Glu276、Arg279、Tyr283、Glu285、His290、及びThr292からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。

【0116】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のArg240、Gln241、Asp242、Gly243、Val244、Ser245、Leu246、Ser247、

Asp 249、Thr 250、Arg 279、Tyr 283、His 290、Ser 291、Thr 292、及びPro 294からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。

【0117】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のArg 240、Asp 242、Gly 243、Val 244、Glu 277、Gln 278、Arg 279、Phe 280、Thr 281、Tyr 283、Glu 285、Gly 288、Asn 289、His 290、Ser 291、Thr 292、Pro 294、Val 295、Pro 296、及びSer 297からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。

10

【0118】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のAsn 234、Ile 235、Ile 236、Leu 237、Thr 238、Trp 239、及びArg 240からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。

【0119】

別の態様において、本明細書に提供されるものは、ヒトMICA*008に特異的に結合する抗体であり、抗体は、ヒトMICA*008のVal 268、Ala 269、Thr 270、Arg 271、Ile 272、Cys 273、Arg 274、Gly 275、Glu 276、Glu 277、Gln 278、Arg 279、及びPhe 280からなる群から選択される1つ以上のアミノ酸残基を含むヒトMICA*008上のエピトープに結合する。

20

【0120】

本明細書に記載される様々な実施形態の特性のうちの1つ、いくつか、または全てが組み合わされて、本発明の他の実施形態を形成することができることを理解されたい。本発明のこれら及び他の態様は、当業者にとって明らかとなるであろう。本発明のこれら及び他の実施形態は、以下の詳細な説明によってさらに説明される。

【図面の簡単な説明】

30

【0121】

【図1A】図1A～図1Lは抗MIC抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖HVR-H1、-H2、及び-H3、ならびに軽鎖HVR-L1、-L2、及び-L3配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載されるKabat付番システムに従って付番される。図1A：3C9. 10、図1B：9C9. 5. 6、図1C：1E6. 1. 3、図1D：7A3. 1. 9、図1E：6E12. 5、図1F：6E1. 1. 12、図1G：7D4. 6、図1H：2E5. 2. 3、図1-I：20G11、図1-J：32D2、図1K：3E11、図1L：6F8. 7.

【図1B】図1A～図1Lは抗MIC抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖HVR-H1、-H2、及び-H3、ならびに軽鎖HVR-L1、-L2、及び-L3配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載されるKabat付番システムに従って付番される。図1A：3C9. 10、図1B：9C9. 5. 6、図1C：1E6. 1. 3、図1D：7A3. 1. 9、図1E：6E12. 5、図1F：6E1. 1. 12、図1G：7D4. 6、図1H：2E5. 2. 3、図1-I：20G11、図1-J：32D2、図1K：3E11、図1L：6F8. 7.

40

【図1C】図1A～図1Lは抗MIC抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖HVR-H1、-H2、及び-H3、ならびに軽鎖HVR-L1、-L2、及び-L3配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載されるKabat付番システムに従って付番される。図1A：3C9. 10、図1B：9C9. 5. 6、図1C：1E6. 1. 3、図1D：7A3. 1. 9、図1E：6E12. 5、図1F：6E1. 1. 12、図1G：7

50

D 4. 6、図 1 H : 2 E 5. 2. 3、図 1 - I : 2 O G 1 1、図 1 - J : 3 2 D 2、図 1 K : 3 E 1 1、図 1 L : 6 F 8. 7.

【図 1 D】図 1 A ~ 図 1 L は抗 M I C 抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖 H V R - H 1、- H 2、及び - H 3、ならびに軽鎖 H V R - L 1、- L 2、及び - L 3 配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載される K a b a t 付番システムに従って付番される。図 1 A : 3 C 9. 1 0、図 1 B : 9 C 9. 5. 6、図 1 C : 1 E 6. 1. 3、図 1 D : 7 A 3. 1. 9、図 1 E : 6 E 1 2. 5、図 1 F : 6 E 1. 1. 1 2、図 1 G : 7 D 4. 6、図 1 H : 2 E 5. 2. 3、図 1 - I : 2 O G 1 1、図 1 - J : 3 2 D 2、図 1 K : 3 E 1 1、図 1 L : 6 F 8. 7.

【図 1 E】図 1 A ~ 図 1 L は抗 M I C 抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖 H V R - H 1、- H 2、及び - H 3、ならびに軽鎖 H V R - L 1、- L 2、及び - L 3 配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載される K a b a t 付番システムに従って付番される。図 1 A : 3 C 9. 1 0、図 1 B : 9 C 9. 5. 6、図 1 C : 1 E 6. 1. 3、図 1 D : 7 A 3. 1. 9、図 1 E : 6 E 1 2. 5、図 1 F : 6 E 1. 1. 1 2、図 1 G : 7 D 4. 6、図 1 H : 2 E 5. 2. 3、図 1 - I : 2 O G 1 1、図 1 - J : 3 2 D 2、図 1 K : 3 E 1 1、図 1 L : 6 F 8. 7.

【図 1 F】図 1 A ~ 図 1 L は抗 M I C 抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖 H V R - H 1、- H 2、及び - H 3、ならびに軽鎖 H V R - L 1、- L 2、及び - L 3 配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載される K a b a t 付番システムに従って付番される。図 1 A : 3 C 9. 1 0、図 1 B : 9 C 9. 5. 6、図 1 C : 1 E 6. 1. 3、図 1 D : 7 A 3. 1. 9、図 1 E : 6 E 1 2. 5、図 1 F : 6 E 1. 1. 1 2、図 1 G : 7 D 4. 6、図 1 H : 2 E 5. 2. 3、図 1 - I : 2 O G 1 1、図 1 - J : 3 2 D 2、図 1 K : 3 E 1 1、図 1 L : 6 F 8. 7.

【図 1 G】図 1 A ~ 図 1 L は抗 M I C 抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖 H V R - H 1、- H 2、及び - H 3、ならびに軽鎖 H V R - L 1、- L 2、及び - L 3 配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載される K a b a t 付番システムに従って付番される。図 1 A : 3 C 9. 1 0、図 1 B : 9 C 9. 5. 6、図 1 C : 1 E 6. 1. 3、図 1 D : 7 A 3. 1. 9、図 1 E : 6 E 1 2. 5、図 1 F : 6 E 1. 1. 1 2、図 1 G : 7 D 4. 6、図 1 H : 2 E 5. 2. 3、図 1 - I : 2 O G 1 1、図 1 - J : 3 2 D 2、図 1 K : 3 E 1 1、図 1 L : 6 F 8. 7.

【図 1 H】図 1 A ~ 図 1 L は抗 M I C 抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖 H V R - H 1、- H 2、及び - H 3、ならびに軽鎖 H V R - L 1、- L 2、及び - L 3 配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載される K a b a t 付番システムに従って付番される。図 1 A : 3 C 9. 1 0、図 1 B : 9 C 9. 5. 6、図 1 C : 1 E 6. 1. 3、図 1 D : 7 A 3. 1. 9、図 1 E : 6 E 1 2. 5、図 1 F : 6 E 1. 1. 1 2、図 1 G : 7 D 4. 6、図 1 H : 2 E 5. 2. 3、図 1 - I : 2 O G 1 1、図 1 - J : 3 2 D 2、図 1 K : 3 E 1 1、図 1 L : 6 F 8. 7.

【図 1 I】図 1 A ~ 図 1 L は抗 M I C 抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖 H V R - H 1、- H 2、及び - H 3、ならびに軽鎖 H V R - L 1、- L 2、及び - L 3 配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載される K a b a t 付番システムに従って付番される。図 1 A : 3 C 9. 1 0、図 1 B : 9 C 9. 5. 6、図 1 C : 1 E 6. 1. 3、図 1 D : 7 A 3. 1. 9、図 1 E : 6 E 1 2. 5、図 1 F : 6 E 1. 1. 1 2、図 1 G : 7 D 4. 6、図 1 H : 2 E 5. 2. 3、図 1 - I : 2 O G 1 1、図 1 - J : 3 2 D 2、図 1 K : 3 E 1 1、図 1 L : 6 F 8. 7.

【図 1 J】図 1 A ~ 図 1 L は抗 M I C 抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖 H V R - H 1、- H 2、及び - H 3、ならびに軽鎖 H V R - L 1、- L 2、及び - L 3 配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載される K a b a t 付番システムに従って付番される。図 1 A : 3 C 9. 1 0、図 1 B : 9 C 9. 5. 6、図 1 C : 1 E 6. 1. 3、図 1 D : 7 A 3. 1. 9、図 1 E : 6 E 1 2. 5、図 1 F : 6 E 1. 1. 1 2、図 1 G : 7 D 4. 6、図 1 H : 2 E 5. 2. 3、図 1 - I : 2 O G 1 1、図 1 - J : 3 2 D 2、図 1

K : 3 E 1 1、図 1 L : 6 F 8、7、

【図 1 K】図 1 A～図 1 L は抗 M I C 抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖 H V R－H 1、－H 2、及び－H 3、ならびに軽鎖 H V R－L 1、－L 2、及び－L 3 配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載される K a b a t 付番システムに従って付番される。図 1 A : 3 C 9、1 0、図 1 B : 9 C 9、5、6、図 1 C : 1 E 6、1、3、図 1 D : 7 A 3、1、9、図 1 E : 6 E 1 2、5、図 1 F : 6 E 1、1、1 2、図 1 G : 7 D 4、6、図 1 H : 2 E 5、2、3、図 1－I : 2 0 G 1 1、図 1－J : 3 2 D 2、図 1 K : 3 E 1 1、図 1 L : 6 F 8、7、

【図 1 L】図 1 A～図 1 L は抗 M I C 抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖 H V R－H 1、－H 2、及び－H 3、ならびに軽鎖 H V R－L 1、－L 2、及び－L 3 配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載される K a b a t 付番システムに従って付番される。図 1 A : 3 C 9、1 0、図 1 B : 9 C 9、5、6、図 1 C : 1 E 6、1、3、図 1 D : 7 A 3、1、9、図 1 E : 6 E 1 2、5、図 1 F : 6 E 1、1、1 2、図 1 G : 7 D 4、6、図 1 H : 2 E 5、2、3、図 1－I : 2 0 G 1 1、図 1－J : 3 2 D 2、図 1 K : 3 E 1 1、図 1 L : 6 F 8、7、

【図 2】M I C A / B アルファ 3 ドメイン整列、同一性%、及び類似性%を示す。

【図 3－1】図 3 A～図 3 E は黒色の丸は抗体結合をブロックした操作グリコシル化部位アスパラギンを示し、灰色の丸は抗体結合を維持した操作グリコシル化部位を示す。図 3 A : ピン 1 (3 C 9、1 0) エピトープは、M I C A の「底部」にマッピングする。図 3 B : ピン 2 (6 F 8、7 D 4、3 2 D 2、及び 3 E 1 1) エピトープは、M I C A の「底部及び前部」にマッピングする。図 3 C : ピン 3 (9 C 9、5、6、1 E 6、1、3、7 A 3、1、9) エピトープは、M I C A の「底部及び側部」にマッピングする。図 3 D : ピン 4 (6 E 1 2、5) エピトープは、M I C A の「側部」にマッピングする。図 3 E : ピン 5 (2 0 G 1 1) エピトープは、M I C A の「前部」にマッピングする。

【図 3－2】図 3 A～図 3 E は黒色の丸は抗体結合をブロックした操作グリコシル化部位アスパラギンを示し、灰色の丸は抗体結合を維持した操作グリコシル化部位を示す。図 3 A : ピン 1 (3 C 9、1 0) エピトープは、M I C A の「底部」にマッピングする。図 3 B : ピン 2 (6 F 8、7 D 4、3 2 D 2、及び 3 E 1 1) エピトープは、M I C A の「底部及び前部」にマッピングする。図 3 C : ピン 3 (9 C 9、5、6、1 E 6、1、3、7 A 3、1、9) エピトープは、M I C A の「底部及び側部」にマッピングする。図 3 D : ピン 4 (6 E 1 2、5) エピトープは、M I C A の「側部」にマッピングする。図 3 E : ピン 5 (2 0 G 1 1) エピトープは、M I C A の「前部」にマッピングする。

【図 3－3】図 3 A～図 3 E は黒色の丸は抗体結合をブロックした操作グリコシル化部位アスパラギンを示し、灰色の丸は抗体結合を維持した操作グリコシル化部位を示す。図 3 A : ピン 1 (3 C 9、1 0) エピトープは、M I C A の「底部」にマッピングする。図 3 B : ピン 2 (6 F 8、7 D 4、3 2 D 2、及び 3 E 1 1) エピトープは、M I C A の「底部及び前部」にマッピングする。図 3 C : ピン 3 (9 C 9、5、6、1 E 6、1、3、7 A 3、1、9) エピトープは、M I C A の「底部及び側部」にマッピングする。図 3 D : ピン 4 (6 E 1 2、5) エピトープは、M I C A の「側部」にマッピングする。図 3 E : ピン 5 (2 0 G 1 1) エピトープは、M I C A の「前部」にマッピングする。

【図 4】図 4 A～図 4 B は G l y c o バリエーションの示差走査蛍光測定 (D S F) からの融解曲線を示す。図 4 A は、全てのグリコシル化バリエーションの蛍光応答 (R F U) を示す。図 4 B は、全てのグリコシル化バリエーションの融解曲線の一次導関数を示す。

【図 5】M I C A 及び m I g G 2 a の D S F 融解温度 (T_m) 値を示す。

【図 6】G l y c o 変異体がグリコシル化されていることを確認するゲルを示す。

【図 7 A】マウス M I L L 1 上に移植されたヒト M I C A * 0 0 8 残基を示す。

【図 7 B】M I L L 1 キメラにおける非 M I C A * 0 0 8 残基を示す。

【図 8】ピン 6 及びピン 7 (それぞれ 2 E 5、2、3 及び 6 E 1、1、1 2) エピトープが M I C A の「背部及び上部」にマッピングすることを示す。黒色は、M I L L 1－M I C A キメラに結合するこれらの抗体に基づいて可能なエピトープを示す。エピトープに含

10

20

30

40

50

まれな残基は、操作グリコシル化部位マッピング、ビン6及び7抗体が4つ全ての対立遺伝子に結合するので、MICA002、004、008、及びMICB005の間の対立遺伝子の相違、ならびにFraczkiwicz, R. and Braun, W. (1998) "Exact and Efficient Analytical Calculation of the Accessible Surface Areas and Their Gradients for Macromolecules" J. Comp. Chem., 19, 319-333に記載されるように、溶媒接触可能性計算プログラムGETAREAを使用して内向きであるか、または接触可能表面積を有しないと予測されるMICA*001構造(PDBコード1B3J及び1HYR)における残基からのデータに基づく。

10

【図9】アラニンスキャニングからの親和性の倍の減少を示す。3よりも大きい倍の減少は影付きである。

【図10】Alaスキャニングデータが含まれる2E5. 2. 3エピトープを示す。黒色の残基は2E5. 2. 3のエピトープであり、灰色の残基はそうではない。エピトープに含まれない残基は、アラニンスキャニング、操作グリコシル化部位マッピング、2E5. 2. 3が4つ全ての対立遺伝子に結合するので、MICA002、004、008、及びMICB005の間の対立遺伝子の相違、ならびにFraczkiwicz, R. and Braun, W. (1998) "Exact and Efficient Analytical Calculation of the Accessible Surface Areas and Their Gradients for Macromolecules" J. Comp. Chem., 19, 319-333に記載されるように、溶媒接触可能性計算プログラムGETAREAを使用して内向きであるか、または接触可能表面積を有しないと予測されるMICA*001構造(PDBコード1B3J及び1HYR)における残基からのデータに基づく。2E5. 2. 3はMICAの「背部」及び「上部」に結合することが予測されるという我々の仮説を支持して、「前部」にある残基のAlaスキャニングは、2E5. 2. 3がこれらの残基のいずれにも結合しないことを示した。これは、2E5. 2. 3のエピトープがMICAの「前部」ではなく、MICAの「背部」及び「上部」にあることを明らかにする。

20

【図11A】図11A～図11Bはグリコシル化操作及びAlaスキャニングによってマッピングされた抗体のエピトープを比較する。図11A：6F8、図11B：7D4。

30

【図11B】図11A～図11Bはグリコシル化操作及びAlaスキャニングによってマッピングされた抗体のエピトープを比較する。図11A：6F8、図11B：7D4。

【図12】本明細書に記載される抗MIC抗体の配列特定因子の要約を提供する。

【図13A】図13A～図13Cは細胞に添加された、抗MIC抗体1D5、13A9、及び6E1の組み合わせを滴定することによって、阻害によって引き起こされる可溶性MIC(sMIC)シェディングの低減パーセントを示す。

【図13B】図13A～図13Cは細胞に添加された、抗MIC抗体1D5、13A9、及び6E1の組み合わせを滴定することによって、阻害によって引き起こされる可溶性MIC(sMIC)シェディングの低減パーセントを示す。

【図13C】図13A～図13Cは細胞に添加された、抗MIC抗体1D5、13A9、及び6E1の組み合わせを滴定することによって、阻害によって引き起こされる可溶性MIC(sMIC)シェディングの低減パーセントを示す。

40

【図14A】図14A～図14Fは1D5、13A9、15F11、6E1(別名、6E1. 1. 12)、18G3、及び12H10抗MIC抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖HVR-H1(図14A)、HVR-H2(図14B)、及びHVR-H3(図14C)、ならびに軽鎖HVR-L1(図14D)、HVR-L2(図14E)、及びHVR-L3(図14F)配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載されるKabatt付番システムに従って付番される。

【図14B】図14A～図14Fは1D5、13A9、15F11、6E1(別名、6E1. 1. 12)、18G3、及び12H10抗MIC抗体の可変領域のアミノ酸配列であ

50

る。重鎖HVR-H1（図14A）、HVR-H2（図14B）、及びHVR-H3（図14C）、ならびに軽鎖HVR-L1（図14D）、HVR-L2（図14E）、及びHVR-L3（図14F）配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載されるKabat付番システムに従って付番される。

【図14C】図14A～図14Fは1D5、13A9、15F11、6E1（別名、6E1.1.12）、18G3、及び12H10抗MIC抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖HVR-H1（図14A）、HVR-H2（図14B）、及びHVR-H3（図14C）、ならびに軽鎖HVR-L1（図14D）、HVR-L2（図14E）、及びHVR-L3（図14F）配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載されるKabat付番システムに従って付番される。

10

【図14D】図14A～図14Fは1D5、13A9、15F11、6E1（別名、6E1.1.12）、18G3、及び12H10抗MIC抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖HVR-H1（図14A）、HVR-H2（図14B）、及びHVR-H3（図14C）、ならびに軽鎖HVR-L1（図14D）、HVR-L2（図14E）、及びHVR-L3（図14F）配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載されるKabat付番システムに従って付番される。

【図14E】図14A～図14Fは1D5、13A9、15F11、6E1（別名、6E1.1.12）、18G3、及び12H10抗MIC抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖HVR-H1（図14A）、HVR-H2（図14B）、及びHVR-H3（図14C）、ならびに軽鎖HVR-L1（図14D）、HVR-L2（図14E）、及びHVR-L3（図14F）配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載されるKabat付番システムに従って付番される。

20

【図14F】図14A～図14Fは1D5、13A9、15F11、6E1（別名、6E1.1.12）、18G3、及び12H10抗MIC抗体の可変領域のアミノ酸配列である。重鎖HVR-H1（図14A）、HVR-H2（図14B）、及びHVR-H3（図14C）、ならびに軽鎖HVR-L1（図14D）、HVR-L2（図14E）、及びHVR-L3（図14F）配列に印を付ける。アミノ酸位置は、本明細書に記載されるKabat付番システムに従って付番される。

【図15A】図15A～図15Bはシェディング阻害アッセイで抗体干渉について試験する実験の結果を提供する。図15Aは、HCC1534（MICA*004）細胞の結果を提供する。図15Bは、MEL-JUSO細胞（MICA*008）の結果を提供する。

30

【図15B】図15A～図15Bはシェディング阻害アッセイで抗体干渉について試験する実験の結果を提供する。図15Aは、HCC1534（MICA*004）細胞の結果を提供する。図15Bは、MEL-JUSO細胞（MICA*008）の結果を提供する。

【図16A】図16A～図16Cは条件培地に添加された、抗MIC抗体1D5、13A9、及び6E1の組み合わせを滴定することによって、抗体干渉によって引き起こされるsMICシグナルの低減パーセントを描写する。

【図16B】図16A～図16Cは条件培地に添加された、抗MIC抗体1D5、13A9、及び6E1の組み合わせを滴定することによって、抗体干渉によって引き起こされるsMICシグナルの低減パーセントを描写する。

40

【図16C】図16A～図16Cは条件培地に添加された、抗MIC抗体1D5、13A9、及び6E1の組み合わせを滴定することによって、抗体干渉によって引き起こされるsMICシグナルの低減パーセントを描写する。

【図17】全ての抗体キャンペーンからMICA*008アルファ3ドメインへの最高の結合親和性を有した52個の抗MICA抗体を選択した。biacoreによって決定された結合親和性値は、0.5nM～10nMの範囲で、10nM以下であった。

【図18A】図18A及び図18BはMICA*008のシェディング阻害パーセント（図18A）及びMICA*008アルファ3ドメインの結合親和性（KD）対10nM以

50

下の親和性を有する52個の抗MICA抗体についてのMICA*008のシェディング阻害パーセント(図18B)を示すWaterfallプロットである。抗MICA抗体は、1~81%のMICA*008のシェディング阻害パーセントについての80倍の範囲を示す。

【図18B】図18A及び図18BはMICA*008のシェディング阻害パーセント(図18A)及びMICA*008アルファ3ドメインの結合親和性(KD)対10nM以下の親和性を有する52個の抗MICA抗体についてのMICA*008のシェディング阻害パーセント(図18B)を示すWaterfallプロットである。抗MICA抗体は、1~81%のMICA*008のシェディング阻害パーセントについての80倍の範囲を示す。

10

【図19-1】Wasatchを使用して決定された52個の抗MICA抗体のセットについての3つの固有のエピトープピンを示す。MICA*008の親和性対Wasatch決定エピトープピン(図19B)及びシェディング阻害パーセント対Wasatch決定エピトープピン(図19C)も示す。

【図19-2】Wasatchを使用して決定された52個の抗MICA抗体のセットについての3つの固有のエピトープピンを示す。MICA*008の親和性対Wasatch決定エピトープピン(図19B)及びシェディング阻害パーセント対Wasatch決定エピトープピン(図19C)も示す。

【図20】糖鎖改変エピトープマッピング(GEM)方法を描写する。単一N結合グリコシル化部位は、N-X-S/Tモチーフを達成するようにタンパク質抗原中の1つまたは2つの残基を変更することによって作製される。各々固有の新たに作製されたN結合グリコシル化部位を有する複数の抗原は次いで、Elisa、Biacore、またはWasatchを使用して抗体パネルへの結合活性について評価される。エピトープは次いで、グリコシル化が存在し、よって部位をマスキングする場合に結合することができない任意の部位として定義される。

20

【図21A】図21AはMICA*008の「前部」にある7個の個別の固有に操作されたN結合グリコシル化部位の位置を描写する。各糖鎖改変MICA*008バリエーションについての総グリコシル化(フコシル化%及びアフコシル化%)の分析も示す(図21B)。図21Cは96個の抗MICA抗体への7個の糖鎖改変MICA*008バリエーションのElisa結合特性に基づく糖鎖改変エピトープマッピング(GEM)方法によって特定された固有のエピトープピンを描写する。図21DはMICAの「前部」及び「底部」にある糖鎖改変MICAバリエーションのエピトープが、抗MICA抗体によってブロッキングされる場合、MICA*008シェディングをブロッキングするのに最も効果的であったことを示す1D5の結晶構造である。G243(Glyco14のG243N変異の位置)及びR279(Glyco16のR279N変異の位置)は、抗MICA抗体によるMICA*008の最良のシェディング阻害を可能にするエピトープであった。

30

【図21B】図21AはMICA*008の「前部」にある7個の個別の固有に操作されたN結合グリコシル化部位の位置を描写する。各糖鎖改変MICA*008バリエーションについての総グリコシル化(フコシル化%及びアフコシル化%)の分析も示す(図21B)。図21Cは96個の抗MICA抗体への7個の糖鎖改変MICA*008バリエーションのElisa結合特性に基づく糖鎖改変エピトープマッピング(GEM)方法によって特定された固有のエピトープピンを描写する。図21DはMICAの「前部」及び「底部」にある糖鎖改変MICAバリエーションのエピトープが、抗MICA抗体によってブロッキングされる場合、MICA*008シェディングをブロッキングするのに最も効果的であったことを示す1D5の結晶構造である。G243(Glyco14のG243N変異の位置)及びR279(Glyco16のR279N変異の位置)は、抗MICA抗体によるMICA*008の最良のシェディング阻害を可能にするエピトープであった。

40

【図21C】図21AはMICA*008の「前部」にある7個の個別の固有に操作されたN結合グリコシル化部位の位置を描写する。各糖鎖改変MICA*008バリエーションについての総グリコシル化(フコシル化%及びアフコシル化%)の分析も示す(図21B)

50

。図 2 1 C は 9 6 個の抗 M I C A 抗体への 7 個の糖鎖改変 M I C A * 0 0 8 バリエーションの E l i s a 結合特性に基づく糖鎖改変エピトープマッピング (G E M) 方法によって特定された固有のエピトープピンを描写する。図 2 1 D は M I C A の「前部」及び「底部」にある糖鎖改変 M I C A バリエーションのエピトープが、抗 M I C A 抗体によってブロッキングされる場合、M I C A * 0 0 8 シェディングをブロッキングするのに最も効果的であったことを示す 1 D 5 の結晶構造である。G 2 4 3 (G l y c o 1 4 の G 2 4 3 N 変異の位置) 及び R 2 7 9 (G l y c o 1 6 の R 2 7 9 N 変異の位置) は、抗 M I C A 抗体による M I C A * 0 0 8 の最良のシェディング阻害を可能にするエピトープであった。

【図 2 1 D】図 2 1 A は M I C A * 0 0 8 の「前部」にある 7 個の個別の固有に操作された N 結合グリコシル化部位の位置を描写する。各糖鎖改変 M I C A * 0 0 8 バリエーションについての総グリコシル化 (フコシル化 % 及びアフコシル化 %) の分析も示す (図 2 1 B) 。図 2 1 C は 9 6 個の抗 M I C A 抗体への 7 個の糖鎖改変 M I C A * 0 0 8 バリエーションの E l i s a 結合特性に基づく糖鎖改変エピトープマッピング (G E M) 方法によって特定された固有のエピトープピンを描写する。図 2 1 D は M I C A の「前部」及び「底部」にある糖鎖改変 M I C A バリエーションのエピトープが、抗 M I C A 抗体によってブロッキングされる場合、M I C A * 0 0 8 シェディングをブロッキングするのに最も効果的であったことを示す 1 D 5 の結晶構造である。G 2 4 3 (G l y c o 1 4 の G 2 4 3 N 変異の位置) 及び R 2 7 9 (G l y c o 1 6 の R 2 7 9 N 変異の位置) は、抗 M I C A 抗体による M I C A * 0 0 8 の最良のシェディング阻害を可能にするエピトープであった。

【図 2 2 A】図 2 2 A ~ 図 2 2 D は異なる角度から示される M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 1 D 5 F a b の結晶構造のレンダリングを描写し、F a b は表面として、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。カルボキシ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「前面」、及びアミノ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α α 3 ドメインの「背面」は、アミノ末端 (N 末端) 及びカルボキシ末端 (C 末端) とともに強調される。

【図 2 2 B】図 2 2 A ~ 図 2 2 D は異なる角度から示される M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 1 D 5 F a b の結晶構造のレンダリングを描写し、F a b は表面として、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。カルボキシ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「前面」、及びアミノ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α α 3 ドメインの「背面」は、アミノ末端 (N 末端) 及びカルボキシ末端 (C 末端) とともに強調される。

【図 2 2 C】図 2 2 A ~ 図 2 2 D は異なる角度から示される M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 1 D 5 F a b の結晶構造のレンダリングを描写し、F a b は表面として、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。カルボキシ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「前面」、及びアミノ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α α 3 ドメインの「背面」は、アミノ末端 (N 末端) 及びカルボキシ末端 (C 末端) とともに強調される。

【図 2 2 D】図 2 2 A ~ 図 2 2 D は異なる角度から示される M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 1 D 5 F a b の結晶構造のレンダリングを描写し、F a b は表面として、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。カルボキシ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「前面」、及びアミノ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α α 3 ドメインの「背面」は、アミノ末端 (N 末端) 及びカルボキシ末端 (C 末端) とともに強調される。

【図 2 3】図 2 3 A 及び図 2 3 B は異なる角度から示される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 1 D 5 F a b C D R の結晶構造のレンダリングである。M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインは表面として、1 D 5 F a b の C D R はリボンとして描写される。1

10

20

30

40

50

D5 パラトープ (MICA*008α3 ドメインの 4.5 Å 以内) の一部として定義される残基は、それらの側鎖がスティックとして示される。

【図 24-1】図 24A 及び図 24B はそれぞれ表面として示される、1D5 Fab と MICA*008α3 ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。MICA*008α3 ドメインの 4.5 Å 以内にあるものとして定義される、1D5 パラトープ中の残基は、図 24A においてそれらの残基番号とともに強調される。1D5 Fab の 4.5 Å 以内にあるものとして定義される、1D5 エピトープ中の MICA*008α3 ドメイン残基は、図 24B においてそれらの残基番号とともに強調される。図 24C 及び図 24D はそれぞれリボンダイアグラムとして示される、1D5 Fab と MICA*008α3 ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。MICA*008α3 ドメインの 4.5 Å 以内にあるものとして定義される、1D5 パラトープ中の残基は、図 24C においてそれらの残基番号とともに強調され、それらの側鎖がスティックとして示される。1D5 Fab の 4.5 Å 以内にあるものとして定義される、1D5 エピトープ中の MICA*008α3 ドメイン残基は、図 24D においてそれらの残基番号とともに強調され、それらの側鎖がスティックとして示される。

10

【図 24-2】図 24A 及び図 24B はそれぞれ表面として示される、1D5 Fab と MICA*008α3 ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。MICA*008α3 ドメインの 4.5 Å 以内にあるものとして定義される、1D5 パラトープ中の残基は、図 24A においてそれらの残基番号とともに強調される。1D5 Fab の 4.5 Å 以内にあるものとして定義される、1D5 エピトープ中の MICA*008α3 ドメイン残基は、図 24B においてそれらの残基番号とともに強調される。図 24C 及び図 24D はそれぞれリボンダイアグラムとして示される、1D5 Fab と MICA*008α3 ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。MICA*008α3 ドメインの 4.5 Å 以内にあるものとして定義される、1D5 パラトープ中の残基は、図 24C においてそれらの残基番号とともに強調され、それらの側鎖がスティックとして示される。1D5 Fab の 4.5 Å 以内にあるものとして定義される、1D5 エピトープ中の MICA*008α3 ドメイン残基は、図 24D においてそれらの残基番号とともに強調され、それらの側鎖がスティックとして示される。

20

【図 25A】図 25A 及び図 25B は 1D5 の LC 及び MICA*008α3 ドメインの残基間の水素結合を強調する。HC は、LC 相互作用を見やすくするために描写されない。図 25C 及び図 25D は 1D5 の HC 及び MICA*008α3 ドメインの残基間の水素結合を強調する。LC は、HC 相互作用を見やすくするために描写されない。

30

【図 25B】図 25A 及び図 25B は 1D5 の LC 及び MICA*008α3 ドメインの残基間の水素結合を強調する。HC は、LC 相互作用を見やすくするために描写されない。図 25C 及び図 25D は 1D5 の HC 及び MICA*008α3 ドメインの残基間の水素結合を強調する。LC は、HC 相互作用を見やすくするために描写されない。

【図 25C】図 25A 及び図 25B は 1D5 の LC 及び MICA*008α3 ドメインの残基間の水素結合を強調する。HC は、LC 相互作用を見やすくするために描写されない。図 25C 及び図 25D は 1D5 の HC 及び MICA*008α3 ドメインの残基間の水素結合を強調する。LC は、HC 相互作用を見やすくするために描写されない。

40

【図 25D】図 25A 及び図 25B は 1D5 の LC 及び MICA*008α3 ドメインの残基間の水素結合を強調する。HC は、LC 相互作用を見やすくするために描写されない。図 25C 及び図 25D は 1D5 の HC 及び MICA*008α3 ドメインの残基間の水素結合を強調する。LC は、HC 相互作用を見やすくするために描写されない。

【図 26】図 26A 及び図 26B はそれぞれ Pymol で計算されるように色付けされた静電表面電位を有する表面として示される、1D5 Fab と MICA*008α3 ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。MICA*008α3 ドメインの 4.5 Å 以内にあるものとして定義される、1D5 パラトープ中の残基は、図 26A においてそれらの残基番号とともに強調される。1D5 Fab の 4.5 Å 以内にあるものとして定義される、1D5 エピトープ中の MICA*008α3 ドメイン残基は、図 26B におい

50

てそれらの残基番号とともに強調される。

【図 27-1】図 27A 及び図 27B は 240 台ループが強調された、それぞれリボンダイアグラムまたは表面表現として描写される MICA*008 α 3 ドメイン構造を示す。図 27C は L3 及び H3 CDR が強調され、セリン及びグリシンなどのこれらの CDR の小さな残基が残基番号によって示される、リボンダイアグラムとしての 1D5 Fab 構造を示す。これらのセリンの側鎖はスティックとして示される。図 27D～図 27E は MICA*008 α 3 ドメインの凸状 240 台ループとこれらの CDR の配向及び一次配列によって作製された凹状表面との形状相補性を例証するために異なる角度から示される、MICA*008 α 3 ドメインに結合した 1D5 Fab CDR L3 及び H3 の結晶構造のレンダリングである。MICA*008 α 3 ドメインは 240 台ループが強調された表面として、1D5 Fab の L3 及び H3 CDR はリボンダイアグラムとして描写される。1D5 パラトープ (MICA*008 α 3 ドメインの 4.5 Å 以内) の一部として定義される L3 及び H3 内のセリン残基は、それらの側鎖がスティックとして示される。図 27F 及び図 27G は異なる角度から示される、それぞれ MICA*008 α 3 ドメインに結合した 1D5 Fab LC 及び HC の結晶構造のレンダリングである。見やすくするために、Fab の 1 つの鎖のみが描写される。MICA*008 α 3 ドメインの 240 台ループが強調される。1D5 パラトープ (MICA*008 α 3 ドメインの 4.5 Å 以内) の一部として定義される LC または HC のいずれかの CDR 残基は、それらの側鎖がスティックとして示される。

10

【図 27-2】図 27A 及び図 27B は 240 台ループが強調された、それぞれリボンダイアグラムまたは表面表現として描写される MICA*008 α 3 ドメイン構造を示す。図 27C は L3 及び H3 CDR が強調され、セリン及びグリシンなどのこれらの CDR の小さな残基が残基番号によって示される、リボンダイアグラムとしての 1D5 Fab 構造を示す。これらのセリンの側鎖はスティックとして示される。図 27D～図 27E は MICA*008 α 3 ドメインの凸状 240 台ループとこれらの CDR の配向及び一次配列によって作製された凹状表面との形状相補性を例証するために異なる角度から示される、MICA*008 α 3 ドメインに結合した 1D5 Fab CDR L3 及び H3 の結晶構造のレンダリングである。MICA*008 α 3 ドメインは 240 台ループが強調された表面として、1D5 Fab の L3 及び H3 CDR はリボンダイアグラムとして描写される。1D5 パラトープ (MICA*008 α 3 ドメインの 4.5 Å 以内) の一部として定義される L3 及び H3 内のセリン残基は、それらの側鎖がスティックとして示される。図 27F 及び図 27G は異なる角度から示される、それぞれ MICA*008 α 3 ドメインに結合した 1D5 Fab LC 及び HC の結晶構造のレンダリングである。見やすくするために、Fab の 1 つの鎖のみが描写される。MICA*008 α 3 ドメインの 240 台ループが強調される。1D5 パラトープ (MICA*008 α 3 ドメインの 4.5 Å 以内) の一部として定義される LC または HC のいずれかの CDR 残基は、それらの側鎖がスティックとして示される。

20

30

【図 27-3】図 27A 及び図 27B は 240 台ループが強調された、それぞれリボンダイアグラムまたは表面表現として描写される MICA*008 α 3 ドメイン構造を示す。図 27C は L3 及び H3 CDR が強調され、セリン及びグリシンなどのこれらの CDR の小さな残基が残基番号によって示される、リボンダイアグラムとしての 1D5 Fab 構造を示す。これらのセリンの側鎖はスティックとして示される。図 27D～図 27E は MICA*008 α 3 ドメインの凸状 240 台ループとこれらの CDR の配向及び一次配列によって作製された凹状表面との形状相補性を例証するために異なる角度から示される、MICA*008 α 3 ドメインに結合した 1D5 Fab CDR L3 及び H3 の結晶構造のレンダリングである。MICA*008 α 3 ドメインは 240 台ループが強調された表面として、1D5 Fab の L3 及び H3 CDR はリボンダイアグラムとして描写される。1D5 パラトープ (MICA*008 α 3 ドメインの 4.5 Å 以内) の一部として定義される L3 及び H3 内のセリン残基は、それらの側鎖がスティックとして示される。図 27F 及び図 27G は異なる角度から示される、それぞれ MICA*008 α 3 ド

40

50

メインに結合した 1 D 5 F a b L C 及び H C の結晶構造のレンダリングである。見やすくするために、F a b の 1 つの鎖のみが描写される。M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの 2 4 0 台ループが強調される。1 D 5 パラトープ (M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの 4 . 5 Å 以内) の一部として定義される L C または H C のいずれかの C D R 残基は、それらの側鎖がスティックとして示される。

【図 2 7 - 4】図 2 7 A 及び図 2 7 B は 2 4 0 台ループが強調された、それぞれリボンダイアグラムまたは表面表現として描写される M I C A * 0 0 8 α 3 ドメイン構造を示す。図 2 7 C は L 3 及び H 3 C D R が強調され、セリン及びグリシンなどのこれらの C D R の小さな残基が残基番号によって示される、リボンダイアグラムとしての 1 D 5 F a b 構造を示す。これらのセリンの側鎖はスティックとして示される。図 2 7 D ~ 図 2 7 E は M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの凸状 2 4 0 台ループとこれらの C D R の配向及び一次配列によって作製された凹状表面との形状相補性を例証するために異なる角度から示される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 1 D 5 F a b C D R L 3 及び H 3 の結晶構造のレンダリングである。M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインは 2 4 0 台ループが強調された表面として、1 D 5 F a b の L 3 及び H 3 C D R はリボンダイアグラムとして描写される。1 D 5 パラトープ (M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの 4 . 5 Å 以内) の一部として定義される L 3 及び H 3 内のセリン残基は、それらの側鎖がスティックとして示される。図 2 7 F 及び図 2 7 G は異なる角度から示される、それぞれ M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 1 D 5 F a b L C 及び H C の結晶構造のレンダリングである。見やすくするために、F a b の 1 つの鎖のみが描写される。M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの 2 4 0 台ループが強調される。1 D 5 パラトープ (M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの 4 . 5 Å 以内) の一部として定義される L C または H C のいずれかの C D R 残基は、それらの側鎖がスティックとして示される。

【図 2 8 A】図 2 8 A ~ 図 2 8 D は異なる角度から示される M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 1 3 A 9 F a b の結晶構造のレンダリングであり、F a b は表面として、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。カルボキシ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「前面」、及びアミノ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「背面」は、アミノ末端 (N 末端) 及びカルボキシ末端 (C 末端) とともに強調される。

【図 2 8 B】図 2 8 A ~ 図 2 8 D は異なる角度から示される M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 1 3 A 9 F a b の結晶構造のレンダリングであり、F a b は表面として、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。カルボキシ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「前面」、及びアミノ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「背面」は、アミノ末端 (N 末端) 及びカルボキシ末端 (C 末端) とともに強調される。

【図 2 8 C】図 2 8 A ~ 図 2 8 D は異なる角度から示される M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 1 3 A 9 F a b の結晶構造のレンダリングであり、F a b は表面として、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。カルボキシ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「前面」、及びアミノ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「背面」は、アミノ末端 (N 末端) 及びカルボキシ末端 (C 末端) とともに強調される。

【図 2 8 D】図 2 8 A ~ 図 2 8 D は異なる角度から示される M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 1 3 A 9 F a b の結晶構造のレンダリングであり、F a b は表面として、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。カルボキシ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「前面」、及びアミノ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「背面」は、アミノ末端 (N 末端) 及びカルボキ

シ末端（C末端）とともに強調される。

【図29】図29A及び図29Bは異なる角度から示される、MICA*008α3ドメインに結合した13A9 Fab CDRの結晶構造のレンダリングである。MICA*008α3ドメインは表面として、13A9 FabのCDRはリボンダイアグラムとして描写される。13A9パラトープ（MICA*008α3ドメインの4.5 Å以内）の一部として定義される残基は、それらの側鎖がスティックとして示される。

【図30-1】図30A～図30Bはそれぞれ表面として示される、13A9 FabとMICA*008α3ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。MICA*008α3ドメインの4.5 Å以内にあるものとして定義される、13A9パラトープ中の残基は、図30Aにおいてそれらの残基番号とともに強調される。13A9 Fabの4.5 Å以内にあるものとして定義される、13A9エプトープ中のMICA*008α3ドメイン残基は、図30Bにおいてそれらの残基番号とともに強調される。図30C～図30Dはそれぞれリボンダイアグラムとして示される、13A9 FabとMICA*008α3ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。MICA*008α3ドメインの4.5 Å以内にあるものとして定義される、13A9パラトープ中の残基は、図30Cにおいてそれらの残基番号とともに強調され、それらの側鎖がスティックとして示される。13A9 Fabの4.5 Å以内にあるものとして定義される、13A9エプトープ中のMICA*008α3ドメイン残基は、図30Dにおいてそれらの残基番号とともに強調され、それらの側鎖がスティックとして示される。

【図30-2】図30A～図30Bはそれぞれ表面として示される、13A9 FabとMICA*008α3ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。MICA*008α3ドメインの4.5 Å以内にあるものとして定義される、13A9パラトープ中の残基は、図30Aにおいてそれらの残基番号とともに強調される。13A9 Fabの4.5 Å以内にあるものとして定義される、13A9エプトープ中のMICA*008α3ドメイン残基は、図30Bにおいてそれらの残基番号とともに強調される。図30C～図30Dはそれぞれリボンダイアグラムとして示される、13A9 FabとMICA*008α3ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。MICA*008α3ドメインの4.5 Å以内にあるものとして定義される、13A9パラトープ中の残基は、図30Cにおいてそれらの残基番号とともに強調され、それらの側鎖がスティックとして示される。13A9 Fabの4.5 Å以内にあるものとして定義される、13A9エプトープ中のMICA*008α3ドメイン残基は、図30Dにおいてそれらの残基番号とともに強調され、それらの側鎖がスティックとして示される。

【図31A】図31Aは13A9のLC及びMICA*008α3ドメインの残基間の水素結合を強調する。HCは、LC相互作用を見やすくするために描写されない。図31B～図31Dは13A9のHC及びMICA*008α3ドメインの残基間の水素結合を強調する。LCは、HC相互作用を見やすくするために描写されない。

【図31B】図31Aは13A9のLC及びMICA*008α3ドメインの残基間の水素結合を強調する。HCは、LC相互作用を見やすくするために描写されない。図31B～図31Dは13A9のHC及びMICA*008α3ドメインの残基間の水素結合を強調する。LCは、HC相互作用を見やすくするために描写されない。

【図31C】図31Aは13A9のLC及びMICA*008α3ドメインの残基間の水素結合を強調する。HCは、LC相互作用を見やすくするために描写されない。図31B～図31Dは13A9のHC及びMICA*008α3ドメインの残基間の水素結合を強調する。LCは、HC相互作用を見やすくするために描写されない。

【図31D】図31Aは13A9のLC及びMICA*008α3ドメインの残基間の水素結合を強調する。HCは、LC相互作用を見やすくするために描写されない。図31B～図31Dは13A9のHC及びMICA*008α3ドメインの残基間の水素結合を強調する。LCは、HC相互作用を見やすくするために描写されない。

【図32】図32A～図32BはそれぞれPymolで計算されるように色付けされた静電表面電位を有する表面として示される、13A9 FabとMICA*008α3ドメ

インとの間の界面のオーブンブック表現である。M I C A * 0 0 8 α 3ドメインの4. 5 Å以内にあるものとして定義される、1 3 A 9 パラトープ中の残基は、図 3 2 Aにおいてそれらの残基番号とともに強調される。1 3 A 9 F a bの4. 5 Å以内にあるものとして定義される、1 3 A 9 エピトープ中のM I C A * 0 0 8 α 3ドメイン残基は、図 3 2 Bにおいてそれらの残基番号とともに強調される。

【図 3 3 - 1】図 3 3 A及び図 3 3 BはM I C A * 0 0 8 α 3ドメインの「前面」に作製される隆起及び窪みを例証するために残基 2 4 0 - 2 4 5、2 7 7 - 2 7 9、及び2 8 8 - 2 9 7が強調された、それぞれリボンダイアグラムまたは表面表現として描写されるM I C A * 0 0 8 α 3ドメイン構造を示す。図 3 3 CはF a b C D Rがリボンダイアグラムとして、M I C A * 0 0 8 α 3ドメインが表面として示された、1 3 A 9 F a b - M I C A * 0 0 8 α 3ドメイン複合体構造のレンダリングであり、6つ全てのC D Rが強調され、パラトープ（M I C A * 0 0 8 α 3ドメインの4. 5 Å以内）中の残基の側鎖がスティックとして示される。M I C A * 0 0 8 α 3ドメインの残基 2 4 0 - 2 4 5、2 7 7 - 2 7 9、及び2 8 8 - 2 9 7も、1 3 A 9 F a bがこれらのM I C A * 0 0 8 残基によって作製された隆起及び溝にわたって結合することを例証するためにM I C A * 0 0 8 表面上で強調される。図 3 3 D及び図 3 3 EはM I C A * 0 0 8 α 3ドメインの残基 2 4 0 - 2 4 5、2 7 7 - 2 7 9、及び2 8 8 - 2 9 7の隆起と窪みとの形状相補性ならびに窪みを埋めるかまたは隆起に架かる1 3 A 9 F a bの側鎖を例証するために異なる角度から示される、M I C A * 0 0 8 α 3ドメインに結合した1 3 A 9 C D Rの結晶構造のレンダリングである。1 3 A 9 パラトープ（M I C A * 0 0 8 α 3ドメインの4. 5 Å以内）中の残基の側鎖がスティックとして示される。

【図 3 3 - 2】図 3 3 A及び図 3 3 BはM I C A * 0 0 8 α 3ドメインの「前面」に作製される隆起及び窪みを例証するために残基 2 4 0 - 2 4 5、2 7 7 - 2 7 9、及び2 8 8 - 2 9 7が強調された、それぞれリボンダイアグラムまたは表面表現として描写されるM I C A * 0 0 8 α 3ドメイン構造を示す。図 3 3 CはF a b C D Rがリボンダイアグラムとして、M I C A * 0 0 8 α 3ドメインが表面として示された、1 3 A 9 F a b - M I C A * 0 0 8 α 3ドメイン複合体構造のレンダリングであり、6つ全てのC D Rが強調され、パラトープ（M I C A * 0 0 8 α 3ドメインの4. 5 Å以内）中の残基の側鎖がスティックとして示される。M I C A * 0 0 8 α 3ドメインの残基 2 4 0 - 2 4 5、2 7 7 - 2 7 9、及び2 8 8 - 2 9 7も、1 3 A 9 F a bがこれらのM I C A * 0 0 8 残基によって作製された隆起及び溝にわたって結合することを例証するためにM I C A * 0 0 8 表面上で強調される。図 3 3 D及び図 3 3 EはM I C A * 0 0 8 α 3ドメインの残基 2 4 0 - 2 4 5、2 7 7 - 2 7 9、及び2 8 8 - 2 9 7の隆起と窪みとの形状相補性ならびに窪みを埋めるかまたは隆起に架かる1 3 A 9 F a bの側鎖を例証するために異なる角度から示される、M I C A * 0 0 8 α 3ドメインに結合した1 3 A 9 C D Rの結晶構造のレンダリングである。1 3 A 9 パラトープ（M I C A * 0 0 8 α 3ドメインの4. 5 Å以内）中の残基の側鎖がスティックとして示される。

【図 3 3 - 3】図 3 3 A及び図 3 3 BはM I C A * 0 0 8 α 3ドメインの「前面」に作製される隆起及び窪みを例証するために残基 2 4 0 - 2 4 5、2 7 7 - 2 7 9、及び2 8 8 - 2 9 7が強調された、それぞれリボンダイアグラムまたは表面表現として描写されるM I C A * 0 0 8 α 3ドメイン構造を示す。図 3 3 CはF a b C D Rがリボンダイアグラムとして、M I C A * 0 0 8 α 3ドメインが表面として示された、1 3 A 9 F a b - M I C A * 0 0 8 α 3ドメイン複合体構造のレンダリングであり、6つ全てのC D Rが強調され、パラトープ（M I C A * 0 0 8 α 3ドメインの4. 5 Å以内）中の残基の側鎖がスティックとして示される。M I C A * 0 0 8 α 3ドメインの残基 2 4 0 - 2 4 5、2 7 7 - 2 7 9、及び2 8 8 - 2 9 7も、1 3 A 9 F a bがこれらのM I C A * 0 0 8 残基によって作製された隆起及び溝にわたって結合することを例証するためにM I C A * 0 0 8 表面上で強調される。図 3 3 D及び図 3 3 EはM I C A * 0 0 8 α 3ドメインの残基 2 4 0 - 2 4 5、2 7 7 - 2 7 9、及び2 8 8 - 2 9 7の隆起と窪みとの形状相補性ならびに窪みを埋めるかまたは隆起に架かる1 3 A 9 F a bの側鎖を例証するために異なる角度

から示される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 1 3 A 9 C D R の結晶構造のレンダリングである。1 3 A 9 パラトープ (M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの 4 . 5 Å 以内) 中の残基の側鎖がスティックとして示される。

【図 3 4 A】図 3 4 A ~ 図 3 4 D は異なる角度から示される C 2 7 3 S M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 6 E 1 (別名 6 E 1 . 1 . 1 2) F a b の結晶構造のレンダリングであり、F a b は表面として、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。カルボキシ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「前面」、及びアミノ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「背面」は、アミノ末端 (N 末端) 及びカルボキシ末端 (C 末端) とともに強調される。

10

【図 3 4 B】図 3 4 A ~ 図 3 4 D は異なる角度から示される C 2 7 3 S M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 6 E 1 (別名 6 E 1 . 1 . 1 2) F a b の結晶構造のレンダリングであり、F a b は表面として、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。カルボキシ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「前面」、及びアミノ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「背面」は、アミノ末端 (N 末端) 及びカルボキシ末端 (C 末端) とともに強調される。

【図 3 4 C】図 3 4 A ~ 図 3 4 D は異なる角度から示される C 2 7 3 S M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 6 E 1 (別名 6 E 1 . 1 . 1 2) F a b の結晶構造のレンダリングであり、F a b は表面として、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。カルボキシ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「前面」、及びアミノ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「背面」は、アミノ末端 (N 末端) 及びカルボキシ末端 (C 末端) とともに強調される。

20

【図 3 4 D】図 3 4 A ~ 図 3 4 D は異なる角度から示される C 2 7 3 S M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 6 E 1 (別名 6 E 1 . 1 . 1 2) F a b の結晶構造のレンダリングであり、F a b は表面として、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。カルボキシ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「前面」、及びアミノ末端鎖を含有する I g ドメインのベータシートとして定義される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの「背面」は、アミノ末端 (N 末端) 及びカルボキシ末端 (C 末端) とともに強調される。

30

【図 3 5】図 3 5 A 及び図 3 5 B は異なる角度から示される、M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに結合した 6 E 1 F a b C D R の結晶構造のレンダリングである。M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインは表面として、6 E 1 F a b の C D R はリボンダイアグラムとして描写される。6 E 1 パラトープ (M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの 4 . 5 Å 以内) の一部として定義される残基は、それらの側鎖がスティックとして示される。C D R L 3 は M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインに全く接触しないことが留意される。

【図 3 6 - 1】図 3 6 A 及び図 3 6 B はそれぞれ表面として示される、6 E 1 F a b と M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインの 4 . 5 Å 以内にあるものとして定義される、6 E 1 パラトープ中の残基は、図 3 6 A においてそれらの残基番号とともに強調される。6 E 1 F a b の 4 . 5 Å 以内にあるものとして定義される、6 E 1 エピトープ中の M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメイン残基は、図 3 6 B においてそれらの残基番号とともに強調される。図 3 6 C 及び図 3 6 D はそれぞれリボンダイアグラムとして示される、6 E 1 F a b と M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの 4 . 5 Å 以内にあるものとして定義される、6 E 1 パラトープ中の残基は、図 3 6 C においてそれらの残基番号とともに強調され、それらの側鎖がスティックとして示される。6 E 1 F a b の 4 . 5 Å 以内にあるものとして定義される、6 E 1 エピトープ中の M I C A * 0 0 8 α 3 ドメイン残基は、図 3 6 D においてそれらの残基番号とともに強調され、それらの側鎖がスティックとして示される。

40

50

【図 3 6 - 2】図 3 6 A 及び図 3 6 B はそれぞれ表面として示される、6 E 1 F a b と M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインの 4. 5 Å 以内にあるものとして定義される、6 E 1 パラトープ中の残基は、図 3 6 A においてそれらの残基番号とともに強調される。6 E 1 F a b の 4. 5 Å 以内にあるものとして定義される、6 E 1 エピトープ中の M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメイン残基は、図 3 6 B においてそれらの残基番号とともに強調される。図 3 6 C 及び図 3 6 D はそれぞれリボンダイアグラムとして示される、6 E 1 F a b と M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの 4. 5 Å 以内にあるものとして定義される、6 E 1 パラトープ中の残基は、図 3 6 C においてそれらの残基番号とともに強調され、それらの側鎖がスティックとして示される。6 E 1 F a b の 4. 5 Å 以内にあるものとして定義される、6 E 1 エピトープ中の M I C A * 0 0 8 α 3 ドメイン残基は、図 3 6 D においてそれらの残基番号とともに強調され、それらの側鎖がスティックとして示される。

10

【図 3 7 A】図 3 7 A は 6 E 1 の L C 及び M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインの残基間の水素結合及び塩橋を強調する。H C は、L C 相互作用を見やすくするために描写されない。図 3 7 B 及び図 3 7 C は 6 E 1 の H C 及び M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインの残基間の水素結合及び塩橋を強調する。L C は、H C 相互作用を見やすくするために描写されない。

【図 3 7 B】図 3 7 A は 6 E 1 の L C 及び M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインの残基間の水素結合及び塩橋を強調する。H C は、L C 相互作用を見やすくするために描写されない。図 3 7 B 及び図 3 7 C は 6 E 1 の H C 及び M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインの残基間の水素結合及び塩橋を強調する。L C は、H C 相互作用を見やすくするために描写されない。

20

【図 3 7 C】図 3 7 A は 6 E 1 の L C 及び M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインの残基間の水素結合及び塩橋を強調する。H C は、L C 相互作用を見やすくするために描写されない。図 3 7 B 及び図 3 7 C は 6 E 1 の H C 及び M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインの残基間の水素結合及び塩橋を強調する。L C は、H C 相互作用を見やすくするために描写されない。

【図 3 8】図 3 8 A 及び図 3 8 B はそれぞれ P y m o l で計算されるように色付けされた静電表面電位を有する表面として示される、6 E 1 F a b と M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインとの間の界面のオープンブック表現である。M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインの 4. 5 Å 以内にあるものとして定義される、6 E 1 パラトープ中の残基は、図 1 7 A においてそれらの残基番号とともに強調される。6 E 1 F a b の 4. 5 Å 以内にあるものとして定義される、6 E 1 エピトープ中の M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメイン残基は、図 1 7 B においてそれらの残基番号とともに強調される。

30

【図 3 9 - 1】図 3 9 A 及び図 3 9 B はこの C D R の長さの延長を例証するために C D R L 1 が強調された、2 つの異なる配向でのリボンダイアグラム表現として描写される 6 E 1 F a b を示す。図 3 9 C 及び図 3 9 D は 2 5 0 台ループが強調された、それぞれリボンダイアグラムまたは表面表現として描写される 6 E 1 F a b 複合体構造からの M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインを示す。図 3 9 E 及び図 3 9 F はリボンダイアグラムとして描写される M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインに結合した表面として示される 6 E 1 F a b の結晶構造のレンダリングである。この相互作用は、6 E 1 の長い C D R L 1 によって生成された溝における M I C A * 0 0 8 の 2 5 0 台ループの結合を例証するために異なる角度から示される。2 5 0 台ループにおける残基の側鎖はスティックとして示される。図 3 9 G は 6 E 1 F a b ペプチド結合溝における L e u 2 5 7 の疎水性結合ポケットを描写する。このポケットは 6 E 1 F a b の C D R L 1、H 1、及び H 3 からなり、これらの残基の側鎖はスティックとして示される。図 3 9 H は 6 E 1 F a b ペプチド結合溝における A s p 2 5 5 の親水性結合ポケットを描写する。このポケットは 6 E 1 F a b の C D R L 1、L 2、及び H 3 の残基からなり、これらの残基の側鎖はスティックとして示される。

40

50

【図 3 9 - 2】図 3 9 A 及び図 3 9 B はこの C D R の長さの延長を例証するために C D R L 1 が強調された、2 つの異なる配向でのリボンダイアグラム表現として描写される 6 E 1 F a b を示す。図 3 9 C 及び図 3 9 D は 2 5 0 台ループが強調された、それぞれリボンダイアグラムまたは表面表現として描写される 6 E 1 F a b 複合体構造からの M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインを示す。図 3 9 E 及び図 3 9 F はリボンダイアグラムとして描写される M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインに結合した表面として示される 6 E 1 F a b の結晶構造のレンダリングである。この相互作用は、6 E 1 の長い C D R L 1 によって生成された溝における M I C A * 0 0 8 の 2 5 0 台ループの結合を例証するために異なる角度から示される。2 5 0 台ループにおける残基の側鎖はスティックとして示される。図 3 9 G は 6 E 1 F a b ペプチド結合溝における L e u 2 5 7 の疎水性結合ポケットを描写する。このポケットは 6 E 1 F a b の C D R L 1、H 1、及び H 3 からなり、これらの残基の側鎖はスティックとして示される。図 3 9 H は 6 E 1 F a b ペプチド結合溝における A s p 2 5 5 の親水性結合ポケットを描写する。このポケットは 6 E 1 F a b の C D R L 1、L 2、及び H 3 の残基からなり、これらの残基の側鎖はスティックとして示される。

10

【図 3 9 - 3】図 3 9 A 及び図 3 9 B はこの C D R の長さの延長を例証するために C D R L 1 が強調された、2 つの異なる配向でのリボンダイアグラム表現として描写される 6 E 1 F a b を示す。図 3 9 C 及び図 3 9 D は 2 5 0 台ループが強調された、それぞれリボンダイアグラムまたは表面表現として描写される 6 E 1 F a b 複合体構造からの M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインを示す。図 3 9 E 及び図 3 9 F はリボンダイアグラムとして描写される M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインに結合した表面として示される 6 E 1 F a b の結晶構造のレンダリングである。この相互作用は、6 E 1 の長い C D R L 1 によって生成された溝における M I C A * 0 0 8 の 2 5 0 台ループの結合を例証するために異なる角度から示される。2 5 0 台ループにおける残基の側鎖はスティックとして示される。図 3 9 G は 6 E 1 F a b ペプチド結合溝における L e u 2 5 7 の疎水性結合ポケットを描写する。このポケットは 6 E 1 F a b の C D R L 1、H 1、及び H 3 からなり、これらの残基の側鎖はスティックとして示される。図 3 9 H は 6 E 1 F a b ペプチド結合溝における A s p 2 5 5 の親水性結合ポケットを描写する。このポケットは 6 E 1 F a b の C D R L 1、L 2、及び H 3 の残基からなり、これらの残基の側鎖はスティックとして示される。

20

30

【図 3 9 - 4】図 3 9 A 及び図 3 9 B はこの C D R の長さの延長を例証するために C D R L 1 が強調された、2 つの異なる配向でのリボンダイアグラム表現として描写される 6 E 1 F a b を示す。図 3 9 C 及び図 3 9 D は 2 5 0 台ループが強調された、それぞれリボンダイアグラムまたは表面表現として描写される 6 E 1 F a b 複合体構造からの M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインを示す。図 3 9 E 及び図 3 9 F はリボンダイアグラムとして描写される M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインに結合した表面として示される 6 E 1 F a b の結晶構造のレンダリングである。この相互作用は、6 E 1 の長い C D R L 1 によって生成された溝における M I C A * 0 0 8 の 2 5 0 台ループの結合を例証するために異なる角度から示される。2 5 0 台ループにおける残基の側鎖はスティックとして示される。図 3 9 G は 6 E 1 F a b ペプチド結合溝における L e u 2 5 7 の疎水性結合ポケットを描写する。このポケットは 6 E 1 F a b の C D R L 1、H 1、及び H 3 からなり、これらの残基の側鎖はスティックとして示される。図 3 9 H は 6 E 1 F a b ペプチド結合溝における A s p 2 5 5 の親水性結合ポケットを描写する。このポケットは 6 E 1 F a b の C D R L 1、L 2、及び H 3 の残基からなり、これらの残基の側鎖はスティックとして示される。

40

【図 3 9 - 5】図 3 9 A 及び図 3 9 B はこの C D R の長さの延長を例証するために C D R L 1 が強調された、2 つの異なる配向でのリボンダイアグラム表現として描写される 6 E 1 F a b を示す。図 3 9 C 及び図 3 9 D は 2 5 0 台ループが強調された、それぞれリボンダイアグラムまたは表面表現として描写される 6 E 1 F a b 複合体構造からの M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインを示す。図 3 9 E 及び図 3 9 F はリボンダイアグ

50

ラムとして描写されるMICA*008 C273S α 3ドメインに結合した表面として示される6E1 Fabの結晶構造のレンダリングである。この相互作用は、6E1の長いCDR L1によって生成された溝におけるMICA*008の250台ループの結合を例証するために異なる角度から示される。250台ループにおける残基の側鎖はスティックとして示される。図39Gは6E1 Fabペプチド結合溝におけるLeu257の疎水性結合ポケットを描写する。このポケットは6E1 FabのCDR L1、H1、及びH3からなり、これらの残基の側鎖はスティックとして示される。図39Hは6E1 Fabペプチド結合溝におけるAsp255の親水性結合ポケットを描写する。このポケットは6E1 FabのCDR L1、L2、及びH3の残基からなり、これらの残基の側鎖はスティックとして示される。

10

【図39-6】図39A及び図39BはこのCDRの長さの延長を例証するためにCDR L1が強調された、2つの異なる配向でのリボンダイヤグラム表現として描写される6E1 Fabを示す。図39C及び図39Dは250台ループが強調された、それぞれリボンダイヤグラムまたは表面表現として描写される6E1 Fab複合体構造からのMICA*008 C273S α 3ドメインを示す。図39E及び図39Fはリボンダイヤグラムとして描写されるMICA*008 C273S α 3ドメインに結合した表面として示される6E1 Fabの結晶構造のレンダリングである。この相互作用は、6E1の長いCDR L1によって生成された溝におけるMICA*008の250台ループの結合を例証するために異なる角度から示される。250台ループにおける残基の側鎖はスティックとして示される。図39Gは6E1 Fabペプチド結合溝におけるLeu257の疎水性結合ポケットを描写する。このポケットは6E1 FabのCDR L1、H1、及びH3からなり、これらの残基の側鎖はスティックとして示される。図39Hは6E1 Fabペプチド結合溝におけるAsp255の親水性結合ポケットを描写する。このポケットは6E1 FabのCDR L1、L2、及びH3の残基からなり、これらの残基の側鎖はスティックとして示される。

20

【図40A】図40AはMICAに対して互いに重ね合わされた、1D5 Fab-MICA*008 α 3ドメイン複合体、13A9 Fab-MICA*008 α 3ドメイン複合体、及び6E1 Fab-MICA*008 C273S α 3ドメイン複合体の結晶構造のレンダリングであり、1D5及び13A9がMICA*008 α 3ドメインの「前面」に重複するエピトープを有し、6E1が α 3ドメインの「背面」に結合することを示す。図40Bは1D5 Fabエピトープ（1D5 Fabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基）、13A9 Fabエピトープ（13A9 Fabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基）、ならびに組み合わされた1D5及び13A9の両方のエピトープが、色で強調されたMICA*008 α 3ドメインの表面にマッピングされた、MICA*008 α 3ドメインの表面表現である。図40Cは1D5 Fabエピトープ（1D5 Fabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基）、13A9 Fabエピトープ（13A9 Fabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基）、ならびに組み合わされた1D5及び13A9の両方のエピトープが、MICA*008 α 3ドメインのリボンダイヤグラムにマッピングされた、MICA*008 α 3ドメインのリボンダイヤグラム表現である。定義されたエピトープ中の残基の側鎖はスティックとして示され、色付けされる。

30

40

【図40B】図40AはMICAに対して互いに重ね合わされた、1D5 Fab-MICA*008 α 3ドメイン複合体、13A9 Fab-MICA*008 α 3ドメイン複合体、及び6E1 Fab-MICA*008 C273S α 3ドメイン複合体の結晶構造のレンダリングであり、1D5及び13A9がMICA*008 α 3ドメインの「前面」に重複するエピトープを有し、6E1が α 3ドメインの「背面」に結合することを示す。図40Bは1D5 Fabエピトープ（1D5 Fabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基）、13A9 Fabエピトープ（13A9 Fabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基）、ならびに組み合わされた1D5及び13A9の両方のエピトープが、色で強調されたMICA*008 α 3ドメインの表面にマッピン

50

グされた、MICA*008 α 3ドメインの表面表現である。図40Cは1D5 Fab エピトープ（1D5 Fabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基）、13A9 Fab エピトープ（13A9 Fabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基）、ならびに組み合わされた1D5及び13A9の両方のエピトープが、MICA*008 α 3ドメインのリボンダイアグラムにマッピングされた、MICA*008 α 3ドメインのリボンダイアグラム表現である。定義されたエピトープ中の残基の側鎖はスティックとして示され、色付けされる。

【図40C】図40AはMICAに対して互いに重ね合わされた、1D5 Fab-MICA*008 α 3ドメイン複合体、13A9 Fab-MICA*008 α 3ドメイン複合体、及び6E1 Fab-MICA*008 C273S α 3ドメイン複合体の結晶構造のレンダリングであり、1D5及び13A9がMICA*008 α 3ドメインの「前面」に重複するエピトープを有し、6E1が α 3ドメインの「背面」に結合することを示す。図40Bは1D5 Fab エピトープ（1D5 Fabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基）、13A9 Fab エピトープ（13A9 Fabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基）、ならびに組み合わされた1D5及び13A9の両方のエピトープが、色で強調されたMICA*008 α 3ドメインの表面にマッピングされた、MICA*008 α 3ドメインの表面表現である。図40Cは1D5 Fab エピトープ（1D5 Fabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基）、13A9 Fab エピトープ（13A9 Fabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基）、ならびに組み合わされた1D5及び13A9の両方のエピトープが、MICA*008 α 3ドメインのリボンダイアグラムにマッピングされた、MICA*008 α 3ドメインのリボンダイアグラム表現である。定義されたエピトープ中の残基の側鎖はスティックとして示され、色付けされる。

【図41A】図41AはMICA*001 α 3ドメイン（残基204-297）及びストーク領域（残基298-313、下線）の配列を描写する。C1R細胞（Walldhauer, I. et al., (2008) Cancer Research 68:6368）及びTRAMP C2細胞（Wang, X. et al., (2009) BBRC 387:476）から報告されたMICA*001切断部位は、タンパク質配列内でそれぞれ下向き及び上向き矢印によって示される。これらの報告された切断部位の相同残基は、リボンダイアグラムまたは表面表現のいずれかとしてレンダリングされた（13A9 Fab-MICA*008 α 3ドメイン複合体構造から取られた）MICA*008 α 3ドメインの結晶構造にマッピングされる。切断部位は色で強調され、側鎖はリボンダイアグラムにおいてスティックとして示される。図41Bは左にMICA*008 α 3ドメイン構造の表面上にマッピングされた1D5、13A9、及び6E1 Fab エピトープ、右にMICA*008 α 3ドメイン構造の表面上にマッピングされた報告切断部位を並べた比較を示す。1D5、13A9、及び6E1 Fab エピトープの境界も、切断部位を描写するMICA*008 α 3ドメイン構造上に破線で縁取られる。Fab エピトープは、それぞれのFabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基として定義された。切断部位は、Walldhauer, I. et al., (2008) Cancer Research 68:6368及びWang, X. et al., (2009) BBRC 387:476によって報告されたものである。

【図41B】図41AはMICA*001 α 3ドメイン（残基204-297）及びストーク領域（残基298-313、下線）の配列を描写する。C1R細胞（Walldhauer, I. et al., (2008) Cancer Research 68:6368）及びTRAMP C2細胞（Wang, X. et al., (2009) BBRC 387:476）から報告されたMICA*001切断部位は、タンパク質配列内でそれぞれ下向き及び上向き矢印によって示される。これらの報告された切断部位の相同残基は、リボンダイアグラムまたは表面表現のいずれかとしてレンダリングされた（13A9 Fab-MICA*008 α 3ドメイン複合体構造から取られた）MICA*008 α 3ドメインの結晶構造にマッピングされる。切断部位は色で強調され、側鎖はリボンダイアグ

10

20

30

40

50

ラムにおいてスティックとして示される。図 4 1 B は左に M I C A * 0 0 8 α 3 ドメイン構造の表面上にマッピングされた 1 D 5、1 3 A 9、及び 6 E 1 F a b エピトープ、右に M I C A * 0 0 8 α 3 ドメイン構造の表面上にマッピングされた報告切断部位を並べた比較を示す。1 D 5、1 3 A 9、及び 6 E 1 F a b エピトープの境界も、切断部位を描写する M I C A * 0 0 8 α 3 ドメイン構造上に破線で縁取られる。F a b エピトープは、それぞれの F a b の 4. 5 Å 以内の M I C A * 0 0 8 α 3 ドメイン残基として定義された。切断部位は、W a l d h a u e r, I. e t a l., (2008) C a n c e r R e s e a r c h 68:6368 及び W a n g, X. e t a l., (2009) B B R C 387:476 によって報告されたものである。

【図 4 2】レーザに曝露されていない単独の M I C A * 0 0 8 α 3 ドメイン抗原 (M I C A、非曝露)、レーザに曝露された単独の M I C A * 0 0 8 α 3 ドメイン抗原 (M I C A、曝露)、曝露されていない M I C A * 0 0 8 : 1 D 5 F a b 複合体 (複合体、非曝露)、及び曝露された M I C A * 0 0 8 : 1 D 5 F a b 複合体 (複合体、曝露) のいずれかからの還元、脱グリコシル化、及びアルキル化後の試料を、4 ~ 20 % トリス・グリシンゲルに供したことを描写する。枠で囲った領域は、トリプシン及びキモトリプシン消化物ならびにその後の質量分析のために切り取られた M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインを含有するバンドを示す。

【図 4 3 A】M I C A * 0 0 8 : 1 D 5 F a b 複合体、曝露試料からの M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインのトリプシン (図 4 3 A) 及びキモトリプシン (図 4 3 B) 消化物から得られた配列カバレッジを示す。残基付番は α 3 ドメイン構成体の先頭で開始し、最初の 2 つの残基 G 1 及び S 2 はクローニングアーチファクトであり、α 3 ドメインの始まりは、全長 M I C A * 0 0 8 タンパク質の残基 T h r 2 0 4 に対応する T 3 である。α 3 ドメインの終わりは、全長 M I C A * 0 0 8 タンパク質の残基 S e r 2 9 7 に対応する S 9 6 である。これに残基 G 9 7 - S 9 9 (クローニングアーチファクト) 及び H 1 0 0 - H 1 0 7 (H i s 8 精製タグ) が続く。B y o n i c ソフトウェア (P r o t e i n M e t r i c s, P a l o A l t o, C A) を使用して M i c A 配列へのペプチド整列を行った。ピーク強度は図示されるカラースケールによって示される。

【図 4 3 B】M I C A * 0 0 8 : 1 D 5 F a b 複合体、曝露試料からの M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインのトリプシン (図 4 3 A) 及びキモトリプシン (図 4 3 B) 消化物から得られた配列カバレッジを示す。残基付番は α 3 ドメイン構成体の先頭で開始し、最初の 2 つの残基 G 1 及び S 2 はクローニングアーチファクトであり、α 3 ドメインの始まりは、全長 M I C A * 0 0 8 タンパク質の残基 T h r 2 0 4 に対応する T 3 である。α 3 ドメインの終わりは、全長 M I C A * 0 0 8 タンパク質の残基 S e r 2 9 7 に対応する S 9 6 である。これに残基 G 9 7 - S 9 9 (クローニングアーチファクト) 及び H 1 0 0 - H 1 0 7 (H i s 8 精製タグ) が続く。B y o n i c ソフトウェア (P r o t e i n M e t r i c s, P a l o A l t o, C A) を使用して M i c A 配列へのペプチド整列を行った。ピーク強度は図示されるカラースケールによって示される。

【図 4 4】M I C A * 0 0 8 α 3 ドメイン単独に対して M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインが 1 D 5 F a b との複合体に結合している場合の酸化の変化パーセントが M I C A * 0 0 8 α 3 ドメイン構成体残基番号に対してプロットされることを示す。残基付番は α 3 ドメイン構成体の先頭で開始し、最初の 2 つの残基 G 1 及び S 2 はクローニングアーチファクトであり、α 3 ドメインの始まりは、全長 M I C A * 0 0 8 タンパク質の残基 T h r 2 0 4 に対応する T 3 である。α 3 ドメインの終わりは、全長 M I C A * 0 0 8 タンパク質の残基 S e r 2 9 7 に対応する S 9 6 である。酸化の最大変化は、残基 W 3 8 (全長 M I C A * 0 0 8 タンパク質の T r p 2 3 9) ならびに I l e 7 1 及び P h e 7 9 (全長 M I C A * 0 0 8 タンパク質の I l e 2 7 2 及び P h e 2 8 0) について見られる。

【図 4 5】M I C A * 0 0 8 α 3 ドメイン単独試料と比較して結合 1 D 5 F a b の存在下で酸化保護の顕著な変化を示した M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインペプチドが (1 D 5 に結合した M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの複合体から) 上記で決定された M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインの結晶構造にマッピングされることを描写する。これらは、N 3 3 - R 3

10

20

30

40

50

9 (全長M I C A * 0 0 8 タンパク質のA s n 2 3 4 - A r g 2 4 0) 及びV 6 7 - F 7 9 (V a l 2 6 8 - P h e 2 8 0) を含む。

【図46A】図46Aは左にM I C A * 0 0 8 α 3ドメイン構造の表面上にマッピングされた1 D 5、1 3 A 9、及び6 E 1 F a bエピトープ、右にM I C A * 0 0 8 α 3ドメイン構造の表面上にマッピングされた糖鎖改変バリエーションを並べた比較を示す。1 D 5、1 3 A 9、及び6 E 1 F a bエピトープの境界も、切断部位を描写するM I C A * 0 0 8 α 3ドメイン構造上に破線で縁取られる。F a bエピトープは、それぞれのF a bの4 . 5 Å以内のM I C A * 0 0 8 α 3ドメイン残基として定義された。表は、様々な糖鎖改変バリエーションへのF a bの相対結合を示し、+は結合が影響を受けないことを示し、-は結合が完全に喪失したことを示し、+/-は結合が野生型M I C A * 0 0 8 α 3ドメインに対して部分的に喪失したことを示す。図46Bは同じ配向から示される1 D 5 F a b - M I C A * 0 0 8 α 3ドメイン及び1 3 A 9 F a b - M I C A * 0 0 8 α 3ドメイン複合体構造のレンダリングであり、F a bは表面として、M I C A * 0 0 8 α 3ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。表は、様々な糖鎖改変バリエーションへのF a bの相対結合を示し、+は結合が影響を受けないことを示し、-は結合が完全に喪失したことを示し、+/-は結合が野生型M I C A * 0 0 8 α 3ドメインに対して部分的に喪失したことを示す。1 D 5及び1 3 A 9 F a bの結合に異なる程度で影響を及ぼす2つの変異、G l y c o 1 4 (G 2 4 3 N) 及びG l y c o 1 6 (R 2 7 9 N) は、円として示され、矢印で強調される。図46Cはリボンダイアグラムとして示されるM I C A * 0 0 8 α 3ドメインの結晶構造にマッピングされた、グリコシル化操作、F P O P、アラニンスキャニグ、及びX線結晶構造解析によって決定された1 D 5エピトープを描写する。各方法によってエピトープの一部として特定された残基が色で強調され、残基番号が示される。M I C A * 0 0 8のグリコシル化操作によって決定されたエピトープ残基は、A s n への変異及びN結合グリカンの導入後に1 D 5結合の喪失を示し、0 . 5未満のE L I S A O D _{4 5 0} シグナルをもたらすものとして定義された。F P O Pによって決定されたエピトープ残基は、F a bの不在下の同じM I C A * 0 0 8 ペプチドに対して、1 D 5 F a b結合後にM I C A * 0 0 8のトリプシンまたはキモトリプシンペプチド内で酸化の減少を示すものとして定義された。M I C A * 0 0 8のアラニンスキャニグによって決定されたエピトープ残基は、野生型M I C A * 0 0 8に対して、アラニンに変異された場合に1 D 5結合親和性 (S P Rによって測定されるK_D) の3倍の減少を示すものとして定義された。X線結晶構造解析によって決定されたエピトープ残基は、1 D 5 F a bの4 . 5 Å以内にあるものとして定義された。

【図46B】図46Aは左にM I C A * 0 0 8 α 3ドメイン構造の表面上にマッピングされた1 D 5、1 3 A 9、及び6 E 1 F a bエピトープ、右にM I C A * 0 0 8 α 3ドメイン構造の表面上にマッピングされた糖鎖改変バリエーションを並べた比較を示す。1 D 5、1 3 A 9、及び6 E 1 F a bエピトープの境界も、切断部位を描写するM I C A * 0 0 8 α 3ドメイン構造上に破線で縁取られる。F a bエピトープは、それぞれのF a bの4 . 5 Å以内のM I C A * 0 0 8 α 3ドメイン残基として定義された。表は、様々な糖鎖改変バリエーションへのF a bの相対結合を示し、+は結合が影響を受けないことを示し、-は結合が完全に喪失したことを示し、+/-は結合が野生型M I C A * 0 0 8 α 3ドメインに対して部分的に喪失したことを示す。図46Bは同じ配向から示される1 D 5 F a b - M I C A * 0 0 8 α 3ドメイン及び1 3 A 9 F a b - M I C A * 0 0 8 α 3ドメイン複合体構造のレンダリングであり、F a bは表面として、M I C A * 0 0 8 α 3ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。表は、様々な糖鎖改変バリエーションへのF a bの相対結合を示し、+は結合が影響を受けないことを示し、-は結合が完全に喪失したことを示し、+/-は結合が野生型M I C A * 0 0 8 α 3ドメインに対して部分的に喪失したことを示す。1 D 5及び1 3 A 9 F a bの結合に異なる程度で影響を及ぼす2つの変異、G l y c o 1 4 (G 2 4 3 N) 及びG l y c o 1 6 (R 2 7 9 N) は、円として示され、矢印で強調される。図46Cはリボンダイアグラムとして示されるM I C A * 0 0 8 α 3ドメインの結晶構造にマッピングされた、グリコシル化操作、F P O P、アラニンスキ

ャニング、及びX線結晶構造解析によって決定された1D5エピトープを描写する。各方法によってエピトープの一部として特定された残基が色で強調され、残基番号が示される。MICA*008のグリコシル化操作によって決定されたエピトープ残基は、Asnへの変異及びN結合グリカンの導入後に1D5結合の喪失を示し、0.5未満のELISA OD₄₅₀シグナルをもたらすものとして定義された。FPOPによって決定されたエピトープ残基は、Fabの不在下の同じMICA*008ペプチドに対して、1D5 Fab結合後にMICA*008のトリプシンまたはキモトリプシンペプチド内で酸化の減少を示すものとして定義された。MICA*008のアラニンスキャニングによって決定されたエピトープ残基は、野生型MICA*008に対して、アラニンに変異された場合に1D5結合親和性(SPRによって測定されるK_D)の3倍の減少を示すものとして定義された。X線結晶構造解析によって決定されたエピトープ残基は、1D5 Fabの4.5 Å以内にあるものとして定義された。

【図46C】図46Aは左にMICA*008α3ドメイン構造の表面上にマッピングされた1D5、13A9、及び6E1 Fabエピトープ、右にMICA*008α3ドメイン構造の表面上にマッピングされた糖鎖改変バリエーションを並べた比較を示す。1D5、13A9、及び6E1 Fabエピトープの境界も、切断部位を描写するMICA*008α3ドメイン構造上に破線で縁取られる。Fabエピトープは、それぞれのFabの4.5 Å以内のMICA*008α3ドメイン残基として定義された。表は、様々な糖鎖改変バリエーションへのFabの相対結合を示し、+は結合が影響を受けないことを示し、-は結合が完全に喪失したことを示し、+/-は結合が野生型MICA*008α3ドメインに対して部分的に喪失したことを示す。図46Bは同じ配向から示される1D5 Fab-MICA*008α3ドメイン及び13A9 Fab-MICA*008α3ドメイン複合体構造のレンダリングであり、Fabは表面として、MICA*008α3ドメインはリボンダイアグラムとして描写される。表は、様々な糖鎖改変バリエーションへのFabの相対結合を示し、+は結合が影響を受けないことを示し、-は結合が完全に喪失したことを示し、+/-は結合が野生型MICA*008α3ドメインに対して部分的に喪失したことを示す。1D5及び13A9 Fabの結合に異なる程度で影響を及ぼす2つの変異、Glyco14 (G243N) 及びGlyco16 (R279N) は、円として示され、矢印で強調される。図46Cはリボンダイアグラムとして示されるMICA*008α3ドメインの結晶構造にマッピングされた、グリコシル化操作、FPOP、アラニンスキャニング、及びX線結晶構造解析によって決定された1D5エピトープを描写する。各方法によってエピトープの一部として特定された残基が色で強調され、残基番号が示される。MICA*008のグリコシル化操作によって決定されたエピトープ残基は、Asnへの変異及びN結合グリカンの導入後に1D5結合の喪失を示し、0.5未満のELISA OD₄₅₀シグナルをもたらすものとして定義された。FPOPによって決定されたエピトープ残基は、Fabの不在下の同じMICA*008ペプチドに対して、1D5 Fab結合後にMICA*008のトリプシンまたはキモトリプシンペプチド内で酸化の減少を示すものとして定義された。MICA*008のアラニンスキャニングによって決定されたエピトープ残基は、野生型MICA*008に対して、アラニンに変異された場合に1D5結合親和性(SPRによって測定されるK_D)の3倍の減少を示すものとして定義された。X線結晶構造解析によって決定されたエピトープ残基は、1D5 Fabの4.5 Å以内にあるものとして定義された。

【図47A】MICA*008α3ドメインの配列(図47A)及び構造(図47B)にマッピングされるDana FarberのCM33322 Ab4、CM33322 Ab28、及びCM33322 Ab29、Innate Pharmaの16A8、ならびにUniversity of WashingtonのH9抗MICA/B抗体のエピトープを描写する。これらの以前に記載された抗体のエピトープは、主にMICA*008α3ドメインの「背面」にマッピングする。対照的に、1D5及び13A9のエピトープは、MICA*008α3ドメインの「前面」にマッピングする。

【図47B】MICA*008α3ドメインの配列(図47A)及び構造(図47B)に

マッピングされる Dana Farber の CM33322 Ab4、CM33322 Ab28、及び CM33322 Ab29、Innate Pharma の 16A8、ならびに University of Washington の H9 抗 MICA/B 抗体のエピトープを描写する。これらの以前に記載された抗体のエピトープは、主に MICA*008α3 ドメインの「背面」にマッピングする。対照的に、1D5 及び 13A9 のエピトープは、MICA*008α3 ドメインの「前面」にマッピングする。

【図 48】抗体 1D5 が MIC-NKG2D 相互作用に干渉しないことを示す、NKG2D-Fc 対抗 MICA/B 濃度を描写する。

【図 49A】図 49A は 1.3 Å 分解能で決定された MICA*008α3 ドメインに結合した 1D5 Fab の結晶構造を描写する。1D5 は C 末端ベータ鎖を含有する α3 ドメインの「前面」に結合する。図 49B は MICA*008α3 ドメインの「前面」の表面上の、Fab の 4.5 Å 以内の MICA 残基として定義される、1D5 のエピトープを描写する。報告された切断部位が示され、1D5 エピトープの境界も示される。

【図 49B】図 49A は 1.3 Å 分解能で決定された MICA*008α3 ドメインに結合した 1D5 Fab の結晶構造を描写する。1D5 は C 末端ベータ鎖を含有する α3 ドメインの「前面」に結合する。図 49B は MICA*008α3 ドメインの「前面」の表面上の、Fab の 4.5 Å 以内の MICA 残基として定義される、1D5 のエピトープを描写する。報告された切断部位が示され、1D5 エピトープの境界も示される。

【図 50A】図 50A は BALB/c SCID マウスにおける腫瘍接種のタイムライン及び抗 MIC 1D5 抗体の投薬レジメンを例示する。図 50B は様々な処置群におけるカリパス測定による腫瘍体積を描写する。図 50C 及び図 50D はそれぞれ抗 MIC 1D5 抗体での処置後の採取された腫瘍における NK 細胞の数及びグランザイム B 陽性 NK 細胞の割合を描写する。

【図 50B】図 50A は BALB/c SCID マウスにおける腫瘍接種のタイムライン及び抗 MIC 1D5 抗体の投薬レジメンを例示する。図 50B は様々な処置群におけるカリパス測定による腫瘍体積を描写する。図 50C 及び図 50D はそれぞれ抗 MIC 1D5 抗体での処置後の採取された腫瘍における NK 細胞の数及びグランザイム B 陽性 NK 細胞の割合を描写する。

【図 50C】図 50A は BALB/c SCID マウスにおける腫瘍接種のタイムライン及び抗 MIC 1D5 抗体の投薬レジメンを例示する。図 50B は様々な処置群におけるカリパス測定による腫瘍体積を描写する。図 50C 及び図 50D はそれぞれ抗 MIC 1D5 抗体での処置後の採取された腫瘍における NK 細胞の数及びグランザイム B 陽性 NK 細胞の割合を描写する。

【図 50D】図 50A は BALB/c SCID マウスにおける腫瘍接種のタイムライン及び抗 MIC 1D5 抗体の投薬レジメンを例示する。図 50B は様々な処置群におけるカリパス測定による腫瘍体積を描写する。図 50C 及び図 50D はそれぞれ抗 MIC 1D5 抗体での処置後の採取された腫瘍における NK 細胞の数及びグランザイム B 陽性 NK 細胞の割合を描写する。

【図 51A】図 51A は抗 MIC (1D5 抗体) 処置が dox 依存的様式で MICA (B16-MICA002) を発現するように操作された B16 細胞における MICA 表面発現を安定化したことを示す。図 52B は B16-MICA002 における抗 MIC 1D5 及び抗 PD-L1 の組み合わせ処置の抗腫瘍応答を描写する。

【図 51B】図 51A は抗 MIC (1D5 抗体) 処置が dox 依存的様式で MICA (B16-MICA002) を発現するように操作された B16 細胞における MICA 表面発現を安定化したことを示す。図 52B は B16-MICA002 における抗 MIC 1D5 及び抗 PD-L1 の組み合わせ処置の抗腫瘍応答を描写する。

【発明を実施するための形態】

【0122】

I. 定義

本発明を詳細に説明する前に、本発明が特定の組成物または生物系に限定されず、これ

10

20

30

40

50

が言うまでもなく変化し得ることを理解されたい。本明細書で使用される専門用語が特定の実施形態を説明することのみを目的としており、限定するようには意図されていないこともまた理解されたい。

【0123】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「a」、「an」、及び「the」は、別途内容が明確に指示しない限り、複数の指示対象を含む。したがって、例えば、「分子」への言及は、2つ以上のかかる分子の組み合わせなどを任意に含む。

【0124】

本明細書で使用する「約」という用語は、当業者に容易に知られているそれぞれの値の通常の誤差範囲を指す。本明細書における「約」値またはパラメータへの言及は、その値またはパラメータ自体を対象とする実施形態を含む（かつ説明する）。

10

【0125】

本明細書に記載される本発明の態様及び実施形態が、態様及び実施形態「を含む」、「からなる」、及び「から本質的になる」を含むことが理解される。

【0126】

本明細書で使用する「MIC」という用語は、別途示されない限り、霊長類（例えば、ヒト）及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）などの哺乳動物を含む、任意の脊椎動物源に由来する任意の天然MICクラスI関連鎖AまたはBを指す。用語は、「全長」の非プロセッシングMIC、及び細胞内でのプロセッシングから得られるMICの任意の形態を包含する。用語は、MICの天然に存在するバリエーション、例えば、スプライスバリエーションまたは、MICA対立遺伝子002、004、008、及びMICB対立遺伝子005を含む、対立遺伝子バリエーションも包含する。用語によって包含されるMICAの他の対立遺伝子は、MICA*001、MICA*005、MICA*006、MICA*007、MICA*009、MICA*010、MICA*011、MICA*012、MICA*013、MICA*014、MICA*015、MICA*016、MICA*017、MICA*018、MICA*019、MICA*020、MICA*022、MICA*023、MICA*024、MICA*025、MICA*026、MICA*027、MICA*028、MICA*029、MICA*030、MICA*031、MICA*032、MICA*033、MICA*034、MICA*035、MICA*036、MICA*037、MICA*038、MICA*039、MICA*040、MICA*041、MICA*042、MICA*043、MICA*044、MICA*045、MICA*046、MICA*047、MICA*048、MICA*049、MICA*050、MICA*051、MICA*052、MICA*053、MICA*054、MICA*055、及びMICA*056を含む。用語によって包含されるMICBの他の対立遺伝子は、MICB*001、MICB*002、MICB*003、MICB*004、MICB*006、MICB*007、MICB*008、MICB*009N、MICB*010、MICB*011、MICB*012、MICB*013、MICB*014、MICB*015、MICB*016、MICB*018、MICB*019、MICB*020、MICB*021N、及びMICB*022を含む。対立遺伝子のリストは、hla.alleles.org/alleles/classo.htmlで入手可能である。例となるヒトMICA対立遺伝子008（シグナル配列を含む）のアミノ酸配列は、配列番号193に示される。MICA*008の適用における全てのアミノ酸付番は、シグナル配列を含むヒトMICA*008配列に対する。MICのさらなる説明は、Stephens et al., Trends Immunol. 2001 Jul; 22(7): 378-85に提供されている。図2は、MICA/Bアルファ3ドメイン整列、同一性パーセント、及び類似性パーセントを示す。

20

30

40

【0127】

「抗MIC抗体」、「MICに結合する抗体」、及び「MICに特異的に結合する抗体」という用語は、抗体がMICを標的とする際に診断及び／または治療剤として有用であるように、十分な親和性でMICに結合することができる抗体を指す。一実施形態におい

50

て、無関係の非M I Cタンパク質への抗M I C抗体の結合の程度は、例えば、放射免疫測定法（R I A）によって測定されるとき、M I Cへの抗体への結合の約10%未満である。特定の実施形態において、M I Cに結合する抗体は、 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.01 \text{ nM}$ 、または $\leq 0.001 \text{ nM}$ （例えば、 10^{-8} M 以下、例えば、 $10^{-8} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$ 、例えば、 $10^{-9} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$ ）の解離定数（K d）を有する。特定の実施形態において、抗M I C抗体は、異なる種由来のM I C間で保存されるM I Cのエピトープに結合する。

【0128】

本明細書の目的での「アクセプターヒトフレームワーク」は、以下に定義されるように、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに由来する、軽鎖可変ドメイン（V L）フレームワークまたは重鎖可変ドメイン（V H）フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターヒトフレームワークは、その同じアミノ酸配列を含んでもよく、あるいはアミノ酸配列変化を含有してもよい。いくつかの実施形態において、アミノ酸変化の数は、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、または2以下である。いくつかの実施形態において、V Lアクセプターヒトフレームワークは、V Lヒト免疫グロブリンフレームワーク配列またはヒトコンセンサスフレームワーク配列と配列において同一である。

【0129】

「親和性」とは、分子（例えば、抗体）とその結合パートナー（例えば、抗原）との単一結合部位の間の非共有結合相互作用の合計の強度を指す。別途指示されない限り、本明細書で使用される場合、「結合親和性」とは、結合対のメンバー（例えば、抗体及び抗原）間の1：1の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。分子XのそのパートナーYに対する親和性は、一般に、解離定数（K d）で表され得る。親和性は、本明細書に記載される方法を含む当該技術分野で既知の一般的な方法によって測定され得る。結合親和性を測定するための具体的な例証的かつ例示的な実施形態が、以下に記載される。

【0130】

「親和性成熟」抗体とは、かかる改変を保有しない親抗体と比較して、1つ以上の超可変領域（H V R）に1つ以上の改変を有する抗体を指し、かかる改変により抗体の抗原に対する親和性が改善される。

【0131】

本明細書の「抗体」という用語は、最も広義に使用され、それらが所望の抗原結合活性を呈する限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片を含むがこれらに限定されない、様々な抗体構造を包含する。

【0132】

「抗体断片」とは、無傷抗体が結合する抗原に結合する無傷抗体の一部を含む無傷抗体以外の分子を指す。抗体断片の例としては、F v、F a b、F a b'、F a b'-S H、F（a b'）₂、ダイアボディ、線状抗体、一本鎖抗体分子（例えば、s c F v）及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0133】

参照抗体と「同じエピトープに結合する抗体」は、競合アッセイにおいて参照抗体のその抗原への結合を50%以上ブロックする抗体を指し、逆に、参照抗体は、競合アッセイにおいて抗体のその抗原への結合を50%以上ブロックする。例示的な競合アッセイが、本明細書に提供される。

【0134】

「キメラ」抗体という用語は、重鎖及び／または軽鎖の一部が、特定の源または種に由来する一方で、重鎖及び／または軽鎖の残部が異なる源または種に由来する抗体を指す。

【0135】

抗体の「クラス」は、その重鎖が保有する定常ドメインまたは定常領域の種類を指す。

10

20

30

40

50

抗体の5つの主要なクラス：I g A、I g D、I g E、I g G、及びI g Mが存在し、これらのうちのいくつかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、I g G₁、I g G₂、I g G₃、I g G₄、I g A₁、及びI g A₂にさらに分類され得る。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、α、δ、ε、γ、及びμと呼ばれる。

【0136】

本明細書で使用される「細胞傷害性薬剤」という用語は、細胞機能を阻害もしくは抑制し、及び／または細胞死もしくは破壊を引き起こす物質を指す。細胞傷害性薬剤には、放射性同位体（例えば、A t²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、R e¹⁸⁶、R e¹⁸⁸、S m¹⁵³、B i²¹²、P³²、P b²¹²、及びL uの放射性同位体）；化学療法剤または薬物（例えば、メトトレキサート、アドリマイシン、ビンカルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルビシンまたは他の挿入剤）；増殖抑制剤；核酸分解酵素などの酵素及びそれらの断片；抗生物質；それらの断片及び／またはバリエーションを含む、細菌、真菌、植物、または動物由来の小分子毒素または酵素活性毒素などの毒素；ならびに下に開示される様々な抗腫瘍または抗がん剤が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0137】

「エフェクター機能」は、抗体アイソタイプにより異なる抗体のF c領域に起因し得る生物学的活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、C1q結合及び補体依存性細胞傷害性（CDC）、F c受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性（ADCC）、食作用、細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体）の下方制御、ならびにB細胞活性化が挙げられる。

20

【0138】

薬剤、例えば、薬学的製剤の「有効量」とは、所望の治療または予防結果を達成するために必要な投薬量及び期間で有効な量を指す。

【0139】

本明細書の「F c領域」という用語は、定常領域の少なくとも一部を含有する免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用される。用語は、天然配列F c領域及びバリエーションF c領域を含む。一実施形態において、ヒトI g G重鎖F c領域は、C y s₂₂₆から、またはP r o₂₃₀から、重鎖のカルボキシル末端までに及ぶ。しかしながら、F c領域のC末端リジン（L y s₄₄₇）は、存在してしなくてもよい。本明細書において別段明記されない限り、F c領域または定常領域内のアミノ酸残基の付番は、K a b a t e t a l. , S e q u e n c e s o f P r o t e i n s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t , 5 t h E d . P u b l i c H e a l t h S e r v i c e , N a t i o n a l I n s t i t u t e s o f H e a l t h , B e t h e s d a , M D , 1 9 9 1に記載される、E Uインデックスとも呼ばれるE U付番システムに従う。

30

【0140】

「フレームワーク」または「FR」は、超可変領域（HVR）残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのFRは一般に、FR₁、FR₂、FR₃、及びFR₄の4つのFRドメインからなる。したがって、HVR及びFR配列は、一般に、VH（またはVL）において次の配列中出现する：FR₁－H₁（L₁）－FR₂－H₂（L₂）－FR₃－H₃（L₃）－FR₄。

40

【0141】

「完全長抗体」、「無傷抗体」、及び「全抗体」という用語は、本明細書で、天然抗体構造と実質的に同様の構造を有するか、または本明細書に定義されるF c領域を含有する重鎖を有する抗体を指すように交換可能に使用される。

【0142】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」、及び「宿主細胞培養物」という用語は、交換可能に使

50

用され、その中に外因性核酸が導入された細胞を指し、かかる細胞の子孫を含む。宿主細胞は、初代形質転換細胞及び継代の数にかかわらずそれに由来する子孫を含む、「形質転換体」及び「形質転換細胞」を含む。子孫は、核酸含有量が親細胞と完全に同一ではない場合があるが、変異を含み得る。最初に形質転換された細胞についてスクリーニングまたは選択されたものと同じ機能または生物学的活性を有する変異子孫が、本明細書に含まれる。

【0143】

「ヒト抗体」は、ヒトもしくはヒト細胞により産生された抗体、またはヒト抗体レパートリーもしくは他のヒト抗体コード配列を利用する非ヒト源に由来する抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を保有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を明確に除外する。

10

【0144】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンVLまたはVHフレームワーク配列の選択において最も一般的に生じるアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンVLまたはVH配列の選択は、可変ドメイン配列の下位群からである。一般に、配列の下位群は、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3における下位群である。一実施形態において、VLについては、下位群は、Kabata et al. (上記参照)における下位群カッパIである。一実施形態において、VHについては、下位群は、Kabata et al. (上記参照)における下位群IIIである。

20

【0145】

「ヒト化」抗体は、非ヒトHVRからのアミノ酸残基及びヒトFRからのアミノ酸残基を含むキメラ抗体を指す。特定の実施形態において、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、及び典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含み、HVR (例えば、CDR)の全てまたは実質的に全てが非ヒト抗体のものに対応し、FRの全てまたは実質的に全てがヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は、任意で、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部分を含み得る。抗体、例えば、非ヒト抗体の「ヒト化形態」は、ヒト化を受けた抗体を指す。

30

【0146】

本明細書で使用される「超可変領域」または「HVR」という用語は、配列が超可変であり(「相補性決定領域」または「CDR」)、及び／または構造的に定義されたループ(「超可変ループ」)を形成し、及び／または抗原接触残基(「抗原接触体」)を含有する、抗体可変ドメインの領域の各々を指す。一般に、抗体は6つのHVRを含み、3つがVH(H1、H2、H3)にあり、3つがVL(L1、L2、L3)にある。本明細書における例示的なHVRは、

【0147】

(a) アミノ酸残基26~32(L1)、50~52(L2)、91~96(L3)、26~32(H1)、53~55(H2)、及び96~101(H3)で生じる超可変ループ(Chothia and Lesk, J. Mol. 196:901-917 (1987))と、

40

【0148】

(b) アミノ酸残基24~34(L1)、50~56(L2)、89~97(L3)、31~35b(H1)、50~65(H2)、及び95~102(H3)で生じるCDR(Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))と、

【0149】

50

(c) アミノ酸残基 27c～36 (L1)、46～55 (L2)、89～96 (L3)、30～35b (H1)、47～58 (H2)、及び93～101 (H3) で生じる抗原接触体 (MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996)) と、

【0150】

(d) HVR アミノ酸残基 46～56 (L2)、47～56 (L2)、48～56 (L2)、49～56 (L2)、26～35 (H1)、26～35b (H1)、49～65 (H2)、93～102 (H3)、及び94～102 (H3) を含む、(a)、(b)、及び／または (c) の組み合わせと、を含む。

【0151】

一実施形態において、HVR 残基は、図1A～図1L または本明細書の他の場所において特定されるものを含む。

【0152】

本明細書で別途示されない限り、可変ドメイン中のHVR 残基及び他の残基 (例えば、FR 残基) は、本明細書において Kabat et al. (上記参照) に従って付番される。

【0153】

「免疫抱合体」は、細胞傷害性薬剤を含むがこれに限定されない、1つ以上の異種分子 (複数可) に抱合された抗体である。

【0154】

「個体」または「対象」は、哺乳動物である。哺乳動物としては、家畜 (例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ)、霊長類 (例えば、ヒト、及びサルなどの非ヒト霊長類)、ウサギ、ならびに齧歯類 (例えば、マウス及びラット) が挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、個体または対象は、ヒトである。

【0155】

「単離された」抗体とは、その天然環境の構成成分から分離された抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、例えば、電気泳動 (例えば、SDS-PAGE、等電点電気泳動法 (IEF)、キャピラリー電気泳動法) またはクロマトグラフ (例えば、イオン交換または逆相HPLC) によって決定される、95%または99%を超える純度に精製される。抗体の純度を評価するための方法の概説については、例えば、Flatman et al., J. Chromatogr. B 848: 79-87 (2007) を参照されたい。

【0156】

「単離された」核酸とは、その天然環境の構成成分から分離された核酸分子を指す。単離された核酸は、通常核酸分子を含有する細胞内に含有される核酸分子を含むが、核酸分子は、染色体外に、またはその天然染色体位置とは異なる染色体位置に存在する。

【0157】

「抗MIC抗体をコードする単離された核酸」とは、抗体重鎖及び軽鎖 (またはそれらの断片) をコードする1つ以上の核酸分子を指し、単一のベクターまたは別個のベクター内のかかる核酸分子 (複数可) を含み、かかる核酸分子 (複数可) は、宿主細胞内の1つ以上の位置に存在する。

【0158】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に同種の抗体の集団から得られた抗体を指し、すなわち、集団を構成する個別の抗体は、例えば、自然発生変異を含有するか、またはモノクローナル抗体調製物の産生中に生じる、考えられるバリエーション抗体を除き、同一であり、及び／または同じエпитープに結合し、かかるバリエーションは、一般的に少量で存在する。異なる決定基 (エпитープ) に対して指向された異なる抗体を典型的に含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して指向される。したがって、「モノクローナル」という修飾語は、実質的に同種の抗体集団から得られるという抗体の特

10

20

30

40

50

徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものと解釈されるべきではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、組換えDNA法、ファージディスプレイ法、及びヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含有するトランスジェニック動物を利用する方法を含むがこれらに限定されない、様々な技法により作製され得、モノクローナル抗体を作製するためのかかる方法及び他の例示的な方法が、本明細書に記載される。

【0159】

「ネイキッド抗体」は、異種部分（例えば、細胞傷害性部分）または放射性標識に抱合されていない抗体を指す。ネイキッド抗体は、薬学的製剤中に存在し得る。

【0160】

「天然抗体」は、様々な構造を有する天然に存在する免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然IgG抗体は、ジスルフィド結合されている2つの同一の軽鎖及び2つの同一の重鎖から構成される、約150,000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。N末端からC末端まで、各重鎖は、可変重ドメインまたは重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VH）を有し、その後3つの定常ドメイン（CH1、CH2、及びCH3）が続く。同様に、N末端からC末端まで、各軽鎖は、可変軽ドメインまたは軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VL）を有し、その後定常軽（CL）ドメインが続く。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（κ）及びラムダ（λ）と呼ばれる2つの種類のうちの1つに割り当てられ得る。

【0161】

「添付文書」という用語は、かかる治療製品の適応症、使用法、投薬量、投与、併用療法、禁忌症、及び／または使用に関する警告についての情報を含む、治療製品の商業用パッケージに通例含まれる指示書を指すために使用される。

【0162】

参照ポリペプチド配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」は、配列を整列し、配列同一性最大パーセントを達成するために必要に応じてギャップを導入した後に、かついかなる保存的置換も配列同一性の部分として考慮せずに、参照ポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である、候補配列におけるアミノ酸残基の割合として定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するための整列は、当該技術分野における技能の範囲内の様々な方法で、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、またはMegalign（DNASTAR）ソフトウェアなどの公的に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して達成され得る。当業者であれば、比較されている配列の完全長にわたって最大の整列を達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、配列を整列させるための適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、本明細書における目的のために、アミノ酸配列同一性％値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を使用して生成される。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムは、Genentech, Inc. によって記述され、ソースコードは、ユーザ文書とともに米国著作権庁（Washington D. C., 20559）に提出されており、米国著作権登録番号TXU510087の下に登録されている。ALIGN-2プログラムは、Genentech, Inc., South San Francisco, Californiaから公的に入手可能であるか、またはソースコードからコンパイルされ得る。ALIGN-2プログラムは、デジタルUNIX V4.0Dを含むUNIXオペレーティングシステムでの使用のためにコンパイルされるべきである。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムにより設定されており、変動しない。

【0163】

ALIGN-2がアミノ酸配列比較に用いられる状況において、所与のアミノ酸配列Bへの、それとの、またはそれに対する、所与のアミノ酸配列Aのアミノ酸配列同一性％（あるいは、所与のアミノ酸配列Bへの、それとの、またはそれに対する、特定のアミノ酸配列同一性％を有するか、または含む所与のアミノ酸配列Aと表現され得る）は、以下のよう

10

20

30

40

50

【0164】

$100 \times \text{分数 } X / Y$

【0165】

式中、Xは、配列整列プログラムALIGN-2によってそのプログラムのAとBとの整列において完全な一致としてスコア化されたアミノ酸残基の数であり、Yは、Bにおけるアミノ酸残基の総数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さと等しくない場合、AのBに対するアミノ酸配列同一性%は、BのAに対するアミノ酸配列同一性%とは等しくないことが理解される。別途具体的に示されない限り、本明細書で使用される全てのアミノ酸配列同一性%値は、直前の段落に記載されるようにALIGN-2コンピュータプログラムを使用して得られる。

10

【0166】

「薬学的製剤」という用語は、調製物中に含有される活性成分の生物学的活性が有効になるような形態であり、かつ製剤が投与される対象にとって許容できないほど毒性である追加の成分を全く含有しない調製物を指す。

【0167】

「薬学的に許容される担体」とは、対象に無毒である、活性成分以外の薬学的製剤中の成分を指す。薬学的に許容される担体としては、緩衝剤、賦形剤、希釈剤、安定剤、または防腐剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【0168】

本明細書で使用される場合、「治療」（及び「治療する」または「治療すること」などのその文法上の変形）とは、治療されている個体の自然経過を変更することを目的とした臨床介入を指し、予防のために、または臨床病理過程に行われ得る。治療の望ましい効果には、疾患の発症または再発の予防、症状の軽減、疾患の任意の直接的または間接的病理学的帰結の縮小、転移の予防、疾患進行速度の減少、病状の改善または緩和、及び寛解または予後の改善が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、本発明の抗体を使用して、疾患の発達を遅延させるか、または疾患の進行を減速させる。

20

【0169】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗体の抗原への結合に関与する抗体の重鎖または軽鎖のドメインを指す。天然抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメイン（それぞれ、VH及びVL）は一般に、類似の構造を有し、各ドメインが4つの保存フレームワーク領域（FR）及び3つの超可変領域（HVR）を含む。（例えば、Kindt et al. *Immunology*, 6th ed., W. H. Freeman and Co., page 91 (2007)を参照されたい。）単一のVHドメインまたはVLドメインは、抗原結合特異性を付与するのに十分であり得る。さらに、特定の抗原に結合する抗体は、VHドメインまたはVLドメインを使用して抗原に結合する抗体から単離し、それぞれ相補的VLドメインまたはVHドメインのライブラリをスクリーニングすることができる。例えば、Portolano et al., *J. Immunol.* 150: 880-887 (1993)、Clarkson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991)を参照されたい。

30

【0170】

「ベクター」という用語は、本明細書で使用される場合、それが結合している別の核酸を増幅させることができる核酸分子を指す。用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、及びそれが導入される宿主細胞のゲノム内に組み込まれたベクターを含む。特定のベクターは、それらが作動可能に結合している核酸の発現を誘導することができる。かかるベクターは、本明細書において「発現ベクター」と称される。

40

【0171】

「化学療法剤」は、がんの治療に有用な化学化合物を含む。化学療法剤の例としては、エルロチニブ（TARCEVA（登録商標）、Genentech/OSI Pharm.）、ボルテゾミブ（VELCADE（登録商標）、Millennium Pharm.）、ジスルフィラム、没食子酸エピガロカテキン、サリノスボラミドA、カーフィルゾ

50

ミブ、17-AAG（ゲルダナマイシン）、ラディシコール、乳酸デヒドロゲナーゼA（LDH-A）、フルベストラント（FASLODEX（登録商標）、AstraZeneca）、スニチブ（SUTENT（登録商標）、Pfizer/Sugen）、レトロゾール（FEMARA（登録商標）、Novartis）、メシル酸イマチニブ（GLEEVEC（登録商標）、Novartis）、フィナスネート（VATLANIB（登録商標）、Novartis）、オキサリプラチン（ELOXATIN（登録商標）、Sanofi）、5-FU（5-フルオロウラシル）、ロイコボリン、ラパマイシン（シロリムス、RAPAMUNE（登録商標）、Wyeth）、ラパチニブ（TYKERB（登録商標）、GSK572016、Glaxo Smith Kline）、ロナファミブ（SCH66336）、ソラフェニブ（NEXAVAR（登録商標）、Bayer Labs）、ゲフィチニブ（IRESSA（登録商標）、AstraZeneca）、AG1478、アルキル化剤、例えば、チオテパ及びCYTOXAN（登録商標）シクロホスファミド；アルキルスルホネート、例えば、ブスルファン、インプロスルファン、及びピボスルファン；アジリジン、例えば、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、及びウレドーパ；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、及びトリメチロメラミンを含むエチレンイミン及びメチラメラミン；アセトゲニン（特に、ブラタシン及びブラタシノン）；カンプトテシン（トポテカン及びイリノテカンを含む）；プリオスタチン；カリストアチン；CC-1065（そのアドゼレシン、カルゼレシン、及びビゼレシン合成類似体を含む）；クリプトフィシン（特に、クリプトフィシン1及びクリプトフィシン8）；副腎皮質ステロイド（プレドニゾン及びプレドニゾロンを含む）；酢酸シプロテロン；フィナステリド及びデュタステリドを含む5 α -還元酵素；ボリノスタット、ロミデプシン、パノビノスタット、バルプロ酸、モセチノスタットドラスタチン；アルデスロイキン、タルクデュオカルマイシン（合成類似体、KW-2189及びCB1-TM1を含む）；エリユテロビン；パンクラチスタチン；サルコジクチン；スポンギスタチン；ナイトロジェンマスタード、例えば、クロラムブシル、クロマファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノベムビシン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード；ニトロソ尿素、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、及びラニムスチン；エンジイン抗生物質などの抗生物質（例えば、カリケアマイシン、特にカリケアマイシン γ 1I及びカリケアマイシン ω 1I（Angew Chem. Int. Ed. Engl. 1994 33:183-186）；ジネミシンAを含む、ジネミシン；クロドロネートなどのビスホスホネート；エスペラミシン；ならびにネオカルジノスタチンクロモフォア及び関連色素タンパク質エンジイン抗生物質クロモフォア）、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アントラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン、カミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ADRIAMYCIN（登録商標）（ドキソルビシン）、モルホリノードキソルビシン、シアノモルホリノードキソルビシン、2-ピロリノードキソルビシン、及びデオキシドキソルビシン）、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、ミトマイシンCなどのミトマイシン、マイコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン、ピュロマイシン、ケラマイシン、ロボルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン；メトトレキサート及び5-フルオロウラシル（5-FU）などの代謝拮抗剤；デノブテリン、メトトレキサート、プテロブテリン、トリメトトレキサートなどの葉酸類似体；フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体；アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カンファー、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジンなどのピリミジン類似体；カルステロン、ドロモスタノロンプロピオネート、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミト

10

20

30

40

50

タン、トリロスタンなどの抗副腎剤；フロリン酸などの葉酸補充剤；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ピサントレン；エダトレキサート；デフォファミン；デメコルシン；ジアジクオン；エルフォミチン；酢酸エリプチニウム；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシウレア；レンチナン；ロニダイニン；メイタンシン及びアンサミトシンなどのメイタンシノイド；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール；ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK（登録商標）多糖複合体（JHS Natural Products, Eugene, Oreg.）；ラゾキサン；リゾキシシン；シゾフラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；2, 2', 2' -トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（特にT-2毒素、ベラクリンA、ロリジンA、及びアングイジン）；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ara-C」）；シクロホスファミド；チオテバ；タキソイド、例えば、TAXOL（パクリタキセル、Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N. J.）、ABRAXANE（登録商標）（Cremophor-free）、パクリタキセルのアルブミン改変ナノ粒子製剤（American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.）、及びTAXOTERE（登録商標）（ドセタキセル、ドキシタキセル、Sanofi-Aventis）；クロラムブシル；GEMZAR（登録商標）（ゲムシタビン）；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン及びカルボプラチンなどの白金類似体；ビンブラスチン；エトポシド（VP-16）；イホスファミド；ミトキサントロン；ビンクリスチン；NAVELBINE（登録商標）（ビノレルビン）；ノバントロン；テニポシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；カペシタビン（XELODA（登録商標））；イバンドロネート；CPT-11；トポイソメラーゼ阻害剤RFS 2000；ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；レチノイン酸などのレチノイド；ならびに上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸、及び誘導体が挙げられる。

【0172】

化学療法剤には、(i) 例えば、タモキシフェン（NOLVADEX（登録商標）、クエン酸タモキシフェンを含む）、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、ヨードキシフェン（iodoxyfene）、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン、及びFARESTON（登録商標）（トレミフェンクエン酸塩を含む）、抗エストロゲン剤及び選択的エストロゲン受容体調節剤（SERM）などの、腫瘍に対してホルモン作用を制御または阻害するように作用する抗ホルモン剤、(ii) 副腎におけるエストロゲン産生を制御するアロマターゼ酵素を阻害する、アロマターゼ阻害剤、例えば、4（5）-イミダゾール、アミノグルテチミド、MEGASE（登録商標）（酢酸メゲストロール）、AROMASIN（登録商標）（エキセメスタン、Pfizer）、フォルメスタニー（formestanie）、ファドロゾール、RIVISOR（登録商標）（ボロゾール）、FEMARA（登録商標）（レトロゾール、Novartis）、及びARIMIDEX（登録商標）（アナストロゾール、AstraZeneca）など、(iii) 抗アンドロゲン剤、例えば、フルタミド、ニルタミド、ビカルタミド、ロイプロリド、及びゴセレリン；ブセレリン、トリプトレリン、酢酸メドロキシプロゲステロン、ジエチルスチルベストロール、プレマリン、フルオキシメステロン、全てのトランスレチノニン酸、フェンレチニド、ならびにトロキサシタビン（1, 3-ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体）など、(iv) タンパク質キナーゼ阻害剤、(v) 脂質キナーゼ阻害剤、(vi) アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、異常な細胞増殖に関与するシグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するもの、例えば、PKC-アルファ、Ral f、及びH-Rasなど、(vii) リボザイム、例えば、VEGF発現阻害剤（例えば、ANGIOZYME（登録商標））及びHER2発現阻害剤、(viii) 遺伝子療法ワクチンなどのワクチン、例えば、ALLOVEC

T I N（登録商標）、L E U V E C T I N（登録商標）、及びV A X I D（登録商標）；P R O L E U K I N（登録商標）、r I L - 2；トポイソメラーゼ1阻害剤、例えば、L U R T O T E C A N（登録商標）；A B A R E L I X（登録商標）r m R H、ならびに（i x）上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸、及び誘導体も含まれる。

【0173】

化学療法剤には、抗体、例えば、アレムツズマブ（C a m p a t h）、ベバシズマブ（A V A S T I N（登録商標）、G e n e n t e c h）；セツキシマブ（E R B I T U X（登録商標）、I m c l o n e）；パニツムマブ（V E C T I B I X（登録商標）、A m g e n）、リツキシマブ（R I T U X A N（登録商標）、G e n e n t e c h / B i o g e n I d e c）、ペルツズマブ（O M N I T A R G（登録商標）、2 C 4、G e n e n t e c h）、トラスツズマブ（H E R C E P T I N（登録商標）、G e n e n t e c h）、トシツモマブ（B e x x a r、C o r i x i a）、及び抗体薬物抱合体、ゲムツズマブオゾガマイシン（M Y L O T A R G（登録商標）、W y e t h）も含まれる。本発明の化合物と組み合わせて薬剤としての治療可能性を有する追加のヒト化モノクローナル抗体には、アポリズマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、バピネオズマブ、ビバツズマブメルタンシン、カンツズマブメルタンシン、セデリズマブ、セルトリズマブペゴール、シドフシツズマブ、シドツズマブ、ダクリズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、エブラツズマブ、エルリズマブ、フェルビズマブ、フォントリズマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、イノツズマブオゾガマイシン、イピリムマブ、ラベツズマブ、リンツズマブ、マツズマブ、メポリズマブ、モタビズマブ、モトビズマブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、ノロビズマブ、ヌマビズマブ、オクレリズマブ、オマリズマブ、バリビズマブ、パスコリズマブ、ペクフシツズマブ、ペクツズマブ、ペキセリズマブ、ラリビズマブ、ラニビズマブ、レスリビズマブ、レスリズマブ、レシビズマブ、ロベリズマブ、ルプリズマブ、シプロツズマブ、シプリズマブ、ソンツズマブ、タカツズマブテトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、テフィバズマブ、トシリズマブ、トラリズマブ、ツコツズマブセルモロイキン、ツクシツズマブ、ウマビズマブ、ウルトキサズマブ、ウステキヌマブ、ビジリズマブ、及びインターロイキン-12 p 40タンパク質を認識するように遺伝子修飾された組換えヒト配列専用全長 I g G 1 λ抗体である、抗インターロイキン-12（A B T - 8 7 4 / J 6 9 5、W y e t h R e s e a r c h a n d A b b o t t L a b o r a t o r i e s）が挙げられる。

【0174】

化学療法剤には、E G F Rに結合するか、または他の様式でそれと直接相互作用し、そのシグナル伝達活性を阻止または低減する化合物を指す「E G F R阻害剤」も含まれ、これは代替的に「E G F Rアンタゴニスト」とも称される。かかる薬剤の例には、E G F Rに結合する抗体及び小分子が挙げられる。E G F Rに結合する抗体の例には、M A b 5 7 9（A T C C C R L H B 8 5 0 6）、M A b 4 5 5（A T C C C R L H B 8 5 0 7）、M A b 2 2 5（A T C C C R L 8 5 0 8）、M A b 5 2 8（A T C C C R L 8 5 0 9）（米国特許第4, 9 4 3, 5 3 3号、M e n d e l s o h n e t a l. を参照されたい）、ならびにそれらのバリエーション、例えば、キメラ化225（C 2 2 5またはセツキシマブ、E R B U T I X（登録商標））及び再成形ヒト225（H 2 2 5）（W O 9 6 / 4 0 2 1 0、I m c l o n e S y s t e m s I n c. を参照されたい）；I M C - 1 1 F 8、完全ヒトE G F R標的抗体（I m c l o n e）；I I型変異E G F Rに結合する抗体（米国特許第5, 2 1 2, 2 9 0号）；米国特許第5, 8 9 1, 9 9 6号に記載のE G F Rに結合するヒト化抗体及びキメラ抗体；ならびにE G F Rに結合するヒト抗体、例えば、A B X - E G Fまたはパニツムマブ（W O 9 8 / 5 0 4 3 3、A b g e n i x / A m g e nを参照されたい）；E M D 5 5 9 0 0（S t r a g l i o t t o e t a l. E u r. J. C a n c e r 3 2 A : 6 3 6 - 6 4 0（1996））；E G F R結合においてE G F及びT G F - αの両方と競合するE G F Rに対して指向されたヒト化E G F R抗体E M D 7 2 0 0（マツズマブ）（E M D / M e r c k）；ヒトE G F R抗体、H u M a x - E G F R（G e n M a b）；E 1. 1、E 2. 4、E

2. 5、E 6. 2、E 6. 4、E 2. 1 1、E 6. 3、及びE 7. 6. 3として既知であり、かつUS 6, 235, 883に記載の完全ヒト抗体；MDX-447 (Medarex Inc)；ならびにmAb 806またはヒト化mAb 806 (Johns et al., J. Biol. Chem. 279 (29) : 30375-30384 (2004))が含まれる。抗EGFR抗体は、細胞傷害性薬剤に抱合され、それにより免疫抱合体を生成し得る（例えば、EP 659, 439 A2、Merck Patent GmbHを参照されたい）。EGFRアンタゴニストには、米国特許第5, 616, 582号、同第5, 457, 105号、同第5, 475, 001号、同第5, 654, 307号、同第5, 679, 683号、同第6, 084, 095号、同第6, 265, 410号、同第6, 455, 534号、同第6, 521, 620号、同第6, 596, 726号、同第6, 713, 484号、同第5, 770, 599号、同第6, 140, 332号、同第5, 866, 572号、同第6, 399, 602号、同第6, 344, 459号、同第6, 602, 863号、同第6, 391, 874号、同第6, 344, 455号、同第5, 760, 041号、同第6, 002, 008号、及び同第5, 747, 498号、ならびに以下のPCT公報：WO 98/14451、WO 98/50038、WO 99/09016、及びWO 99/24037に記載されている化合物などの小分子が含まれる。特定の小分子EGFRアンタゴニストには、OSI-774 (CP-358774、エルロチニブ、TARCEVA (登録商標) Genentech/OSI Pharmaceuticals)；PD183805 (CI1033、2-プロペンアミド、N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[3-(4-モルホリニル)プロポキシ]-6-キナゾリニル]-、二塩酸塩、Pfizer Inc.)；ZD1839、ゲフィチニブ (IRESSA (登録商標)) 4-(3'-クロロ-4'-フルオロアニリノ)-7-メトキシ-6-(3-モルホリノプロポキシ)キナゾリン、AstraZeneca)；ZM105180 ((6-アミノ-4-(3-メチルフェニル-アミノ)-キナゾリン、Zeneca)；BIBX-1382 (N8-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)-N2-(1-メチル-ピペリジン-4-イル)-ピリミド [5, 4-d] ピリミジン-2, 8-ジアミン、Boehringer Ingelheim)；PKI-166 ((R)-4-[4-[(1-フェニルエチル)アミノ]-1H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-6-イル]-フェノール)；(R)-6-(4-ヒドロキシフェニル)-4-[(1-フェニルエチル)アミノ]-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン)；CL-387785 (N-[4-[(3-プロモフェニル)アミノ]-6-キナゾリニル]-2-ブチンアミド)；EKB-569 (N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-3-シアノ-7-エトキシ-6-キノリニル]-4-(ジメチルアミノ)-2-ブテンアミド) (Wyeth)；AG1478 (Pfizer)；AG1571 (SU 5271、Pfizer)；及び二重EGFR/HER2チロシンキナーゼ阻害剤、例えば、ラパチニブ (TYKERB (登録商標)、GSK572016またはN-[3-クロロ-4-[(3-フルオロフェニル)メトキシ]フェニル]-6-[5[[[2メチルスルホニル)エチル]アミノ]メチル]-2-フラニル]-4-キナゾリンアミン)が含まれる。

【0175】

化学療法剤には、前段落に記載のEGFR標的薬物を含む「チロシンキナーゼ阻害剤」；Takedaから入手可能なTAK165などの小分子HER2チロシンキナーゼ阻害剤；CP-724, 714、ErbB2受容体チロシンキナーゼ (Pfizer及びOSI) の経口選択的阻害剤；EGFRに優先的に結合するがHER2及びEGFRの両方の過剰発現細胞を阻害する、EKB-569 (Wyethから入手可能) などの二重HER阻害剤；ラパチニブ (GSK572016、Glaxo-SmithKlineから入手可能)、経口HER2及びEGFRチロシンキナーゼ阻害剤；PKI-166 (Novartisから入手可能)；カネルチニブ (CI-1033、Pharmacia) などのpan-HER阻害剤；Raf-1シグナル伝達を阻害するISIS Pharmaceuticalsから入手可能なアンチセンス薬剤ISIS-5132などのRaf-

10

20

30

40

50

1 阻害剤；イマチニブメシラート（GLEEVEC（登録商標）、Glaxo SmithKlineから入手可能）などの非HER標的TK阻害剤；スニチニブ（SUTENT（登録商標）、Pfizerから入手可能）などの多標的チロシンキナーゼ阻害剤；バタラニブ（PTK787/ZK222584、Novartis/Schering AGから入手可能）などのVEGF受容体チロシンキナーゼ阻害剤；MAPK細胞外制御キナーゼI阻害剤CI-1040（Pharmaciaから入手可能）；PD 153035，4-（3-クロロアニリノ）キナゾリンなどのキナゾリン；ピリドピリミジン；ピリミドピリミジン；CGP 59326、CGP 60261、及びCGP 62706などのピロロピリミジン；ピラゾロピリミジン、4-（フェニルアミノ）-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン；クルクミン（ジフェルロイルメタン、4,5-ビス（4-フルオロアニリノ）フタルイミド）；ニトロチオフエン部分を含有するトリホスチン；PD-0183805（Warner-Lambert）；アンチセンス分子（例えば、HERコード核酸に結合するもの）；キノキサリン（米国特許第5,804,396号）；トリホスチン（米国特許第5,804,396号）；ZD6474（AstraZeneca）；PTK-787（Novartis/Schering AG）；CI-1033（Pfizer）などのpan-HER阻害剤；Affinitac（ISIS 3521、ISIS/Lilly）；イマチニブメシラート（GLEEVEC（登録商標））；PKI 166（Novartis）；GW2016（Glaxo SmithKline）；CI-1033（Pfizer）；EKB-569（Wyeth）；セマキシニブ（Pfizer）；ZD6474（AstraZeneca）；PTK-787（Novartis/Schering AG）；INC-1C11（Imclone）、ラパマイシン（シロリムス、RAPAMUNE（登録商標））；または下記の特許刊行物：米国特許第5,804,396号、WO1999/09016（American Cyanamid）、WO1998/43960（American Cyanamid）、WO1997/38983（Warner Lambert）、WO1999/06378（Warner Lambert）、WO1999/06396（Warner Lambert）、WO1996/30347（Pfizer, Inc）、WO1996/33978（Zeneca）、WO1996/3397（Zeneca）、及びWO1996/33980（Zeneca）のいずれかに記載のものが含まれる。

【0176】

化学療法剤には、デキサメタゾン、インターフェロン、コルヒチン、メトブリン、シクロスポリン、アンホテリシン、メトロニダゾール、アレムツズマブ、アリトレチノイン、アロプリノール、アミホスチン、三酸化ヒ素、アスバラギナーゼ、BCG生、ベバクジマブ、ベキサロテン、クラドリビン、クロファラビン、ダルベポエチンアルファ、デニロイキン、デクスラゾキサシ、エポエチンアルファ、エロチニブ、フィルグラスチム、酢酸ヒストレリン、イブリツモマブ、インターフェロンアルファ-2a、インターフェロンアルファ-2b、レナリドミド、レバミゾール、メスナ、メトキサレン、ナンドロロン、ネララビン、ノフェツモマブ、オブレルベキン、バリフェルミン、パミドロネート、ペガデマ-ゼ、ペグアスバラガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセド二ナトリウム、プリカマイシン、ポルフィマーナトリウム、キナクリン、ラスブリカーゼ、サルグラモスチム、テモゾロミド、VM-26、6-TG、トレミフェン、トレチノイン、ATRA、バルルピシン、ゾレドロネート、及びゾレドロネート、ならびにそれらの薬学的に許容される塩も含まれる。

【0177】

化学療法剤には、ヒドロコルチゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、酢酸コルチゾン、ピバリン酸チキソコルトール、トリウムシノロンアセトニド、トリウムシノロンアルコール、モメタゾン、アムシノニド、ブデソニド、デソニド、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、ベタメタゾン、ベタメタゾンリン酸ナトリウム、デキサメタゾン、デキサメタゾンリン酸ナトリウム、フルオコルトロン、17-酪酸ヒドロコルチゾン、17-吉草酸ヒドロコルチゾン、ジプロピオン酸アクロメタゾン、吉草酸ベタメタゾン、ジプロピオン酸

ベタメタゾン、プレドニカルベート、17-酪酸クロベタゾン、17-プロピオン酸クロベタゾール、カブロン酸フルオコルトロン、ピバリン酸フルオコルトロン、及び酢酸フルプレニデン；フェニルアラニン-グルタミン-グリシン（FEG）及びそのD-異性形態（feG）（IMULAN BioTherapeutics, LLC）などの免疫選択的抗炎症性ペプチド（ImSAID）；抗リウマチ薬、例えば、アザチオプリン、シクロスポリン（シクロスポリンA）、D-ペニシラミン、金塩、ヒドロキシクロロキン、レフルノミドミノシクリン、スルファサラジン、腫瘍壊死因子アルファ（TNF α ）遮断剤、例えば、エタネルセプト（Enbrel）、インフリキシマブ（Remicade）、アダリムマブ（Humira）、セルトリズマブペゴール（Cimzia）、ゴリムマブ（Simpsoni）、インターロイキン1（IL-1）遮断剤、例えば、アナキンラ（Kineret）、T細胞共刺激遮断剤、例えば、アバタセプト（Orencia）、インターロイキン6（IL-6）遮断剤、例えば、トシリズマブ（ACTEMERA（登録商標））；レブリキズマブなどのインターロイキン13（IL-13）遮断剤；ロンタリズマブなどのインターフェロンアルファ（IFN）遮断剤；rhuma β ベータ7などのベータ7インテグリン遮断剤；抗M1 primeなどのIgE経路阻害剤；抗リンホトキシンアルファ（LTA）などの分泌ホモトリマーLTa3及び膜結合ヘテロトリマーLTa1/ β 2遮断剤；放射性同位体（例えば、At211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212、及びLuの放射性同位体）；チオプラチン、PS-341、フェニルブチラート、ET-18- OCH_3 、またはファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤（L-739749、L-744832）などの種々の試験剤；ポリフェノール、例えば、ケルセチン、レスベラトロール、ピセアタンノール、没食子酸エピガロカテキン、テアフラビン、フラバノール、プロシアニジン、ベツリン酸、及びそれらの誘導体；クロロキンなどのオートファジー阻害剤；デルター9-テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、MARINOL（登録商標））；ベターラパコン；ラパコール；コルチシン；ベツリン酸；アセチルカンブトテシン、スコボレクチン、及び9-アミノカンブトテシン）；ポドフィルロトキシシン；テガフル（UFTORAL（登録商標））；ベキサロテン（TARGRETIN（登録商標））；ビスホスホネート、例えば、クロドロネート（例えば、BONEFOS（登録商標）またはOSTAC（登録商標））、エチドロネート（DIDROCAL（登録商標））、NE-58095、ゾレドロ酸/ゾレドロネート（ZOMETA（登録商標））、アレンドロネート（FOSAMAX（登録商標））、パミドロネート（AREDIA（登録商標））、チルドロネート（SKELID（登録商標））、またはリセドロネート（ACTONEL（登録商標））；及び上皮成長因子受容体（EGF-R）；THERATOPE（登録商標）ワクチンなどのワクチン；ペリホシン、COX-2阻害剤（例えば、セレコキシブまたはエトリコキシブ）、プロテオソーム阻害剤（例えば、PS341）；CCI-779；チピファルニブ（R11577）；オラフェニブ、ABT510；オブリメルセンナトリウム（GENASENSE（登録商標））などのBcl-2阻害剤；ピキサントロン；ロナファルニブ（SCH 6636、SARASARTM）などのファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤；及び上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸、または誘導体；ならびに上記の2つ以上の組み合わせ、例えば、CHOP（シクロホスファミド、ドキシルビシン、ビンクリスチン、及びプレドニゾン併用療法の略語）；ならびにFOLFOX（5-FU及びロイコポリンと組み合わされたオキサリプラチン（ELOXATINTM）の治療レジメンの略語）も含まれる。

【0178】

化学療法剤には、鎮痛、解熱、及び抗炎症作用を有する非ステロイド性抗炎症性薬物も含まれる。NSAIDには、酵素シクロオキシゲナーゼの非選択的阻害剤が含まれる。NSAIDの具体的な例としては、アスピリン、プロピオン酸誘導体、例えば、イブプロフェン、フェノプロフェン、ケトプロフェン、フルルビプロフェン、オキサプロジン、及びナプロキセン、酢酸誘導体、例えば、インドメタシン、スリンダク、エトドラク、ジクロフェナク、エノール酸誘導体、例えば、ピロキシカム、メロキシカム、テノキシカム、ド

ロキシカム、ロルノキシカム、及びイソキシカム、フェナム酸誘導体、例えば、メフェナム酸、メクロフェナム酸、フルフェナム酸、トルフェナム酸、ならびにCOX-2阻害剤、例えば、セレコキシブ、エトリコキシブ、ルミラコキシブ、パレコキシブ、ロフェコキシブ、ロフェコキシブ、及びバルデコキシブが挙げられる。NSAIDの適応は、リウマチ性関節炎、変形性関節炎、炎症性関節症、強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、ライター症候群、急性痛風、月経困難症、転移性骨痛、頭痛及び片頭痛、術後疼痛、炎症及び組織損傷に起因する軽度～中程度の疼痛、発熱、腸閉塞症、ならびに腎臓痛などの状態の症状軽減であり得る。

【0179】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗原結合ポリペプチド（例えば、抗体）または複合体は、PARP阻害剤（例えば、オラパラニブ、ルカパリブ、ニラパリブ、セジラニブ、BMN 673、ベリパリブ）、トラベクテジン、nab-パクリタキセル（アルブメン結合パクリタキセル、ABRAXANE）、トレバニブ、パゾパニブ、セジラニブ、バルボシクリブ、エベロリムス、フルオロピリミジン（例えば、FOLFFOX、FOLFIRI）、IFL、レゴラフェニブ、レオリジン、アリムタ、ジカディア、スーテント、トーリセル（テムシロリムス）、インライタ（アキシチニブ、Pfizer）、アフィニートル（エベロリムス、Novartis）、ネキサバル（ソラフェニブ、Onyx/Bayer）、ヴォトリエント、パゾパニブ、アキシチニブ、IMA-901、AGS-003、カボザンチニブ、ビンフルニン、Hsp90阻害剤（例えば、アパトルシン）、Ad-GM-CSF（CT-0070）、テマゾロミド、IL-2、IFN α 、ビンブラスチン、サロミド、ダカルバジン、シクロホスファミド、レナリドミド、アザシチジン、レナリドマイド、ボルテゾミド（VELCADE）、アムルビシン、カルフィルゾミブ、プララトレキサート、及び／またはエンザスタウリンと併せて投与され得る。

【0180】

「PD-1軸結合アンタゴニスト」という用語は、PD-1シグナル伝達軸上のシグナル伝達に起因するT細胞機能障害を除去するようにPD-1軸結合パートナーとその結合パートナーのうちのいずれか1つ以上との相互作用を阻害し、結果として、T細胞機能（例えば、増殖、サイトカイン産生、標的細胞殺滅）を復元または増強する分子を指す。本明細書で使用される場合、PD-1軸結合アンタゴニストは、PD-1結合アンタゴニスト、PD-L1結合アンタゴニスト、及びPD-L2結合アンタゴニストを含む。

【0181】

「PD-1結合アンタゴニスト」という用語は、PD-1とその結合パートナーのうちの1つ以上、例えば、PD-L1、PD-L2との相互作用に起因するシグナル伝達を減少、遮断、阻害、抑止、または妨害する分子を指す。いくつかの実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1のその結合パートナーのうちの1つ以上への結合を阻害する分子である。具体的な態様において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1の、PD-L1及び／またはPD-L2への結合を阻害する。例えば、PD-1結合アンタゴニストは、抗PD-1抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、ならびにPD-1とPD-L1及び／またはPD-L2との相互作用に起因するシグナル伝達を減少、遮断、阻害、抑止、または妨害する他の分子を含む。一実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、機能障害性T細胞の機能障害性を低下させる（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増強する）ように、PD-1を介してTリンパ球媒介シグナル伝達で発現された細胞表面タンパク質によって、またはそれを介して媒介される、負の共刺激性シグナルを低減させる。いくつかの実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、抗PD-1抗体である。具体的な態様において、PD-1結合アンタゴニストは、本明細書に記載されるMDX-1106（ニボルマブ）である。別の具体的な態様において、PD-1結合アンタゴニストは、本明細書に記載されるMK-3475（ペンブロリズマブ）である。別の具体的な態様において、PD-1結合アンタゴニストは、本明細書に記載されるCT-011（ビジリズマブ）である。別の具体

的な態様において、PD-1 結合アンタゴニストは、本明細書に記載される AMP-224 である。

【0182】

「PD-L1 結合アンタゴニスト」という用語は、PD-L1 とその結合パートナーのうちのいずれか1つ以上、例えば、PD-1、B7-1 との相互作用に起因するシグナル伝達を減少、遮断、阻害、抑止、または妨害する分子を指す。いくつかの実施形態において、PD-L1 結合アンタゴニストは、PD-L1 のその結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、PD-L1 結合アンタゴニストは、PD-L1 の PD-1 及び／または B7-1 への結合を阻害する。いくつかの実施形態において、PD-L1 結合アンタゴニストは、抗 PD-L1 抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘン 10
シン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及び PD-L1 とその結合パートナーのうちの1つ以上、例えば、PD-1、B7-1 との相互作用に起因するシグナル伝達を減少、遮断、阻害、抑止、または妨害する他の分子を含む。一実施形態において、PD-L1 結合アンタゴニストは、機能障害性 T 細胞の機能障害性を低下させる（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増強する）ように、PD-L1 を介して T リンパ球媒介シグナル伝達で発現された細胞表面タンパク質によって、またはそれを介して媒介される、負の共刺激性シグナルを低減させる。いくつかの実施形態において、PD-L1 結合アンタゴニストは、抗 PD-L1 抗体である。具体的な態様において、抗 PD-L1 抗体は、本明細書に記載される YW243.55.S70 である。別の具体的な態様において、抗 PD-L1 抗体は、本明細書に記載される MDX-1105 である。さらに別の具体的な態様において、抗 PD-L1 抗体は、本明細書に記載される MPDL3280A である。さらに別の具 20
体的な態様において、抗 PD-L1 抗体は、本明細書に記載される MEDI4736 である。

【0183】

「PD-L2 結合アンタゴニスト」という用語は、PD-L2 とその結合パートナーのうちのいずれか1つ以上、例えば、PD-1 との相互作用に起因するシグナル伝達を減少、遮断、阻害、抑止、または妨害する分子を指す。いくつかの実施形態において、PD-L2 結合アンタゴニストは、PD-L2 のその結合パートナーのうちの1つ以上への結合を阻害する分子である。具体的な態様において、PD-L2 結合アンタゴニストは、PD-L2 の PD-1 への結合を阻害する。いくつかの実施形態において、PD-L2 アンタ 30
ゴニストは、抗 PD-L2 抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘンシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及び PD-L2 とその結合パートナーのうちのいずれか1つ以上、例えば、PD-1 との相互作用に起因するシグナル伝達を減少、遮断、阻害、抑止、または妨害する他の分子を含む。一実施形態において、PD-L2 結合アンタゴニストは、機能障害性 T 細胞の機能障害性を低下させる（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増強する）ように、PD-L2 を介して T リンパ球媒介シグナル伝達で発現された細胞表面タンパク質によって、またはそれを介して媒介される、負の共刺激性シグナルを低減させる。いくつかの実施形態において、PD-L2 結合アンタゴニストは、イムノアドヘンシンで 40
ある。

【0184】

「NKG2D リガンド」という用語は、NKG2D 受容体に結合し、NKG2D 発現細胞の殺滅を引き起こすように受容体を活性化することができる任意の分子を指す。例示的な NKG2D リガンドは、MICA、MICB、及び関連スプライスバリエント及び対立遺伝子を含む。

【0185】

「MIC のシェディングを低減すること」という用語またはその文法的変形は、MIC 発現細胞からの膜結合 MIC の放出の低減を指す。特定の実施形態において、MIC のシェディングの低減は可溶性 MIC のレベルを低減し、したがって免疫系を損傷し、がん及び他の免疫関連疾患を発症及び進行させるものを含む、可溶性 MIC の効果の低減がある。特定の実施形態において、MIC のシェディングは、本明細書に記載される抗体の不在 50

下でのM I Cのシェディングと比較して、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%低減する。

【0186】

「可溶性M I Cのレベルを低減すること」という用語またはその文法的変形は、非膜結合M I Cのレベルの低減を指す。特定の実施形態において、可溶性M I Cの低減は、免疫系を損傷し、がん及び他の免疫関連疾患を発症及び進行させるものを含む、可溶性M I Cの効果の低減があるということである。例えば、可溶性M I Cの低減は、可溶性M I Cによって誘導されるNKG2Dの下方制御を低減し得る。可溶性M I Cのレベルの低減は、本明細書に記載される抗体によるM I Cのシェディング及び／または可溶性M I Cの結合の低減を含む、複数のメカニズムに起因し得る。特定の実施形態において、可溶性M I Cのレベルは、本明細書に記載される抗体の不在下での可溶性M I Cのレベルと比較して、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%低減する。

10

【0187】

「腫瘍免疫」とは、腫瘍が免疫認識及びクリアランスを回避するプロセスを指す。したがって、治療的概念として、腫瘍免疫は、かかる回避が減弱し、腫瘍が免疫系によって認識及び攻撃されるときに「治療される」。腫瘍認識の例としては、腫瘍結合、腫瘍縮小、及び腫瘍クリアランスが挙げられる。

20

【0188】

「抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性」またはADCCは、特定の細胞傷害性細胞（例えば、NK細胞、好中球、及びマクロファージ）上に存在するFc受容体（FcR）に結合した分泌免疫グロブリンが、これらの細胞傷害性エフェクター細胞が抗原保有標的細胞に特異的に結合し、その後細胞毒を用いて標的細胞を殺滅することができるようにする細胞傷害性の形態を指す。ADCCを媒介する初代細胞であるNK細胞がFcγRIIIのみを発現する一方で、単球は、FcγRI、FcγRII、及びFcγRIIIを発現する。造血細胞でのFcR発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92 (1991)の464ページの表3に要約される。目的の分子のADCC活性を評価するために、米国特許第5,500,362号または同第5,821,337号または同第6,737,056号(Presta)に記載されるようなインビトロADCCアッセイを行ってもよい。かかるアッセイに有用なエフェクター細胞としては、PBMC及びNK細胞が挙げられる。あるいは、または加えて、目的の分子のADCC活性は、例えば、Clynes et al. PNAS (USA) 95: 652-656 (1998)に開示されるような動物モデルにおいて、インビボで評価されてもよい。

30

【0189】

本明細書で使用される「バイオマーカー」という用語は、試料中で検出され得る指標、例えば、予測指標、診断指標、及び／または予後指標を指す。バイオマーカーは、特定の分子的、病理学的、組織学的、及び／または臨床的特徴によって特徴付けられる疾患または障害（例えば、がん）の特定のサブタイプの指標としての機能を果たし得る。いくつかの実施形態において、バイオマーカーは遺伝子である。バイオマーカーには、ポリヌクレオチド（例えば、DNA及び／またはRNA）、ポリヌクレオチドコピー数の改変（例えば、DNAコピー数）、ポリペプチド、ポリペプチド及びポリヌクレオチド修飾（例えば、翻訳後修飾）、炭水化物、及び／または糖脂質系分子マーカーが含まれるが、これらに限定されない。「がん」及び「がん性」という用語は、典型的に未制御の細胞成長を特徴とする哺乳動物における生理学的状態を指すか、または説明する。がんの例としては、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病またはリンパ性悪性腫瘍が挙げられるが、これらに限定されない。かかるがんのより具体的な例としては、扁平細胞癌（例えば、扁平上皮細胞癌）、肺癌、例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、及び肺扁平上皮癌、

40

50

腹膜癌、肝細胞癌、胃癌（*g a s t r i c c a n c e r*）または胃癌（*s t o m a c h c a n c e r*）、例えば、胃腸癌及び胃腸間質癌、膵臓癌、膠芽細胞腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、尿路癌、肝癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌または子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌または腎癌、前立腺癌、外陰部癌、甲状腺癌、肝癌、肛門癌、陰茎癌、黒色腫、表在拡大型黒色腫、悪性黒子型黒色腫、末端性黒子性黒色腫、結節型黒色腫、多発性骨髄腫及びB細胞リンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（*N H L*）、小リンパ球性（*S L*）*N H L*、中悪性度／濾胞性*N H L*、中悪性度びまん性*N H L*、高悪性度免疫芽細胞性*N H L*、高悪性度リンパ芽球性*N H L*、高悪性度小型非開裂細胞性*N H L*、巨大病変*N H L*、マンタル細胞リンパ腫、*A I D S*関連リンパ腫、及びワルデンストレームマクログロブリン血症）、慢性リンパ球性白血病（*C L L*）、急性リンパ芽球性白血病（*A L L*）、ヘアリー細胞白血病、慢性骨髄芽球性白血病、及び移植後リンパ増殖性障害（*P T L D*）、ならびに母斑症に関連する異常な血管増殖、浮腫（脳腫瘍に関連するものなど）、メーグス症候群、脳癌、ならびに頭頸部癌、及び関連転移が挙げられるが、これらに限定されない。

【0190】

「補体依存性細胞傷害性」または「*C D C*」とは、補体の存在下での標的細胞の溶解を指す。従来の補体経路の活性化は、補体系（*C 1 q*）の第1の成分の（適切なサブクラスの）抗体への結合から始まり、これらの抗体は、それらの同族抗原に結合している。補体活性化を評価するために、例えば、*G a z z a n o - S a n t o r o e t a l . , J . I m m u n o l . M e t h o d s 2 0 2 : 1 6 3 (1 9 9 6)*に記載されるような*C D C*アッセイが行われ得る。改変された*F c*領域アミノ酸配列を有するポリペプチドバリエーション（バリエーション*F c*領域を有するポリペプチド）及び増加または減少した*C 1 q*結合能力については、例えば、米国特許第6, 194, 551 B1号及びWO1999/51642に記載されている。例えば、*I d u s o g i e e t a l . J . I m m u n o l . 1 6 4 : 4 1 7 8 - 4 1 8 4 (2 0 0 0)*も参照されたい。

【0191】

「診断」という用語は、本明細書では、分子的または病理学的状態、疾患、または病態（例えば、がん）の特定または分類を指すために使用される。例えば、「診断」は、特定の種類のがんの特定を指し得る。「診断」はまた、例えば、組織病理学的基準による、または分子的特徴による、がんの特定のサブタイプ（例えば、1つのバイオマーカーまたはバイオマーカーの組み合わせ（例えば、特定の遺伝子またはその遺伝子によってコードされたタンパク質）の発現を特徴とするサブタイプ）の分類を指し得る。

【0192】

本明細書で使用される場合、「疾患の進行を遅延させる」は、疾患（がんなど）の発症を延期し、妨害し、減速し、遅らせ、安定させ、及び／または先送りすることを意味する。この遅延は、治療されている病歴及び／または個体に依り異なる期間であり得る。当業者に明らかであるように、十分な、または著しい遅延は、事実上、個体が疾患を発症しないという点で予防を包含し得る。例えば、転移の発症などの末期がんを遅延させることができる。

【0193】

「発現」とは、一般に、情報（例えば、遺伝子コード情報及び／またはエピジェネティック情報）が、細胞中に存在しかつそこで機能する構造に変換されるプロセスを指す。

【0194】

したがって、本明細書で使用されるとき、「発現」とは、ポリヌクレオチドへの転写、ポリペプチドへの翻訳、またはさらにはポリヌクレオチド及び／またはポリペプチド修飾（例えば、ポリペプチドの翻訳後修飾）を指し得る。転写されたポリヌクレオチド、翻訳されたポリペプチド、またはポリヌクレオチド及び／またはポリペプチド修飾（例えば、ポリペプチドの翻訳後修飾）の断片も、それらが選択的スプライシングによって生成された転写物もしくは分解された転写物に由来するか、または例えば、タンパク質分解による、ポリペプチドの翻訳後プロセッシングに由来するかどうかにかかわらず、発現されたもの

と見なされるべきである。「発現遺伝子」は、mRNAとしてポリヌクレオチドに転写され、その後、ポリペプチドに翻訳される遺伝子を含み、RNAに転写されるが、ポリペプチドに翻訳されない遺伝子（例えば、トランスファーRNA及びリボソームRNA）も含む。

【0195】

本明細書で使用されるとき、「成長阻害剤」とは、インビトロまたはインビボのいずれかで細胞の成長を阻害する化合物または組成物を指す。一実施形態において、成長阻害剤は、抗体が結合する抗原を発現する細胞の増殖を防止または低減する成長阻害抗体である。別の実施形態において、成長阻害剤は、S期の細胞の割合を著しく低減させるものであり得る。成長阻害剤の例には、細胞周期進行を（S期以外の場所で）妨害する薬剤、例えば、G1停止及びM期停止を誘導する薬剤が含まれる。従来のM期遮断剤としては、ビンカ（ビンクリスチン及びビンブラスチン）、タキサン、ならびにトポイソメラーゼII阻害剤、例えば、ドキソルビシン、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、及びブレオマイシンが挙げられる。G1停止薬剤は、S期停止にも及び、例えば、タモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキサート、5-フルオロウラシル、及びara-CなどのDNAアルキル化剤が挙げられる。さらなる情報は、Mendelsohn and Israel, eds., The Molecular Basis of Cancer, Chapter 1, entitled “Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs” by Murakami et al. (W. B. Saunders, Philadelphia, 1995)において、例えば、p. 13に見出すことができる。タキサン（パクリタキセル及びドセタキセル）は、いずれもイチイの木に由来する抗がん薬である。ヨーロッパイチイに由来するドセタキセル（TAXOTERE（登録商標）、Rhône-Poulenc Rorer）は、パクリタキセル（TAXOL（登録商標）、Bristol-Myers Squibb）の半合成類似体である。パクリタキセル及びドセタキセルは、チューブリン二量体に由来する微小管の組み立てを促進し、脱重合を防止することによって微小管を安定させ、細胞内の有糸分裂の阻害をもたらす。

【0196】

本明細書で使用されるとき、「と併せて」とは、1つの治療法の、別の治療法に加えた施行を指す。そのようなものとして、「と併せて」とは、1つの治療法の、個体への他の治療法の施行前、施行中、または施行後の施行を指す。

【0197】

本明細書で使用されるとき、「標識」という語は、検出可能な化合物または組成物を指す。標識は、典型的には、ポリヌクレオチドプローブまたは抗体などの試薬に直接または間接的に結合または融合し、それが結合または融合する試薬の検出を容易にする。標識は、それ自体が検出可能（例えば、放射性同位体標識または蛍光標識）であり得るか、または酵素標識の場合、検出可能な産生物をもたらす基質化合物または組成物の化学的改変を触媒し得る。

【0198】

「ポリヌクレオチド」という用語は、単数形または複数形で使用されるとき、一般に、修飾されていないRNAもしくはDNAまたは修飾されたRNAもしくはDNAであり得る、任意のポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドを指す。このため、例えば、本明細書で定義されるポリヌクレオチドは、非限定的に、一本鎖及び二本鎖DNA、一本鎖及び二本鎖領域を含むDNA、一本鎖及び二本鎖RNA、ならびに一本鎖及び二本鎖領域を含むRNAを含み、ハイブリッド分子は、一本鎖もしくはより典型的には二本鎖であり得るか、または一本鎖及び二本鎖領域を含み得るDNA及びRNAを含む。加えて、本明細書で使用される「ポリヌクレオチド」という用語は、RNAもしくはDNAまたはRNA及びDNAの両方を含む三本鎖領域を指す。かかる領域内の鎖は、同じ分子由来であっても異なる分子由来であってもよい。領域は、分子のうちの1つ以上の全て

を含み得るが、より典型的には分子のうちのいくつかの領域のみを伴う。三重らせん領域の分子のうちの1つは、オリゴヌクレオチドであることが多い。「ポリヌクレオチド」という用語は、具体的には、cDNAを含む。用語は、1つ以上の修飾塩基を含有するDNA（cDNAを含む）及びRNAを含む。したがって、骨格が安定性または他の理由のために修飾されたDNAまたはRNAは、その用語が本明細書で意図される「ポリヌクレオチド」である。さらに、イノシンなどの珍しい塩基またはトリチウム化塩基などの修飾塩基を含むDNAまたはRNAが、本明細書で定義される「ポリヌクレオチド」という用語に含まれる。一般に、「ポリヌクレオチド」という用語は、修飾されていないポリヌクレオチドの全ての化学的、酵素的、及び／または代謝的に修飾された形態、ならびにウイルス及び細胞（単純細胞及び複雑細胞を含む）のDNA及びRNA特性の化学形態を包含する。

10

【0199】

「放射線療法」とは、細胞の正常に機能する能力を制限するように、または細胞を完全に破壊するように、細胞に十分な損傷を引き起こす指向性γ線またはβ線の使用を意味する。投薬量及び治療期間を決定するための当該技術分野で既知の方法が多く存在することが理解される。典型的な治療は、1回の投与として与えられ、典型的な投薬量は、1日あたり10～200単位（グレイ）の範囲である。

【0200】

本明細書で使用される「試料」という用語は、例えば、物理的、生化学的、化学的、及び／または生理学的特性に基づいて、特徴付け及び／または特定される細胞及び／または他の分子実体を含有する、目的とする対象及び／または個体から得られるか、またはそれらに由来する組成物を指す。例えば、「疾患試料」という語句及びその変化形は、特徴付けされる細胞及び／または分子実体を含有することが予想されるか、または知られている、目的の対象から得られる任意の試料を指す。試料としては、初代または培養細胞または細胞株、細胞上清、細胞溶解物、血小板、血清、血漿、硝子体液、リンパ液、滑液、卵胞液、精液、羊水、乳、全血、血液由来の細胞、尿、脳脊髄液、唾液、痰、涙、汗、粘液、腫瘍溶解物、及び組織培養培地、組織抽出物、例えば、均質化組織、腫瘍組織、細胞抽出物、ならびにそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0201】

II. 組成物及び使用方法

一態様において、本発明は、部分的に、MICのシェディングを低減かつまたは可溶性MICのレベルを低減する抗MIC抗体の特定に基づく。特定の実施形態において、MICに結合する抗体が提供される。本発明の抗体は、例えば、がん及び免疫関連疾患の診断または治療に有用である。

30

【0202】

A. 例示的な抗MIC抗体

一態様において、本発明は、MICに結合する単離された抗体を提供する。特定の実施形態において、抗MIC抗体は、MICのシェディング及び／または可溶性MICのレベルを低減する。

一態様において、本発明は、ヒトMICA*008のGlu215、Gly243、His248、Arg279、Arg213、Ser214、Ala216、Ser217、Asn220、Arg271、Arg240、Gln241、Asp242、Val244、Ser245、Thr281、Ser247、Asp249、Thr250、Trp253、Glu276、Glu277、及び／またはGln278を含むがこれらに限定されない、ヒトMICA*008上のエピトープに結合する抗MIC抗体を提供する。

40

【0203】

いくつかの実施形態において、抗体は、第1のアミノ酸残基、第2のアミノ酸残基、及び第3のアミノ酸残基を含むがこれらに限定されない、ヒトMICA*008上のエピトープに結合し、第1のアミノ酸残基は、Glu215、Arg213、Ser214、Ala216、Ser217、Asn220、またはArg271であり、第2のアミノ酸

50

残基は、H i s 2 4 8、S e r 2 4 7、A s p 2 4 9、T h r 2 5 0、またはT r p 2 5 3であり、第3のアミノ酸残基は、A r g 2 7 9、A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、A s p 2 4 2、G l y 2 4 3、G l u 2 7 6、G l u 2 7 7、G l n 2 7 8、またはT h r 2 8 1である。

【0204】

他の実施形態において、抗体は、第1のアミノ酸残基及び第2のアミノ酸残基を含むがこれらに限定されない、ヒトMICA*008上のエピトープに結合し、第1のアミノ酸残基は、G l y 2 4 3、A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、A s p 2 4 2、V a l 2 4 4、S e r 2 4 5、A r g 2 7 9、またはT h r 2 8 1であり、第2のアミノ酸残基は、A r g 2 7 9、A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、A s p 2 4 2、G l y 2 4 3、G l u 2 7 6、G l u 2 7 7、G l n 2 7 8、またはT h r 2 8 1である。

10

【0205】

さらに他の実施形態において、抗体は、第1のアミノ酸残基及び第2のアミノ酸残基を含むがこれらに限定されない、ヒトMICA*008上のエピトープに結合し、第1のアミノ酸残基は、H i s 2 4 8、S e r 2 4 7、A s p 2 4 9、T h r 2 5 0、またはT r p 2 5 3であり、第2のアミノ酸残基は、A r g 2 7 9、A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、A s p 2 4 2、G l y 2 4 3、G l u 2 7 6、G l u 2 7 7、G l n 2 7 8、またはT h r 2 8 1である。

【0206】

他の実施形態において、抗体は、アミノ酸残基H i s 2 4 8、S e r 2 4 7、A s p 2 4 9、T h r 2 5 0、及び／またはT r p 2 5 3を含むがこれらに限定されない、ヒトMICA*008上のエピトープに結合する。

20

【0207】

他の実施形態において、抗体は、アミノ酸残基A r g 2 7 9、A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、A s p 2 4 2、G l y 2 4 3、G l u 2 7 6、G l u 2 7 7、G l n 2 7 8、及び／またはT h r 2 8 1を含むがこれらに限定されない、ヒトMICA*008上のエピトープに結合する。

【0208】

他の実施形態において、抗体はMICの「背部及び上部」にあるエピトープに結合する。一実施形態において、抗体は、残基V a l 2 0 5、P r o 2 0 6、M e t 2 0 8、T h r 2 1 2、G l y 2 1 9、T h r 2 2 2、T h r 2 2 4、A r g 2 2 6、S e r 2 2 8、T y r 2 3 1、P r o 2 3 2、G l n 2 4 1、A s p 2 4 2、T h r 2 5 0、ヒトMICA*008のA s p 2 5 5とG l y 2 6 2、T y r 2 6 4、G l n 2 6 5、T r p 2 6 7、A r g 2 7 1、G l y 2 7 5、G l u 2 7 7、G l y 2 8 8、A s n 2 8 9、及び／またはH i s 2 9 0との間の任意のアミノ酸に結合し得る。別の実施形態において、抗体は、V a l 2 0 5、P r o 2 0 6、M e t 2 0 8、T h r 2 1 2、G l y 2 1 9、T h r 2 2 2、T h r 2 2 4、A r g 2 2 6、S e r 2 2 8、T y r 2 3 1、P r o 2 3 2、A s p 2 4 2、ヒトMICA*008のA s p 2 5 5とG l y 2 6 2、T y r 2 6 4、G l n 2 6 5、T r p 2 6 7、及び／またはA r g 2 7 1との間の任意のアミノ酸に結合し得る。

30

40

【0209】

別の態様において、抗体は、アミノ酸残基G l y 2 4 3、A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、A s p 2 4 2、V a l 2 4 4、S e r 2 4 5、A r g 2 7 9、及び／またはT h r 2 8 1を含むがこれらに限定されない、ヒトMICA*008上のエピトープに結合する。

【0210】

いくつかの実施形態において、抗体は、第1のアミノ酸残基及び第2のアミノ酸残基を含むがこれらに限定されない、ヒトMICA*008上のエピトープに結合し、第1のアミノ酸残基は、G l y 2 4 3、A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、A s p 2 4 2、V a l 2 4 4、S e r 2 4 5、A r g 2 7 9、またはT h r 2 8 1であり、第2のアミノ酸残基は、A r g 2 7 9、A r g 2 7 9、A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、A s p 2 4 2、G l y 2 4

50

3、G l u 2 7 6、G l u 2 7 7、G l n 2 7 8、またはT h r 2 8 1である。

【0211】

いくつかの実施形態において、抗体は、アミノ酸残基G l y 2 4 3を含むがこれらに限定されない、ヒトM I C A * 0 0 8上のエピトープに結合する。

【0212】

いくつかの実施形態において、抗体は、アミノ酸残基G l y 2 4 3及びA r g 2 7 9を含むがこれらに限定されない、ヒトM I C A * 0 0 8上のエピトープに結合する。

【0213】

他の実施形態において、抗体は、アミノ酸残基A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、V a l 2 4 4、S e r 2 4 5、H i s 2 4 8、G l u 2 7 6、A r g 2 7 9、T y r 2 8 3、G l u 2 8 5、H i s 2 9 0、及び／またはT h r 2 9 2を含むがこれらに限定されない、ヒトM I C A * 0 0 8上のエピトープに結合する。

【0214】

他の実施形態において、抗体は、アミノ酸残基A r g 2 4 0、G l n 2 4 1、A s p 2 4 2、G l y 2 4 3、V a l 2 4 4、S e r 2 4 5、L e u 2 4 6、S e r 2 4 7、A s p 2 4 9、T h r 2 5 0、A r g 2 7 9、T y r 2 8 3、H i s 2 9 0、S e r 2 9 1、T h r 2 9 2、及び／またはP r o 2 9 4を含むがこれらに限定されない、ヒトM I C A * 0 0 8上のエピトープに結合する。

【0215】

他の実施形態において、抗体は、アミノ酸残基A r g 2 4 0、A s p 2 4 2、G l y 2 4 3、V a l 2 4 4、G l u 2 7 7、G l n 2 7 8、A r g 2 7 9、P h e 2 8 0、T h r 2 8 1、T y r 2 8 3、G l u 2 8 5、G l y 2 8 8、A s n 2 8 9、H i s 2 9 0、S e r 2 9 1、T h r 2 9 2、P r o 2 9 4、V a l 2 9 5、P r o 2 9 6、及び／またはS e r 2 9 7を含むがこれらに限定されない、ヒトM I C A * 0 0 8上のエピトープに結合する。

【0216】

他の実施形態において、抗体は、アミノ酸残基A s n 2 3 4、I l e 2 3 5、I l e 2 3 6、L e u 2 3 7、T h r 2 3 8、T r p 2 3 9、及び／またはA r g 2 4 0を含むがこれらに限定されない、ヒトM I C A * 0 0 8上のエピトープに結合する。他の実施形態において、抗体は、アミノ酸残基V a l 2 6 8、A l a 2 6 9、T h r 2 7 0、A r g 2 7 1、I l e 2 7 2、C y s 2 7 3、A r g 2 7 4、G l y 2 7 5、G l u 2 7 6、G l u 2 7 7、G l n 2 7 8、A r g 2 7 9、及び／またはP h e 2 8 0を含むがこれらに限定されない、ヒトM I C A * 0 0 8上のエピトープに結合する。

【0217】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号1、17、33、49、65、81、97、113、129、145、161、または177のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、または178のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c) 配列番号3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、または179のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d) 配列番号4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、または180のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e) 配列番号5、21、37、53、69、85、101、117、133、149、165、または181のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f) 配列番号6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、または182のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む、抗M I C抗体を提供する。

【0218】

一態様において、本発明は、(a) 配列番号1、17、33、49、65、81、97、113、129、145、161、または177のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、1

10

20

30

40

50

62、または178のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、または179のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態において、抗体は、配列番号3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、または179のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。別の実施形態において、抗体は、配列番号3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、または179のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、または182のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。さらなる実施形態において、抗体は、配列番号3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、または179のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、または182のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、または178のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、を含む。さらなる実施形態において、抗体は、(a)配列番号1、17、33、49、65、81、97、113、129、145、161、または177のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、または178のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、または179のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、を含む。

【0219】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、または180のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号5、21、37、53、69、85、101、117、133、149、165、または181のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、または182のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態において、抗体は、(a)配列番号4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、または180のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b)配列番号5、21、37、53、69、85、101、117、133、149、165、または181のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c)配列番号6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、または182のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。

【0220】

別の態様において、本発明の抗体は、(a)(i)配列番号1、17、33、49、65、81、97、113、129、145、161、または177のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、または178のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、または179のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、または180のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号5、21、37、53、69、85、101、117、133、149、165、または181のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(iii)配列番号6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、または182のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。

【0221】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号1、17、33、49、65、81、97、113、129、145、161、または177のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、または178のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、または179のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d) 配列番号4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、または180のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e) 配列番号5、21、37、53、69、85、101、117、133、149、165、または181のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f) 配列番号6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、または182から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む、抗体を提供する。

10

【0222】

別の態様において、抗MIC抗体は、配列番号15、31、47、63、79、95、111、127、143、159、175、または191のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。特定の実施形態において、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVH配列は、基準配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗MIC抗体は、MICに結合する能力を保持する。特定の実施形態において、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号15、31、47、63、79、95、111、127、143、159、175、または191において置換、挿入、及び/または欠失されている。特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域内で(すなわち、FR内で)生じる。任意に、抗MIC抗体は、配列番号15、31、47、63、79、95、111、127、143、159、175、または191におけるVH配列(その配列の翻訳後修飾を含む)を含む。特定の実施形態において、VHは、(a) 配列番号1、17、33、49、65、81、97、113、129、145、161、または177のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、または178のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c) 配列番号3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、または179のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

20

30

【0223】

別の態様において、抗MIC抗体が提供され、抗体は、配列番号16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、または192のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。特定の実施形態において、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVL配列は、基準配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗MIC抗体は、MICに結合する能力を保持する。特定の実施形態において、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、または192において置換、挿入、及び/または欠失されている。特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FR内で)生じる。任意に、抗MIC抗体は、配列番号16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、または192におけるVL配列(その配列の翻訳後修飾を含む)を含む。特定の実施形態において、VLは、(a) 配列番号4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、または180のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b) 配列番号5、21、37、

40

50

53、69、85、101、117、133、149、165、または181のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、または182のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

【0224】

別の態様において、抗MIC抗体が提供され、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにあるとおりのVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにあるとおりのVLを含む。一実施形態において、抗体は、それぞれ配列番号15、31、47、63、79、95、111、127、143、159、175、または191及び配列番号16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、または192におけるVH及びVL配列（それらの配列の翻訳後修飾を含む）を含む。

10

【0225】

上記の実施形態のいずれにおいても、抗MIC抗体は、ヒト化されている。一実施形態において、抗MIC抗体は、上記の実施形態のいずれかにあるとおりのHVRを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えば、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークをさらに含む。別の実施形態において、抗MIC抗体は、上記の実施形態のいずれかにあるとおりのHVRを含み、図1A～図1Lに開示されるFR配列を含むVH及び／またはVLをさらに含む。いくつかの実施形態において、上述の抗MIC抗体は、(a)配列番号7、23、39、55、71、87、103、119、135、151、167、または183のアミノ酸配列を含むFR-L1、(b)配列番号8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、または184のアミノ酸配列を含むFR-L2、(c)配列番号9、25、41、57、73、89、105、121、137、153、169、または185のアミノ酸配列を含むFR-L3、及び(d)配列番号10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186のアミノ酸配列を含むFR-L4から選択される少なくとも1つ、2つ、3つ、または4つの軽鎖可変領域フレームワーク領域(FR)をさらに含む。他の実施形態において、上述の抗MIC抗体は、次の重鎖可変領域FR：a)配列番号11、27、43、59、75、91、107、123、139、155、171、または187のアミノ酸配列を含むFR-H1と、b)配列番号12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、または188のアミノ酸配列を含むFR-H2と、c)配列番号13、29、45、61、77、93、109、125、141、157、173、または189のアミノ酸配列を含むFR-H3と、d)配列番号14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、または190のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

20

30

【0226】

例示的な抗体(3C9.10、7D4.6、6F8.7、32D2、3E11、9C9.5.6、1E6.1.3、7A3.1.9、6E12.5、20G11、6E1.1.12、及び2E5.2.3)は、図1A～図1L、図12、実施例、及び詳細な説明の配列セクションに記載されている。

【0227】

1D5、13A9、15F11、6E1、18G3、12H10の例示的な抗体バリエーションは、図14A～図14F、実施例、及び詳細な説明の配列セクションに記載されている。

40

【0228】

一態様において、本発明は、(a)配列番号209、218、224、236、または242のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号210、215、216、217、219、225、237、または243のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号211、220、226、238、または244のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号212、221、227、239、または245のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号213、222、228、240、または246の

50

アミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号214、223、229、241、または247のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む、抗MIC抗体を提供する。

【0229】

一態様において、本発明は、(a)配列番号209、218、224、236、または242のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号210、215、216、217、219、225、237、または243のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号211、220、226、238、または244のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態において、抗体は、配列番号211、220、226、238、または244のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。別の実施形態において、抗体は、配列番号211、220、226、238、または244のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号214、223、229、241、または247のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。さらなる実施形態において、抗体は、配列番号211、220、226、238、または244のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号214、223、229、241、または247のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、配列番号210、215、216、217、219、225、237、または243のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、を含む。さらなる実施形態において、抗体は、(a)配列番号209、218、224、236、または242のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号210、215、216、217、219、225、237、または243のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号211、220、226、238、または244のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、を含む。

【0230】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号212、221、227、239、または245のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号213、222、228、240、または246のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号214、223、229、241、または247のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態において、抗体は、(a)配列番号212、221、227、239、または245のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b)配列番号213、222、228、240、または246のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c)配列番号214、223、229、241、または247のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。

【0231】

別の態様において、本発明の抗体は、(a)(i)配列番号209、218、224、236、または242のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号210、215、216、217、219、225、237、または243のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号211、220、226、238、または244のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号212、221、227、239、または245のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号213、222、228、240、または246のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(iii)配列番号214、223、229、241、または247のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。

【0232】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号209、218、224、236、または242のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号210、215、216、217、219、225、237、または243のアミノ酸配列を含むHVR-H2と

、（c）配列番号 211、220、226、238、または 244 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、（d）配列番号 212、221、227、239、または 245 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、（e）配列番号 213、222、228、240、または 246 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、（f）配列番号 214、223、229、241、または 247 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む、抗体を提供する。

【0233】

別の態様において、抗MIC抗体は、配列番号 347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383、385、387、389、391、393、395、397、399、401、403、405、407、409、411、413、415、417、419、421、423、425、427、429、431、433、435、437、または 439 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。特定の実施形態において、少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する VH 配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗MIC抗体は、MIC に結合する能力を保持する。特定の実施形態において、合計 1～10 個のアミノ酸が、配列番号 347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383、385、387、389、391、393、395、397、399、401、403、405、407、409、411、413、415、417、419、421、423、425、427、429、431、433、435、437、または 439 において置換、挿入、及び／または欠失されている。特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、HVR の外側の領域内で（すなわち、FR 内で）生じる。任意に、抗MIC抗体は、配列番号 347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383、385、387、389、391、393、395、397、399、401、403、405、407、409、411、413、415、417、419、421、423、425、427、429、431、433、435、437、または 439 における VH 配列（その配列の翻訳後修飾を含む）を含む。特定の実施形態において、VH は、（a）配列番号 209、218、224、236、または 242 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、（b）配列番号 210、215、216、217、219、225、237、または 243 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、及び（c）配列番号 211、220、226、238、または 244 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 から選択される、1 つ、2 つ、または 3 つの HVR を含む。

【0234】

別の態様において、抗MIC抗体が提供され、抗体は、配列番号 348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382、384、386、388、390、392、394、396、398、400、402、404、406、408、410、412、414、416、418、420、422、424、426、428、430、432、434、436、438、または 440 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。特定の実施形態において、少なくとも 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する VL 配列は、基準配列と比較して、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗MIC抗体は、MIC に結合する能力を保持する。特定の実施形態において、合計 1～10 個のアミノ酸が、配

10

20

30

40

50

列番号 348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382、384、386、388、390、392、394、396、398、400、402、404、406、408、410、412、414、416、418、420、422、424、426、428、430、432、434、436、438、または440において置換、挿入、及び／または欠失されている。特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で（すなわち、FR内で）生じる。任意に、抗MIC抗体は、配列番号348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382、384、386、388、390、392、394、396、398、400、402、404、406、408、410、412、414、416、418、420、422、424、426、428、430、432、434、436、438、または440におけるVL配列（その配列の翻訳後修飾を含む）を含む。特定の実施形態において、VLは、（a）配列番号212、221、227、239、または245のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号213、222、228、240、または246のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号214、223、229、241、または247のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

10

【0235】

別の態様において、抗MIC抗体が提供され、抗体は、上記に提供される実施形態のいずれかにあるとおりのVH、及び上記に提供される実施形態のいずれかにあるとおりのVLを含む。一実施形態において、抗体は、それぞれ配列番号347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383、385、387、389、391、393、395、397、399、401、403、405、407、409、411、413、415、417、419、421、423、425、427、429、431、433、435、437、または439及び配列番号348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382、384、386、388、390、392、394、396、398、400、402、404、406、408、410、412、414、416、418、420、422、424、426、428、430、432、434、436、438、または440におけるVH及びVL配列（それらの配列の翻訳後修飾を含む）を含む。

20

30

【0236】

上記の実施形態のいずれにおいても、抗MIC抗体は、ヒト化されている。一実施形態において、抗MIC抗体は、上記の実施形態のいずれかにあるとおりのHVRを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えば、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークをさらに含む。別の実施形態において、抗MIC抗体は、上記の実施形態のいずれかにあるとおりのHVRを含み、図14A～図14Fに開示されるFR配列を含むVH及び／またはVLをさらに含む。いくつかの実施形態において、上述の抗MIC抗体は、（a）配列番号248、252、258、261、266、268、272、277、280、288、または291のアミノ酸配列を含むFR-L1、（b）配列番号249、253、256、259、262、264、269、273、275、278、281、283、289、または292のアミノ酸配列を含むFR-L2、（c）配列番号250、254、257、260、263、265、267、270、274、276、279、282、284、290、または293のアミノ酸配列を含むFR-L3、及び（d）配列番号251、255、271、または294のアミノ酸配列を含むFR-L4から選択される少なくとも1つ、2つ、3つ、または4つの軽鎖可変領域フレームワーク領域（FR）をさらに含む。他の実施形態において、上述の抗MIC抗体は、次の重鎖可変領域FR：a）配列番号295、299、303、315、319、32

40

50

3、325、329、331、333、339、または343のアミノ酸配列を含むFR-H1と、b)配列番号296、300、304、316、320、326、340、または344のアミノ酸配列を含むFR-H2と、c)配列番号297、301、305、306、307、308、309、310、311、312、313、314、317、321、322、324、327、330、332、334、341、または345のアミノ酸配列を含むFR-H3と、d)配列番号298、302、318、328、342、または346のアミノ酸配列を含むFR-H4と、をさらに含む。

【0237】

さらなる態様において、抗MIC抗体は、ヒトMICA*002、ヒトMICA*004、及びヒトMIB*005に結合することができる。いくつかの実施形態において、抗MIC抗体は、ヒトMICA*008、ヒトMICA*002、ヒトMICA*004、及びヒトMIB*005の細胞外ドメインに結合することができる。いくつかの実施形態において、抗MIC抗体は、ヒトMICA*008、ヒトMICA*002、ヒトMICA*004、及びヒトMIB*005のアルファ3ドメインに結合することができる。

【0238】

さらなる態様において、本発明は、本明細書に提供される抗MIC抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。例えば、特定の実施形態において、本明細書に提供される抗MIC抗体と同じエピトープに結合する抗体が提供される。

【0239】

本発明のさらなる態様において、上記の実施形態のいずれかによる抗MIC抗体は、キメラ抗体、ヒト化抗体、またはヒト抗体を含む、モノクローナル抗体である。一実施形態において、抗MIC抗体は、抗体断片、例えば、Fab、Fab'、Fab'-SH、Fv、一本鎖可変断片(scFv)、及び(Fab')断片である。別の実施形態において、抗体は、完全長抗体、例えば、本明細書において定義される無傷IgGクラス抗体もしくはIgG1アイソタイプまたは他の抗体クラスもしくはアイソタイプである。

【0240】

さらなる態様において、上記の実施形態のいずれかによる抗MIC抗体は、以下のセクション1～7に記載されるように、特徴のいずれかを、単独または組み合わせで組み込み得る。

【0241】

1. 抗体親和性

特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.01 \text{ nM}$ 、または $\leq 0.001 \text{ nM}$ （例えば、 10^{-8} M 以下、例えば、 $10^{-8} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$ 、例えば、 $10^{-9} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$ ）の解離定数(Kd)を有する。

【0242】

一実施形態において、Kdは、放射性標識抗原結合アッセイ(RIA)によって測定される。一実施形態において、RIAは、目的の抗体及びその抗原のFabバージョンを用いて行われる。例えば、抗原に対するFabの溶液結合親和性は、非標識抗原の一連の滴定の存在下で、Fabを最低濃度の(^{125}I)標識抗原と平衡させ、次いで、抗Fab抗体をコーティングしたプレートで結合した抗体を捕捉することによって測定される（例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293: 865-881 (1999)を参照されたい）。アッセイのための条件を確立するために、MICROTITER（登録商標）マルチウェルプレート（Thermo Scientific）を、50 mMの炭酸ナトリウム（pH 9.6）中5 $\mu\text{g/ml}$ の捕捉用抗Fab抗体（Cappel Labs）で一晩コーティングし、続いて、室温（約23℃）で2～5時間、PBS中2%（重量/体積）のウシ血清アルブミンによってブロッキングする。非吸着性のプレート（Nunc # 269620）中で、100 pMまたは26 pM [^{125}I] - 抗原を、目的とするFabの段階希釈液と混合する（例えば、Presta et al., C

ancer Res. 57:4593-4599 (1997)に記載の、抗VEGF抗体のFab-12の評価と一致する)。次に、目的とするFabを一晩インキュベートするが、このインキュベーションは、平衡が達成されることを確実にするために、より長い期間(例えば、約65時間)継続し得る。その後、混合物を、室温でのインキュベーション(例えば、1時間)のため、捕捉プレートに移す。次いで、溶液を除去し、プレートをPBS中0.1%ポリソルベート20(TWEEN-20(登録商標))で8回洗浄する。プレートが乾燥したら、150 μ L/ウェルのシンチラント(MICROSCINT-20(商標)、Packard)を付加し、プレートをTOPCOUNT(商標)ガンマ計数器(Packard)上で10分間、計数する。20%以下の最大結合を付与する各Fabの濃度を競合結合アッセイにおける使用のために選択する。

10

【0243】

別の実施形態に従うと、Kdは、BIACORE(登録商標)表面プラズモン共鳴アッセイを使用して測定される。例えば、BIACORE(登録商標)-2000またはBIACORE(登録商標)-3000(BIACORE, Inc., Piscataway, NJ)を使用するアッセイを、約10の応答単位(RU)で、固定化された抗原CM5チップによって25 $^{\circ}$ Cで実行する。一実施形態において、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサチップ(CM5、BIACORE, Inc.)は、供給者の指示に従って、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩(EDC)及びN-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)を用いて活性化される。抗原をpH4.8の10mMの酢酸ナトリウムによって5 μ g/ml(約0.2 μ M)に希釈した後、5 μ l/分の流量で注射し、カップリングされたタンパク質の約10応答単位(RU)を達成する。抗原の注射に続いて、1Mのエタノールアミンを注射して、未反応基をブロッキングする。動態測定のために、Fabの2倍段階希釈液(0.78nM~500nM)を、25 $^{\circ}$ Cの0.05%ポリソルベート20(TWEEN-20(商標))界面活性剤(PBST)を有するPBS中に約25 μ l/分の流量で注入する。会合速度(kon)及び解離速度(koff)を、会合センサグラム及び解離センサグラムを同時に適合することによって、単純1対1Langmuir結合モデル(BIACORE(登録商標)Evaluation Softwareバージョン3.2)を使用して計算する。平衡解離定数(Kd)は、koff/kon比として計算される。例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)を参照されたい。上記表面プラズモン共鳴アッセイによるオン速度が106M⁻¹s⁻¹を超える場合、オン速度は、ストップフローを備えた分光光度計(Aviv Instruments)または攪拌キュベットを備えた8000シリーズSLM-AMINCO(商標)分光光度計(ThermoSpectronic)などの分光計で測定される、増加する抗原濃度の存在下、25 $^{\circ}$ Cで、pH7.2のPBS中20nMの抗-抗原抗体(Fab形態)の蛍光発光強度(励起=295nm、発光=340nm、16nm帯域通過)の増加または減少を測定する蛍光消光技法を使用することによって決定することができる。

20

30

【0244】

2. 抗体断片

特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片には、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、及びscFv断片、ならびに以下に記載される他の断片が含まれるが、これらに限定されない。特定の抗体断片の概説については、Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134(2003)を参照されたい。scFv断片の概説については、例えば、Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315(1994)を参照、またWO 93/16185、ならびに米国特許第5,571,894号及び同第5,587,458号を参照されたい。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、増加したインビボ半減期を有する、Fab及びF(ab')₂断片の考察について

40

50

は、米国特許第 5, 869, 046 号を参照されたい。

【0245】

ダイアボディは、二価または二重特異性であり得る 2 つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、EP 404, 097、WO 1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); 及び Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993) を参照されたい。トリアボディ及びテトラボディも、Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003) に記載されている。

【0246】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全てもしくは一部、または軽鎖可変ドメインの全てもしくは一部を含む、抗体断片である。特定の実施形態において、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である (Domantis, Inc., Waltham, MA; 例えば、米国特許第 6, 248, 516 B1 号を参照されたい)。

【0247】

抗体断片は、本明細書に記載されるように、無傷抗体のタンパク質消化、及び組換え宿主細胞 (例えば、E. coli またはファージ) による産生を含むが、これらに限定されない、様々な技法によって作製され得る。

【0248】

3. キメラ抗体及びヒト化抗体

特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、キメラ抗体である。特定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第 4, 816, 567 号及び Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984) に記載されている。一例では、キメラ抗体は、非ヒト可変領域 (例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、または非ヒト霊長類、例えばサルに由来する可変領域) 及びヒト定常領域を含む。さらなる例では、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のクラスまたはサブクラスから変化した「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体には、その抗原結合断片が含まれる。

【0249】

特定の実施形態において、キメラ抗体はヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、非ヒト親抗体の特異性及び親和性を保持しながら、ヒトに対する免疫原性を低減させるために、ヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、HVR、例えば、CDR (またはその一部) が非ヒト抗体に由来し、及び FR (またはその一部) がヒト抗体配列に由来する 1 つ以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、任意に、ヒト定常領域の少なくとも一部も含む。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体中のいくつかの FR 残基は、例えば、抗体特異性または親和性を復元または改善するために、非ヒト抗体 (例えば、HVR 残基が由来する抗体) 由来の対応する残基で置換される。

【0250】

ヒト化抗体及びそれらの作製方法は、例えば、Almagro and Franss on, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008) に概説されており、例えば、Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989); 米国特許第 5, 821, 337 号, 同第 7, 527, 791 号, 同第 6, 982, 321 号, 及び同第 7, 087, 409 号; Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (特異性決定領域 (SDR) グラフティングについて記載)、Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) (「表面再構成」について記載)、Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005) (「FR シャッフリング」について記載)、ならびに Osbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) 及び Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000) (FR シャッフリングへの「誘

10

20

30

40

50

導選択」アプローチについて記載)にさらに記載されている。

【0251】

ヒト化に使用され得るヒトフレームワーク領域は、「ベストフィット」方法を使用して選択されるフレームワーク領域(例えば、Sims et al. Immunol. 151:2296(1993)を参照されたい)、軽鎖可変領域または重鎖可変領域の特定の下位群のヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域(例えば、Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285(1992)、及びPresta et al. J. Immunol., 151:2623(1993)を参照されたい)、ヒト成熟(体細胞変異)フレームワーク領域またはヒト生殖系フレームワーク領域(例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633(2008)を参照されたい)、及びFRライブラリのスクリーニングから得られるフレームワーク領域(例えば、Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684(1997)及びRosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618(1996)を参照されたい)を含むが、これらに限定されない。

10

【0252】

4. ヒト抗体

特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野で既知の種々の技法を使用して産生することができる。ヒト抗体は、概して、van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74(2001)及びLonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459(2008)に記載されている。

20

【0253】

ヒト抗体は、抗原チャレンジに応答して無傷ヒト抗体またはヒト可変領域を有する無傷抗体を産生するように修飾されたトランスジェニック動物に免疫原を投与することによって調製され得る。かかる動物は、典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座を置き換えるか、または染色体外に存在するかもしれない動物の染色体内にランダムに組み込まれている、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含有する。かかるトランスジェニックマウスにおいて、内因性免疫グロブリン遺伝子座は一般に、不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の概説については、Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125(2005)を参照されたい。例えば、XENOMOUSE(商標)技術を記載する米国特許第6,075,181号及び同第6,150,584、HuMab(登録商標)技術を記載する米国特許第5,770,429号、K-M MOUSE(登録商標)技術を記載する米国特許第7,041,870号、ならびにVelociMouse(登録商標)技術を記載する米国特許出願公開第US2007/0061900号も参照されたい。かかる動物により生成された無傷抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによりさらに修飾され得る。

30

【0254】

ヒト抗体は、ハイブリドーマに基づく方法によっても作製され得る。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髓腫及びマウス-ヒトヘテロ骨髓腫細胞株が説明されている。(例えば、Kozbor J. Immunol., 133:3001(1984)、Broddeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)、及びBoerner et al., J. Immunol., 147:86(1991)を参照されたい。)ヒトB細胞ハイブリドーマ技術により生成されるヒト抗体については、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562(2006)にも記載されている。さらなる方法としては、例えば、米国特許第7,189,826号(ハイブリドーマ細胞株からのモノクローナルヒトIgM抗体の産生

40

50

について記載)及びNi, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268(2006)(ヒト-ヒトハイブリドーマについて記載)に記載の方法が挙げられる。ヒトハイブリドーマ技術(トリオーマ技術)については、Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937(2005)及びVollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185:91(2005)にも記載されている。

【0255】

ヒト抗体は、ヒト由来ファージディスプレイライブラリから選択されるFvクローン可変ドメイン配列を単離することによっても生成され得る。次いで、かかる可変ドメイン配列は、所望のヒト定常ドメインと組み合わせられ得る。抗体ライブラリからヒト抗体を選択するための技法は、以下に記載される。

【0256】

5. ライブラリ由来抗体

本発明の抗体は、所望される活性(複数可)を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリをスクリーニングすることによって単離され得る。例えば、ファージディスプレイライブラリを生成し、所望の結合特性を保有する抗体に関してかかるライブラリをスクリーニングするための様々な方法が当該技術分野で既知である。かかる方法は、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)に概説され、例えば、McCafferty et al., Nature 348:552-554、Clackson et al., Nature 352:624-628(1991)、Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597(1992)、Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175(Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)、Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2):299-310(2004)、Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093(2004)、Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34):12467-12472(2004)、及びLee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132(2004)にさらに記載されている。

【0257】

特定のファージディスプレイ法において、VH及びVL遺伝子のレパートリーは、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により別個にクローニングされ、ファージライブラリ内でランダムに組換えられ、これはその後、Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12:433-455(1994)に記載されるように、抗原結合ファージについてスクリーニングされ得る。ファージは典型的には、一本鎖Fv(scFv)断片またはFab断片のいずれかとして抗体断片をディスプレイする。免疫化源由来のライブラリは、ハイブリドーマの構築を必要とすることなく、高親和性抗体を免疫原に提供する。あるいは、Griffiths et al., EMBO J, 12:725-734(1993)に記載されるように、ナイーブレパートリーが(例えば、ヒトから)クローニングされて、免疫化することなく、広範な非自己抗原及び自己抗原に対する単一源の抗体を提供することができる。最後に、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381-388(1992)に記載されるように、幹細胞からの再編成されていないV遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含有するPCRプライマーを使用して高度に可変的なCDR3領域をコードし、インビトロでの再編成を達成することによってナイーブライブラリを合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリを説明している特許公開には、例えば、米国特許第5,

10

20

30

40

50

750, 373号、ならびに米国特許出願公開第2005/0079574号、同第2005/0119455号、同第2005/0266000号、同第2007/0117126号、同第2007/0160598号、同第2007/0237764号、同第2007/0292936号、及び同第2009/0002360号が挙げられる。

【0258】

ヒト抗体ライブラリから単離された抗体または抗体断片は、本明細書でヒト抗体またはヒト抗体断片と見なされる。

【0259】

6. 多重特異性抗体

特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば、二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも2つの異なる部位に対する結合特異性を有するモノクローナル抗体である。特定の実施形態において、結合特異性の一方は、MICへのものであり、他方は、任意の他の抗原へのものである。特定の実施形態において、二重特異性抗体は、MICの2つの異なるエピトープに結合し得る。二重特異性抗体を使用して、MICを発現する細胞に細胞傷害性薬剤を局所化することもできる。二重特異性抗体は、完全長抗体または抗体断片として調製され得る。

10

【0260】

多重特異性抗体を作製するための技法としては、異なる特異性を有する2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の組換え共発現(Milstein and Cuello, Nature 305:537(1983))、WO93/08829、及びTraunecker et al., EMBOJ. 10:3655(1991)を参照されたい)、及び「ノブインホール」操作(例えば、米国特許第5,731,168号を参照されたい)が挙げられるが、これらに限定されない。多重特異性抗体はまた、静電的ステアリング(electrostatic steering)効果を操作して抗体Fc-ヘテロ二量体分子を作製すること(WO2009/089004A1号)、2つ以上の抗体または断片を架橋すること(例えば、米国特許第4,676,980号、及びBrennan et al., Science, 229:81(1985)を参照されたい)、ロイシンジッパーを使用して二重特異性抗体を産生すること(例えば、Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553(1992)を参照されたい)、「ダイアボディ」技術を使用して二重特異性抗体断片を作製すること(例えば、Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448(1993)を参照されたい)、及び1本鎖Fv(sFv)二量体を使用すること(例えば、Gruber et al., J. Immunol., 152:5368(1994)を参照されたい)、ならびに例えば、Tutt et al., J. Immunol. 147:60(1991)に記載される三重特異性抗体を調製することによって、作製されてもよい。

20

30

【0261】

「オクトパス抗体」を含む3つ以上の機能的抗原結合部位を有する操作された抗体も、本明細書に含まれる(例えば、US2006/0025576A1を参照されたい)。

【0262】

本明細書の抗体または断片には、MICならびに別の異なる抗原に結合する抗原結合部位を含む「二重作用(Dual Acting)FAb」または「DAF」も含まれる(例えば、US2008/0069820を参照されたい)。

40

【0263】

7. 抗体バリエーション

特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体のアミノ酸配列バリエーションが企図される。例えば、抗体の結合親和性及び/または他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。抗体のアミノ酸配列バリエーションは、抗体をコードするヌクレオチド配列中に適切な修飾を導入することによるか、またはペプチド合成により調製され得る。かかる修飾には、例えば、抗体のアミノ酸配列内における、残基からの欠失、及び/または残

50

基への挿入、及び／または残基の置換が含まれる。最終構築物に到達するために欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせを行うことができるが、最終構築物が所望の特性、例えば、抗原結合を保有することを条件とする。

【0264】

a) 置換、挿入、及び欠失バリエーション

特定の実施形態において、1つ以上のアミノ酸置換を有する抗体バリエーションを提供する。置換変異原性のために対象となる部位は、HVR及びFRを含む。保存的置換は、表1において「好ましい置換」の見出しの下に示される。より実質的な変化は、表1において「例示的な置換」の見出しの下に提供され、アミノ酸側鎖クラスを参照してさらに以下に記載される。アミノ酸置換が目的とする抗体に導入され、産生物が所望の活性、例えば、

10

表1：アミノ酸置換。

元の残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala (A)	Val、Leu、Ile	Val
Arg (R)	Lys、Gln、Asn	Lys
Asn (N)	Gln、His、Asp、Lys、Arg	Gln
Asp (D)	Glu、Asn	Glu
Cys (C)	Ser、Ala	Ser
Gln (Q)	Asn、Glu	Asn
Glu (E)	Asp、Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn、Gln、Lys、Arg	Arg
Ile (I)	Leu、Val、Met、Ala、Phe、ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン、Ile、Val、Met、Ala、Phe	Ile
Lys (K)	Arg、Gln、Asn	Arg
Met (M)	Leu、Phe、Ile	Leu
Phe (F)	Trp、Leu、Val、Ile、Ala、Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val、Ser	Ser
Trp (W)	Tyr、Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp、Phe、Thr、Ser	Phe
Val (V)	Ile、Leu、Met、Phe、Ala、ノルロイシン	Leu

20

30

40

【0265】

アミノ酸は、一般的な側鎖特性に従って群分けされ得る：

(1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

50

- (2) 中性親水性：C y s、S e r、T h r、A s n、G l n；
- (3) 酸性：A s p、G l u；
- (4) 塩基性：H i s、L y s、A r g；
- (5) 鎖配向に影響を及ぼす残基：G l y、P r o；
- (6) 芳香族：T r p、T y r、P h e。

【0266】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーを別のクラスと交換することを伴う。

【0267】

1種類の置換バリエーションは、親抗体（例えば、ヒト化抗体またはヒト抗体）の1つ以上の超可変領域残基を置換することを伴う。一般に、さらなる研究のために選択される結果として生じるバリエーション（複数可）は、親抗体と比較して特定の生物学的特性の修飾（例えば、改善）を有し（例えば、親和性を増加し、免疫原性を低減し）、及び／または親抗体の実質的に保持された特定の生物学的特性を有する。例示的な置換型バリエーションは、例えば、本明細書に記載の技法などのファージディスプレイに基づく親和性成熟技法を使用して好都合に生成され得る親和性成熟抗体である。簡潔には、1つ以上のHVR残基が変異され、バリエーション抗体がファージ上にディスプレイされ、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。

【0268】

改変（例えば、置換）は、HVRにおいて、例えば、抗体親和性を改善するために行われ得る。かかる改変は、HVR「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟プロセス中に高頻度で変異を経るコドンによってコードされる残基（例えば、Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)を参照されたい）、及び／または抗原と接触する残基で行われ得、結果として得られたバリエーションVHまたはVLが結合親和性について試験される。二次ライブラリの構築及びそこから再選択による親和性成熟は、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))に記載されている。親和性成熟のいくつかの実施形態では、多様な方法（例えば、エラープロードPCR、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指向性変異誘発）のいずれかによって、成熟のために選択される可変遺伝子に多様性が導入される。次いで、二次ライブラリが作製される。次いで、ライブラリがスクリーニングされ、所望の親和性を有する任意の抗体バリエーションを特定する。多様性を導入する別の方法は、いくつかのHVR残基（例えば、一度に4～6つの残基）がランダム化されるHVR指向手法を伴う。抗原結合に参与するHVR残基は、例えば、アラニンスキャニング変異誘発またはモデリングを使用して、特異的に特定され得る。特に、CDR-H3及びCDR-L3が標的化されることが多い。

【0269】

特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、かかる改変が抗体の抗原に結合する能力を実質的に低減しない限り、1つ以上のHVR内で生じ得る。例えば、結合親和性を実質的に低減しない保存的改変（例えば、本明細書に提供されるような保存的置換）は、HVR内で行われ得る。かかる改変は、例えば、HVR内の抗原接触残基の外側であり得る。上で提供されるバリエーションVH及びVL配列の特定の実施形態において、各HVRは、改変されていないか、または1つ、2つ、または3つ以下のアミノ酸置換を含有するかのいずれかである。

【0270】

変異誘発のための標的とされ得る抗体の残基または領域の特定のための有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085に記載されるように、「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれる。この方法において、残基または標的残基群（例えば、a r g、a s p、h i s、l y s、及

10

20

30

40

50

び g l u などの荷電残基) が特定され、中性または負荷電アミノ酸 (例えば、アラニンまたはポリアラニン) により置き換えられて、抗体と抗原との相互作用に影響が及ぼされるかどうかを決定する。さらなる置換は、最初の置換に対する機能感受性を示すアミノ酸位置に導入され得る。あるいは、または加えて、抗体と抗原との間の接触点を特定するための抗原-抗体複合体の結晶構造。かかる接触残基及び隣接する残基が置換の候補として標的とされてもよく、または排除されてもよい。バリエーションは、スクリーニングされて、それらが所望の特性を含有するかどうか決定され得る。

【0271】

アミノ酸配列挿入には、長さが1残基から100以上の残基を含有するポリペプチドの範囲であるアミノ末端及び／またはカルボキシル末端の融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例には、N末端メチオニル残基を有する抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入型バリエーションには、酵素 (例えば、A D E P T のための) またはポリペプチドへの抗体のN末端またはC末端の融合が挙げられ、これは抗体の血清半減期を増加させる。

【0272】

b) グリコシル化バリエーション

特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増加または減少させるように改変される。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、1つ以上のグリコシル化部位が作製または除去されるようにアミノ酸配列を改変することによって好都合に達成され得る。

【0273】

抗体が F c 領域を含む場合、それに結合した炭水化物が改変され得る。哺乳動物細胞によって産生された天然抗体は、典型的には、N結合によって F c 領域の C H 2 ドメインの A s n 2 9 7 に一般に結合される分岐状の二分岐オリゴ糖を含む。例えば、W r i g h t e t a l . T I B T E C H 1 5 : 2 6 - 3 2 (1 9 9 7) を参照されたい。オリゴ糖には、様々な炭水化物、例えば、マンノース、N-アセチルグルコサミン (G l c N A c) 、ガラクトース、及びシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「ステム」の G l c N A c に結合したフコースが含まれ得る。いくつかの実施形態において、特定の特性が改善された抗体バリエーションを作製するために、本発明の抗体におけるオリゴ糖の修飾が行われ得る。

【0274】

一実施形態において、F c 領域に (直接的にまたは間接的に) 結合したフコースを欠く炭水化物構造を有する抗体バリエーションが提供される。例えば、かかる抗体中のフコースの量は、1 % ~ 8 0 % 、 1 % ~ 6 5 % 、 5 % ~ 6 5 % 、または 2 0 % ~ 4 0 % であり得る。フコースの量は、例えば、W O 2 0 0 8 / 0 7 7 5 4 6 に記載されるように、M A L D I - T O F 質量分析によって測定される、A s n 2 9 7 に結合した全ての糖構造 (例えば、複合体、ハイブリッド、及び高マンノース構造) の合計に対する、A s n 2 9 7 での糖鎖内のフコースの平均量を計算することによって決定される。A s n 2 9 7 は、F c 領域の約 2 9 7 位 (F c 領域残基の E u 付番) に位置するアスパラギン残基を指すが、A s n 2 9 7 はまた、抗体内のわずかな配列変動に起因して、2 9 7 位の約 ± 3 アミノ酸上流または下流、すなわち 2 9 4 ~ 3 0 0 位の間に位置してもよい。かかるフコシル化バリエーションは、改善された A D C C 機能を有し得る。例えば、米国特許公開第 U S 2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8 号 (P r e s t a , L .) 、 U S 2 0 0 4 / 0 0 9 3 6 2 1 (K y o w a H a k k o K o g y o C o . , L t d) を参照されたい。「脱フコシル化」または「フコース欠損」抗体バリエーションに関する出版物の例としては、U S 2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8 、 W O 2 0 0 0 / 6 1 7 3 9 、 W O 2 0 0 1 / 2 9 2 4 6 、 U S 2 0 0 3 / 0 1 1 5 6 1 4 、 U S 2 0 0 2 / 0 1 6 4 3 2 8 、 U S 2 0 0 4 / 0 0 9 3 6 2 1 、 U S 2 0 0 4 / 0 1 3 2 1 4 0 、 U S 2 0 0 4 / 0 1 1 0 7 0 4 、 U S 2 0 0 4 / 0 1 1 0 2 8 2 、 U S 2 0 0 4 / 0 1 0 9 8 6 5 、 W O 2 0 0 3 / 0 8 5 1 1 9 、 W O 2 0 0 3 / 0 8 4 5 7 0 、 W O 2 0 0 5 / 0 3 5 5 8 6 、 W O 2 0 0 5 / 0 3 5 7 7 8 、 W O 2 0 0 5 / 0 5 3 7 4

2、WO2002/031140、Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004)、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004) が挙げられる。脱フコシル化抗体を産生することが可能な細胞株の例には、タンパク質フコシル化が欠損した Lec13 CHO細胞 (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986)) ; 米国特許出願第US2003/0157108 A1号, Presta, L; 及びWO2004/056312 A1, Adams et al., 特に実施例11)、及びアルファ-1, 6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞などのノックアウト細胞株 (例えば、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004)) ; Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006)) ; 及びWO2003/085107を参照されたい) が挙げられる。

10

【0275】

例えば、抗体のFc領域に結合した二分岐オリゴ糖がGlcNAcにより二分される、二分されたオリゴ糖を有する抗体バリエーションがさらに提供される。かかる抗体バリエーションは、低減されたフコシル化及び／または改善されたADCC機能を有し得る。かかる抗体バリエーションの例は、例えば、WO2003/011878 (Jean-Mairet et al.)、米国特許第6,602,684号 (Umana et al.)、及びUS2005/0123546 (Umana et al.) に記載されている。Fc領域に結合しているオリゴ糖内に少なくとも1つのガラクトース残基を有する抗体バリエーションも提供される。かかる抗体バリエーションは、改善されたCDC機能を有し得る。かかる抗体バリエーションは、例えば、WO1997/30087 (Patel et al.)、WO1998/58964 (Raju, S.)、及びWO1999/22764 (Raju, S.) に記載されている。

20

【0276】

c) Fc領域バリエーション

特定の実施形態において、1つ以上のアミノ酸修飾が、本明細書に提供される抗体のFc領域に導入され、それによりFc領域バリエーションが生成され得る。Fc領域バリエーションは、1つ以上のアミノ酸位置にアミノ酸修飾 (例えば、置換) を含むヒトFc領域配列 (例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4 Fc領域) を含み得る。

30

【0277】

特定の実施形態において、本発明は、全てではないがいくつかのエフェクター機能を保有し、それにより、インビボでの抗体の半減期が重要であるが、さらに特定のエフェクター機能 (補体及びADCCなど) が不要であるか、または有害である用途に対して望ましい候補となる、抗体バリエーションを企図する。インビトロ及び／またはインビボ細胞傷害性アッセイを行って、CDC及び／またはADCC活性の低減／欠乏を確認することができる。例えば、Fc受容体 (FcR) 結合アッセイを行って、抗体がFcγR結合を欠く (したがってADCC活性を欠く可能性が高い) が、FcRn結合能力を保持していることを確実にすることができる。ADCCを媒介するための初代細胞であるNK細胞がFc (RIII) のみを発現する一方で、単球は、Fc (RI、Fc (RII、及びFc (RIII) を発現する。造血細胞でのFcR発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991) の464ページの表3に要約される。目的とする分子のADCC活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第5,500,362号 (例えば、Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)) を参照されたい) ; 及びHellstrom, I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985) ; 5,821,337 (Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)) を参照されたい) に記載されている。あるいは

40

50

、非放射性アッセイ法を用いてもよい（例えば、フローサイトメトリーのためのACTI（商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（Cell Technology, Inc. Mountain View, CA、及びCytotox 96（登録商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（Promega, Madison, WI）を参照されたい）。かかるアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞（PBMC）及びナチュラルキラー（NK）細胞が含まれる。あるいは、または加えて、目的とする分子のADCC活性は、インビボで、例えば、Clynes et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656（1998）に開示されるものなどの動物モデルで評価されてもよい。C1q結合アッセイを実行して、抗体がC1qに結合することができないためにCDC活性を欠くことを確認することもできる。例えば、WO2006/029879及びWO2005/100402におけるC1q及びC3c結合ELISAを参照されたい。補体活性化を評価するために、CDCアッセイが行われ得る（例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163（1996）；Cragg, M. S. et al., Blood 101:1045-1052（2003）；及びCragg, M. S. and M. J. Glennie, Blood 103:2738-2743（2004）を参照されたい）。FcRn結合及びインビボクリアランス／半減期決定もまた、当該技術分野において既知である方法を使用して実行することができる（例えば、Petkova, S. B. et al., Int'l. Immunol. 18（12）:1759-1769（2006）を参照されたい）。

10

20

【0278】

低下したエフェクター機能を有する抗体としては、Fc領域残基238、265、269、270、297、327、及び329のうちの1つ以上の置換を有するものが挙げられる（米国特許第6,737,056号）。かかるFc変異体としては、残基265及び297のアラニンへの置換を有するいわゆる「DANA」Fc変異体を含む、アミノ酸265、269、270、297、及び327位のうちの2つ以上での置換を有するFc変異体が挙げられる（米国特許第7,332,581号）。

【0279】

FcRへの結合が改善または低減された特定の抗体バリエーションが記載されている。（例えば、米国特許第6,737,056号；WO2004/056312；及びShields et al., J. Biol. Chem. 9（2）:6591-6604（2001）を参照されたい。）

30

【0280】

特定の実施形態において、抗体バリエーションは、ADCCを改善する1つ以上のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の298、333、及び／または334位（残基のEU付番）での置換を有するFc領域を含む。

【0281】

いくつかの実施形態において、例えば、米国特許第6,194,551号、WO99/51642、及びIdusogie et al. J. Immunol. 164:4178-4184（2000）に記載されるように、Fc領域でもたらされた改変の結果、改変された（すなわち、改善または低減いずれかの）C1q結合及び／または補体依存性細胞傷害性（CDC）をもたらす。

40

【0282】

母体IgGの胎児への移入に参与する、半減期が増加し、かつ新生児型Fc受容体（FcRn）への結合が改善された抗体（Guyer et al., J. Immunol. 117:587（1976）及びKim et al., J. Immunol. 24:249（1994））については、US2005/0014934A1（Hinton et al.）に記載されている。それらの抗体は、FcRnへのFc領域の結合を改善する、1つ以上の置換を内部に有するFc領域を含む。かかるFcバリエーションは、Fc領域残基：238、256、265、272、286、303、305、307、311、3

50

12、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、または434のうちの1つ以上での置換、例えば、Fc領域残基434の置換を有するものを含む（米国特許第7, 371, 826号）。

【0283】

Fc領域バリエーションの他の例に関して、Duncan & Winter, Nature 322: 738-40 (1988)；米国特許第5, 648, 260号；米国特許第5, 624, 821号；及びWO 94/29351も参照されたい。

【0284】

d) システイン操作抗体バリエーション

特定の実施形態において、抗体の1つ以上の残基がシステイン残基で置換されているシステイン操作された抗体、例えば、「thioMAb」を作製することが望ましい場合がある。特定の実施形態において、置換された残基は、抗体の接触可能な部位で生じる。それらの残基をシステインで置換することにより、反応性チオール基がそれによって抗体の接触可能な部位に位置付けられ、それを使用して、抗体を他の部分、例えば、薬物部分またはリンカー-薬物部分に抱合して、本明細書にさらに記載される免疫抱合体を作製することができる。特定の実施形態において、以下の残基のうちの任意の1つ以上を、システイン：軽鎖のV205（Kabata付番）、重鎖のA118（EU付番）、及び重鎖Fc領域のS400（EU付番）で置換することができる。システイン操作された抗体は、例えば、米国特許第7, 521, 541号に記載されるように生成され得る。

【0285】

e) 抗体誘導体

特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、当該技術分野で既知であり、容易に入手可能な追加の非タンパク質性部分を含有するようにさらに修飾され得る。抗体の誘導体化に好適な部分には、水溶性ポリマーが含まれるが、これらに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール/プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1, 3-ジオキソラン、ポリ-1, 3, 6-トリオキサン、エチレン/無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか）、及びデキストランまたはポリ（n-ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、プロピレノキシド/エチレノキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、ならびにこれらの混合物が含まれるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性のため、製造時に有利であり得る。ポリマーは、いずれの分子量のものであってもよく、分岐状であっても非分岐状であってもよい。抗体に結合したポリマーの数は異なり得、2つ以上のポリマーが結合している場合、それらは同じ分子であることも異なる分子であることもできる。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び/または種類は、改善される抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が定義された条件下である療法に使用されるかなどを含むが、これらに限定されない、考慮事項に基づいて決定され得る。

【0286】

別の実施形態において、放射線への曝露によって選択的に加熱され得る、抗体及び非タンパク質性部分の抱合体が提供される。一実施形態において、非タンパク質性部分は、カーボンナノチューブである（Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)）。放射線は、いずれの波長のものであってもよく、通常、細胞を傷つけないが、抗体-非タンパク質性部分に近接する細胞が殺滅される温度まで非タンパク質性部分を加熱する波長を含むが、これらに限定されない。

【0287】

B. 組換え方法及び組成物

抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載される、組換え方法及び組成物を使用して産生され得る。一実施形態において、本明細書に記載される抗MIC抗体をコードする単離された核酸が提供される。かかる核酸は、抗体のVLを含むアミノ酸配列及び／またはVHを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び／または重鎖）をコードし得る。さらなる実施形態において、かかる核酸を含む1つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。さらなる実施形態において、かかる核酸を含む宿主細胞が提供される。1つのかかる実施形態において、宿主細胞は、（1）抗体のVLを含むアミノ酸配列及び抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または（2）抗体のVLを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1のベクター、及び抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2のベクターを含む（例えば、それらで形質転換されている）。一実施形態において、宿主細胞は、真核性、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞またはリンパ系細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）である。一実施形態において、抗MIC抗体を作製する方法が提供され、方法は、上記で提供されるような、抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、抗体の発現に好適な条件下で培養することと、任意に、抗体を宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から回収することを含む。

10

【0288】

抗MIC抗体の組換え産生のために、例えば、上述のような、抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞内でのさらなるクローニング及び／または発現のために、1つ以上のベクター中に挿入される。かかる核酸は、従来の手順を使用して（例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離され、配列決定され得る。

20

【0289】

抗体をコードするベクターのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞には、本明細書に記載される原核生物細胞または真核生物細胞が含まれる。例えば、抗体は、特にグリコシル化及びFcエフェクター機能が必要とされない場合に、*Escherichia coli*などの細菌中で産生され得る。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第5,648,237号、同第5,789,199号、及び同第5,840,523号を参照されたい。（*E. coli*における抗体断片の発現について記載する、Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254も参照されたい。）発現後、抗体は、可溶性画分中で細菌細胞ペーストから単離され得、さらに精製され得る。

30

【0290】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物は、抗体をコードするベクターにとって好適なクローニングまたは発現宿主であり、そのグリコシル化経路が「ヒト化」されており、部分的または完全なヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらす、真菌及び酵母株を含む。Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004)、及びLi et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)を参照されたい。

40

【0291】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞はまた、多細胞生物（無脊椎動物及び脊椎動物）にも由来する。無脊椎動物細胞の例としては、植物細胞及び昆虫細胞が挙げられる。特に*Spodoptera frugiperda*細胞のトランスフェクションのために昆虫細胞と組み合わせて使用され得る、多数のバキュロウイルス株が特定されている。

【0292】

植物細胞培養物もまた、宿主として利用することができる。例えば、米国特許第5,959,177号、同第6,040,498号、同第6,420,548号、同第7,125,978号、及び同第6,417,429号（トランスジェニック植物において抗体を産生するためのPLANTIBODIES（商標）技術を記載）を参照されたい。

50

【0293】

脊椎動物細胞もまた、宿主として使用することができる。例えば、懸濁液中で成長するように適合された哺乳動物細胞株が有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例としては、SV40 (COS-7) で形質転換されたサル腎臓CV1株、ヒト胚腎臓株 (例えば、Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977) に記載される293または293細胞)、ベビーハムスター腎臓細胞 (BHK)、マウスセルトリ細胞 (例えば、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980) に記載されるTM4細胞)、サル腎臓細胞 (CV1)、アフリカミドリザル腎臓細胞 (VERO-76)、ヒト子宮頸癌細胞 (HELA)、イヌ腎臓細胞 (MDCK)、バッファローラット肝臓細胞 (BRL 3A)、ヒト肺細胞 (W138)、ヒト肝臓細胞 (Hep G2)、マウス乳腺腫瘍 (MMT 060562)、例えば、Mather et al., Annals N. Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982) に記載されるTRI細胞、MRC5細胞、及びFS4細胞が挙げられる。他の有用な哺乳動物宿主細胞株には、DHFR-CHO細胞 (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)) を含む、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、ならびにY0、NS0、及びSp2/0などの骨髓腫細胞株が含まれる。抗体産生に好適な特定の哺乳動物宿主細胞株の概説については、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003) を参照されたい。

10

20

【0294】

C. アッセイ

本明細書に提供される抗MIC抗体は、それらの物理的／化学的特性及び／または生物学的活性について、当該技術分野で既知の様々なアッセイによって、特定され得るか、スクリーニングされ得るか、または特徴付けられ得る。

【0295】

1. 結合アッセイ及び他のアッセイ

一態様において、本発明の抗体は、例えば、ELISA、ウェスタンブロットなどの既知の方法によって、その抗原結合活性について試験される。

【0296】

別の態様において、競合アッセイを使用して、MICへの結合について本明細書に記載される抗MIC抗体のいずれかと競合する抗体を特定してもよい。特定の実施形態において、かかる競合する抗体は、本明細書に記載される抗MIC抗体のいずれかによって結合される同じエピトープ (例えば、線状または立体構造エピトープ) に結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な例示的な方法は、Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ) に提供されている。

30

【0297】

例示的な競合アッセイにおいて、固定化されたMICは、MICに結合する第1の標識抗体 (例えば、本明細書に記載される抗MIC抗体のいずれか) と、MICへの結合について第1の抗体と競合するその能力について試験されている第2の非標識抗体とを含む溶液中でインキュベートされる。第2の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在し得る。対照として、固定化されたMICを、第1の標識抗体を含むが第2の非標識抗体を含まない溶液中でインキュベートする。第1の抗体のMICへの結合を許容する条件下でのインキュベーション後、過剰な非結合抗体を除去し、固定化されたMICと関連する標識の量を測定する。固定化されたMICと関連する標識の量が、対照試料と比較して試験試料中で実質的に低減される場合、それは、第2の抗体がMICへの結合について第1の抗体と競合していることを示す。Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch. 14 (Cold Spring

40

50

Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)を参照されたい。

【0298】

2. 活性アッセイ

一態様において、生物学的活性を有するその抗MIC抗体を特定するためのアッセイが提供される。生物学的活性は、例えば、MICのシェディングを低減すること及び／または可溶性MICのレベルを低減することを含み得る。かかる生物学的活性をインビボ及び／またはインビトロで有する抗体も提供される。

【0299】

特定の実施形態において、本発明の抗体は、かかる生物学的活性について試験される。いくつかの実施形態において、MICのシェディングの低減は、抗体の存在または不在でMIC発現細胞上の表面MICのレベルをアッセイ及び比較することによって試験される。細胞表面MICのレベルは、表面ポリペプチドを検出するために当業者に既知の定性的（例えば、免疫組織化学）または定量的（例えば、フローサイトメトリー）方法のいずれかを使用して検出することができる。例示的なアッセイは、WO2015/085210の実施例14に記載されている。他の実施形態において、可溶性MICのレベルの低減は、例えば、ELISAを使用して抗体の存在または不在でMIC発現細胞の培養培地に見られるMICのレベルをアッセイ及び比較することによって試験される。例示的なアッセイは、本明細書の実施例及びWO2013/117647の実施例8に記載されている。

10

20

【0300】

特定の実施形態において、MICのシェディングは、本明細書に記載される抗体の不在下でのMICのシェディングと比較して、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%低減する。

【0301】

特定の実施形態において、可溶性MICのレベルの低減は、本明細書に記載される抗体の不在下での可溶性MICのレベルの低減と比較して、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%低減する。

30

【0302】

本明細書に記載される抗体についての目的の他の生物学的活性は、対象においてがんもしくは免疫関連疾患を治療もしくはその進行を遅延、及び／または免疫応答もしくは機能を増加、増強、もしくは刺激するための抗体の有効性を増強するであろう任意のものを含む。かかる生物学的活性は、NK及びT細胞の細胞溶解機能の増強、NKG2D下方制御の阻害、インビボでMICの血清レベルを低減する能力、ならびに腫瘍成長の阻害を含み得る。これらの活性についてのアッセイは、当該技術分野において周知である。例示的なアッセイは、WO2015/085210に記載されている。特定の実施形態において、本明細書に記載される抗体は、生物学的活性を、本明細書に記載される抗体の不在下での生物学的活性のレベルと比較して、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%増強する。

40

【0303】

D. 免疫抱合体

本発明はまた、化学療法剤もしくは薬物、成長阻害剤、毒素（例えば、タンパク質毒素、細菌、真菌、植物、もしくは動物由来の酵素活性毒素、またはそれらの断片）、または放射性同位体などの1つ以上の細胞傷害性薬剤と抱合された本明細書における抗MIC抗体を含む免疫抱合体を提供する。

【0304】

一実施形態において、免疫抱合体は、抗体が1つ以上の薬物に抱合された抗体－薬物抱

50

合体（ADC）であり、薬物としては、マイタンシノイド（米国特許第5,208,020号、同第5,416,064号、及び欧州特許第EP 0 425 235 B1号を参照されたい）；モノメチルオーリスタチン薬物部分DE及びDFなどのオーリスタチン（MMAE及びMMAF）（米国特許第5,635,483号及び同第5,780,588号、ならびに同第7,498,298号を参照されたい）；ドラスタチン：カリケアマイシンまたはその誘導体（米国特許第5,712,374号、同第5,714,586号、同第5,739,116号、同第5,767,285号、同第5,770,701号、同第5,770,710号、同第5,773,001号、及び同第5,877,296号；Hinman et al. Cancer Res. 53:3336-3342 (1993)；ならびにLode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998)を参照されたい）；ダウノマイシンまたはドキソルビンなどのアントラサイクリン（Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006)；Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006)；Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005)；Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000)；Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002)；King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002)；及び米国特許第6,630,579号を参照されたい）；メトトレキサート；ビンデシン；ドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル、テセタキセル、及びオルタタキセルなどのタキサン；トリコテセン；ならびにCC1065を含むが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0305】

別の実施形態において、免疫抱合体は、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素A鎖（*Pseudomonas aeruginosa*由来）、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシンA鎖、アルファーサルシン、*Aleurites fordii*タンパク質、ジアンシントタンパク質、*Phytolacca americana*タンパク質（PAPI、PAPII、及びPAP-S）、*momordica charantia*阻害剤、クルシン、クロチン、*sapaonarria officinalis*阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、及びトリコテセンを含むがこれらに限定されない酵素活性毒素またはその断片に抱合された、本明細書に記載される抗体を含む。

【0306】

別の実施形態において、免疫抱合体は、放射性原子に抱合されて放射性抱合体を形成する、本明細書に記載される抗体を含む。放射性抱合体の産生には、様々な放射性同位体を利用可能である。例は、 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} 、及びLuの放射性同位体を含む。放射性抱合体が検出のために使用される場合、それは、シンチグラフィ研究のための放射性原子、例えば、 ^{99m}Tc もしくは I^{123} 、または核磁気共鳴（NMR）画像法（別名、磁気共鳴画像法、*mri*）のためのスピン標識、例えば、この場合もやはりヨウ素-123、ヨウ素-131、インジウム-111、フッ素-19、炭素-13、窒素-15、酸素-17、ガドリニウム、マンガン、もしくは鉄を含み得る。

【0307】

抗体及び細胞傷害性薬剤の抱合体は、N-スクシンイミジル-3-（2-ピリジルジチオ）プロピオネート（SPDP）、スクシンイミジル-4-（N-マレイミドメチル）シクロヘキサン-1-カルボキシレート（SMCC）、イミノチオラン（IT）、イミドエステルの二官能性誘導体（例えば、アジブイミド酸ジメチルHCl）、活性エステル（例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル）、アルデヒド（例えば、グルタルアルデヒド）、ビス-アジド化合物（例えば、ビス（p-アジドベンゾイル）ヘキサジアミン）、ビス-ジアゾニウム誘導体（例えば、ビス（p-ジアゾニウムベンゾイル）-エチレンジア

ミン)、ジイソシアネート(例えば、トルエン2, 6-ジイソシアネート)、及びビス-活性フッ素化合物(例えば、1, 5-ジフルオロ-2, 4-ジニトロベンゼン)などの様々な二官能性タンパク質結合剤を使用して作製され得る。例えば、リシン免疫毒素を、Vittetta et al., Science 238:1098 (1987)に記載されるように調製することができる。炭素-14で標識された1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸(MX-DTPA)は、放射性ヌクレオチドの抗体への抱合のための例示的なキレート剤である。WO94/11026を参照されたい。リンカーは、細胞内において細胞傷害性薬物の放出を促進する「切断可能リンカー」であってもよい。例えば、酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、感光性リンカー、ジメチルリンカー、またはジスルフィド含有リンカー(Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992)、米国特許第5, 208, 020号)を使用してもよい。

10

【0308】

本明細書の免疫抱合体またはADCは、(例えば、Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, U.S.Aから)市販されている、BMPS、EMCS、GMBs、HBVs、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMBs、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-SIAB、スルホ-SMCC、及びスルホ-SMPB、ならびにSVSB(スクシンイミジル-(4-ビニルスルホン)安息香酸塩)を含むが、これらに限定されない架橋剤試薬で調製されるかかる抱合体を明示的に企図するが、これらに限定されない。

20

【0309】

E. 診断及び検出のための方法及び組成物

特定の実施形態において、本明細書に提供される抗MIC抗体のいずれも、生体試料中のMICの存在の検出に有用である。「検出すること」という用語は、本明細書で使用されるとき、定量または定性検出を包含する。特定の実施形態において、生体試料は、生検、摘出標本、または微細針吸引からの腫瘍の試料などの、細胞または組織を含む。いくつかの実施形態において、生体試料は、腹水、尿、血液、血漿、または血清である。

【0310】

一実施形態において、診断または検出方法において使用するための抗MIC抗体が提供される。さらなる態様において、生体試料中のMICの存在を検出する方法が提供される。特定の実施形態において、方法は、抗MIC抗体のMICへの結合を許容する条件下で生体試料を本明細書に記載の抗MIC抗体と接触させることと、複合体が抗MIC抗体とMICとの間に形成されたかを検出することと、を含む。かかる方法は、インビトロまたはインビボ方法であり得る。一実施形態において、例えば、MICが患者の選択のためのバイオマーカーである場合、抗MIC抗体を使用して、抗MIC抗体での療法に適格な対象を選択する。本発明の抗体を使用して診断され得る例示的な障害には、上皮癌(例えば、黒色腫)などの、がんが含まれる。

30

【0311】

特定の実施形態において、標識された抗MIC抗体が提供される。標識としては、直接検出される標識または部分(蛍光標識、発色団標識、電子密度の高い標識、化学発光標識、及び放射性標識など)、及び間接的に、例えば、酵素反応または分子相互作用により検出される酵素またはリガンドなどの部分が挙げられるが、これらに限定されない。例となる標識には、放射性同位体 ^{32}P 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^3H 、及び ^{131}I 、希土類キレートまたはフルオレセイン及びその誘導体などのフルオロフォア、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、ルシフェラーゼ、例えば、ホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ(米国特許第4, 737, 456号)、ルシフェリン、2, 3-ジヒドロフタラジンジオン、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、糖質オキシダーゼ、例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、及びグルコース-6-リン酸

40

50

塩デヒドロゲナーゼ、過酸化水素を用いて色素前駆体を酸化させる酵素、例えば、HRP、ラクトペルオキシダーゼ、またはマイクロペルオキシダーゼとカップリングされた、ウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼなどの複素環式オキシダーゼ、ビオチン／アビジン、スピン標識、バクテリオファージ標識、安定した遊離ラジカルなどが含まれるが、これらに限定されない。

【0312】

F. 薬学的製剤及び組成物

本明細書に記載される抗MIC抗体の薬学的製剤及び組成物は、所望の程度の純度を有するかかる抗体と、1つ以上の任意の薬学的に許容される担体（Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)）とを混合することによって、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で調製される。薬学的に許容される担体は一般に、レシピエントに対し、用いられる投薬量及び濃度で無毒であり、緩衝剤、例えば、リン酸、クエン酸、及び他の有機酸；アスコルビン酸及びメチオニンを含む酸化防止剤；保存剤（オクタデシルジメチルベンジル塩化アンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル、またはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えば、メチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペントノール；及びm-クレゾールなど）；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば、血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えば、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、もしくはリジン；グルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む、単糖類、二糖類、及び他の炭水化物；キレート剤、例えば、EDTA；糖類、例えば、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；塩形成対イオン、例えば、ナトリウム；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；及び／または非イオン性界面活性剤、例えば、ポリエチレングリコール（PEG）を含むが、これらに限定されない。本明細書における例示的な薬学的に許容される担体は、可溶性の中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質（sHASEGP）、例えば、rHuPH20（HYLENE X（登録商標）、Baxter International, Inc.）などのヒト可溶性PH-20ヒアルロニダーゼ糖タンパク質などの介在性薬物分散剤をさらに含む。rHuPH20を含む、特定の例示的なsHASEGP及び使用方法は、米国特許公開第2005/0260186号及び同第2006/0104968号に記載されている。一態様において、sHASEGPは、コンドロイチナーゼなどの1つ以上の追加のグリコサミノグリカナーゼと組み合わせられる。

【0313】

例示的な凍結乾燥抗体製剤については、米国特許第6,267,958号に記載されている。水性抗体製剤には、米国特許第6,171,586号及びWO2006/044908号に記載されるものが含まれ、後者の製剤は、ヒスチジン-酢酸バッファを含む。

【0314】

本明細書における製剤はまた、治療される特定の適応症に必要な2つ以上の活性成分、好ましくは互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有するものを含有してもよい。例えば、追加の医薬品（その例は本明細書に提供される）をさらに提供することが望ましい場合がある。かかる活性成分は、意図される目的に有効な量で組み合わせられて好適に存在する。

【0315】

活性成分は、コロイド薬物送達系（例えば、リボソーム、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、及びナノカプセル）中またはマクロエマルジョン中において、それぞれ、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、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及びポリ-（メチルメタクリレート）マイクロカプセルに取り込まれ得る。かかる技法は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に開示されてい

る。

【0316】

徐放性調製物が調製され得る。徐放性調製物の好適な例としては、抗体を含有する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、成形物品、例えば、フィルムまたはマイクロカプセルの形態である。

【0317】

インビボ投与に使用される製剤は一般に、滅菌される。滅菌は、例えば、滅菌濾過膜を通す濾過によって容易に達成され得る。

【0318】

G. 治療方法及び組成物

本明細書に提供される抗MIC抗体のいずれも、治療方法において使用することができる。

【0319】

一態様において、医薬品として使用するための抗MIC抗体が提供される。さらなる態様において、がんもしくは免疫関連疾患（例えば、NKG2Dリガンドと関連している免疫関連疾患、消散していない急性感染、慢性感染、腫瘍免疫）の治療もしくはその進行の遅延、または免疫応答もしくは機能の増加、増強、もしくは刺激に使用するための抗MIC抗体が提供される。特定の実施形態において、治療方法に使用するための抗MIC抗体が提供される。特定の実施形態において、本発明は、個体に有効量の抗MIC抗体を投与することを含む、がんもしくは免疫関連疾患（例えば、NKG2Dリガンドと関連している免疫関連疾患、消散していない急性感染、慢性感染、腫瘍免疫）を有するか、または免疫応答もしくは機能を増加、増強、もしくは刺激する必要がある個体を治療する方法に使用するための抗MIC抗体を提供する。1つのかかる実施形態において、方法は、例えば、以下に記載されるように、個体に有効量の少なくとも1つの追加の治療剤を投与することをさらに含む。さらなる実施形態において、本発明は、MICのシェディングの低減及び／または可溶性MICのレベルの低減に使用するための抗MIC抗体を提供する。特定の実施形態において、本発明は、個体に有効量の抗MIC抗体を投与して、MICのシェディングを低減及び／または可溶性MICのレベルを低減することを含む、個体においてMICのシェディングを低減及び／または可溶性MICのレベルを低減する方法に使用するための抗MIC抗体を提供する。上記の実施形態のいずれかによる「個体」は、好ましくはヒトである。

【0320】

さらなる態様において、本発明は、医薬品の製造または調製における抗MIC抗体の使用を提供する。一実施形態において、医薬品は、がんもしくは免疫関連疾患（例えば、NKG2Dリガンドと関連している免疫関連疾患、消散していない急性感染、慢性感染、腫瘍免疫）を治療もしくはその進行を遅延、または免疫応答もしくは機能を増加、増強、もしくは刺激するためのものである。さらなる実施形態において、医薬品は、がんもしくは免疫関連疾患（例えば、NKG2Dリガンドと関連している免疫関連疾患、消散していない急性感染、慢性感染、腫瘍免疫）を有するか、または免疫応答もしくは機能を増加、増強、もしくは刺激する必要がある個体に、有効量の医薬品を投与することを含む、がんもしくは免疫関連疾患（例えば、NKG2Dリガンドと関連している免疫関連疾患、消散していない急性感染、慢性感染、腫瘍免疫）を治療もしくはその進行を遅延、または免疫応答もしくは機能を増加、増強、もしくは刺激する方法において使用される。1つのかかる実施形態において、方法は、例えば、以下に記載されるように、個体に有効量の少なくとも1つの追加の治療剤を投与することをさらに含む。さらなる実施形態において、医薬品は、MICのシェディングを低減及び／または可溶性MICのレベルを低減するためのものである。さらなる実施形態において、医薬品は、個体に有効量の医薬品を投与して、MICのシェディングを低減及び／または可溶性MICのレベルを低減することを含む、個体においてMICのシェディングを低減及び／または可溶性MICのレベルを低減する方法において使用される。上記の実施形態のいずれかによる「個体」は、ヒトであり得る。

10

20

30

40

50

【0321】

さらなる態様において、本発明は、がんもしくは免疫関連疾患（例えば、NK G2 D リガンドと関連している免疫関連疾患、消散していない急性感染、慢性感染、腫瘍免疫）を治療もしくはその進行を遅延、または免疫応答もしくは機能を増加、増強、もしくは刺激するための方法を提供する。一実施形態において、方法は、がんもしくは免疫関連疾患（例えば、NK G2 D リガンドと関連している免疫関連疾患、消散していない急性感染、慢性感染、腫瘍免疫）を有するか、または免疫応答もしくは機能を増加、増強、もしくは刺激する必要がある個体に、有効量の抗M I C抗体を投与することを含む。1つのかかる実施形態において、方法は、以下に記載されるように、個体に有効量の少なくとも1つの追加の治療剤を投与することをさらに含む。上記の実施形態のいずれかによる「個体」は、

10

【0322】

さらなる態様において、本発明は、個体においてM I Cのシェディングを低減及び／または可溶性M I Cのレベルを低減するための方法を提供する。一実施形態において、方法は、個体に有効量のM I Cのシェディングを低減及び／または可溶性M I Cのレベルを低減する抗M I C抗体を投与することを含む。一実施形態において、「個体」は、ヒトである。

【0323】

上述の治療方法の実施形態において、がんは、任意の上皮癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、黒色腫、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、膠芽腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌、または他の血液系悪性腫瘍である。

20

【0324】

さらなる態様において、本発明は、例えば、上記の治療方法のいずれかにおける使用のための、本明細書に提供される抗M I C抗体のいずれかを含む薬学的製剤を提供する。一実施形態において、薬学的製剤は、本明細書に提供される抗M I C抗体のうちのいずれかと薬学的に許容される担体とを含む。別の実施形態において、薬学的製剤は、本明細書に提供される抗M I C抗体のうちのいずれかと、例えば、以下の併用療法セクションに記載される、少なくとも1つの追加の治療剤とを含む。

【0325】

本発明の抗体（及び任意の追加の治療剤）は、非経口、肺内、及び鼻腔内、ならびに局所治療で所望の場合、病変内投与を含む、任意の好適な手段によって投与され得る。非経口注入は、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与を含む。投薬は、部分的には、投与が短時間であるか、または慢性的であるかに応じて、例えば、任意の好適な経路によるもの、例えば、静脈内注射または皮下注射などの注射によるものであり得る。単回または様々な時点にわたる複数回投与、ボラス投与、及びパルス注入を含むがこれらに限定されない、様々な投薬スケジュールが本明細書で企図される。

30

【0326】

本発明の抗体は、良好な医療行為と一貫した様式で、製剤化され、投薬され、及び投与される。この文脈において検討する因子には、治療される特定の障害、治療される特定の哺乳動物、個別の患者の臨床状態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与スケジュール、及び医療従事者に既知である他の因子が含まれる。抗体は、そうである必要はないが、任意に、問題の障害を予防または治療するために現在使用されている1つ以上の薬剤とともに製剤化される。かかる他の薬剤の有効量は、製剤中に存在する抗体の量、障害または治療の種類、及び上記で考察される他の要因に左右される。これらは、一般に、本明細書に記載のものと同一投薬量及び投与経路で、または本明細書に記載の投薬量の約1～99%、または適切であると経験的／臨床的に決定される任意の投薬量及び任意の経路で使用される。

40

【0327】

疾患の予防または治療について、本発明の抗体の適切な投薬量は（単独で、または1つ

50

以上の他の追加の治療剤と組み合わせて使用される場合)、治療される疾患の種類、抗体の種類、疾患の重症度及び経過、抗体が予防目的または治療目的で投与されるか、以前の療法、患者の病歴及び抗体への応答、ならびに主治医の裁量に左右される。抗体は、一度に、または一連の治療にわたって患者に適切に投与される。疾患の種類及び重症度に応じて、例えば、1回以上の別個の投与によるか、または連続注入によるかにかかわらず、約 $1\mu\text{g}/\text{kg} \sim 15\text{mg}/\text{kg}$ (例えば、 $0.1\text{mg}/\text{kg} \sim 10\text{mg}/\text{kg}$) の抗体が、患者への投与のための初期候補投薬量であり得る。1つの典型的な一日投薬量は、上記で言及した因子に応じて、約 $1\mu\text{g}/\text{kg} \sim 100\text{mg}/\text{kg}$ 以上の範囲であり得る。数日以上にわたる反復投与について、状態に応じて、治療は、疾患の症状の所望される抑制が発生するまで、一般に持続される。抗体の1つの例示的な投薬量は、約 $0.05\text{mg}/\text{kg} \sim 10\text{mg}/\text{kg}$ の範囲である。したがって、約 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 、 $2.0\text{mg}/\text{kg}$ 、 $4.0\text{mg}/\text{kg}$ 、または $10\text{mg}/\text{kg}$ (またはこれらの任意の組み合わせ) のうちの1つ以上の用量が、患者に投与され得る。かかる用量は、断続的に、例えば、毎週または3週間毎に (例えば、患者が約2～約20回、または例えば、約6回の用量の抗体を受けるように) 投与されてもよい。最初のより高い負荷用量に続いて、1つ以上のより低い用量が投与され得る。しかしながら、他の投薬量レジメンが有用であり得る。この療法の進行は、従来の技法及び解析によって容易に監視される。

10

【0328】

上記の製剤または治療方法のうちのいずれも、抗MIC抗体の代わりに、またはそれに加えて、本発明の免疫抱合体を使用して行われ得ることが理解される。

20

【0329】

併用療法

本発明の抗体は、療法において単独で、または他の薬剤と組み合わせて使用することができる。例えば、本発明の抗体は、少なくとも1つの追加の治療剤と同時投与され得る。上記のかかる併用療法は、(同じまたは別個の製剤中に2つ以上の治療剤が含まれる) 組み合わせられた投与及び別個の投与を包含し、別個の投与の場合、本発明の抗体の投与は、追加の治療剤(複数可)の投与前、投与と同時に、及び/または投与後に行うことができる。一実施形態において、抗MIC抗体の投与及び追加の治療剤の投与は、互いの約1カ月以内、または約1、2、もしくは3週間以内、または約1、2、3、4、5、もしくは6日以内に行われる。本発明の抗体は、放射線療法と組み合わせて使用することもできる。

30

【0330】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、化学療法または化学療法剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、放射線療法または放射線療法剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、標的療法または標的療法剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、免疫療法または免疫療法剤、例えば、モノクローナル抗体と併せて投与され得る。

【0331】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、PD-1軸結合アンタゴニストと併せて投与され得る。PD-1軸結合アンタゴニストには、PD-1結合アンタゴニスト、PD-L1結合アンタゴニスト、及びPD-L2結合アンタゴニストが含まれるが、これらに限定されない。「PD-1」の代替名には、CD279及びSLEB2が含まれる。「PD-L1」の代替名には、B7-H1、B7-4、CD274、及びB7-Hが含まれる。「PD-L2」の代替名には、B7-DC、Btdc、及びCD273が含まれる。いくつかの実施形態において、PD-1、PD-L1、及びPD-L2は、ヒトPD-1、PD-L1、及びPD-L2である。いくつかの実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、PD-1のそのリガンド結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、PD-1リガンド結合パートナーは、PD-L1及び/またはPD-L2である。別の実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは

40

50

、PD-L1のその結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、PD-L1結合パートナーは、PD-1及び／またはB7-1である。別の実施形態において、PD-L2結合アンタゴニストは、PD-L2のその結合パートナー、例えば、抗PD-L2抗体またはイムノアドヘシンへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、PD-L2結合パートナーは、PD-1である。アンタゴニストは、抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、またはオリゴペプチドであり得る。いくつかの実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、抗PD-1抗体（例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体）である。いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体は、MDX-1106（ニボルマブ、OPDIVO）、Merck 3475（MK-3475、ペムブロリズマブ、KEYTRUDA）、CT-011（ピジリズマブ）、MEDI-0680（AMP-514）、PDR001、REGN2810、BGB-108、及びBGB-A317からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、イムノアドヘシン（例えば、定常領域（例えば、免疫グロブリン配列のFc領域）に融合したPD-L1またはPD-L2の細胞外またはPD-1結合部分を含むイムノアドヘシン）である。いくつかの実施形態において、PD-1結合アンタゴニストは、AMP-224である。いくつかの実施形態において、PD-L1結合アンタゴニストは、抗PD-L1抗体である。いくつかの実施形態において、抗PD-L1結合アンタゴニストは、YW243.55.S70、MPDL3280A（アテゾリズマブ）、MEDI4736（デュルバルマブ）、MDX-1105、及びMSB0010718C（アベルマブ）からなる群から選択される。MDX-1105、別名、BMS-936559は、WO2007/005874に記載される抗PD-L1抗体である。抗体YW243.55.S70（それぞれ配列番号20及び21に示される重鎖及び軽鎖可変領域）は、WO2010/077634A1に記載される抗PD-L1である。MDX-1106、別名、MDX-1106-04、ONO-4538、BMS-936558、またはニボルマブは、WO2006/121168に記載される抗PD-1抗体である。Merck 3475、別名、MK-3475、SCH-900475、またはペムブロリズマブは、WO2009/114335に記載される抗PD-1抗体である。CT-011、別名、hBAT、hBAT-1、またはピジリズマブは、WO2009/101611に記載される抗PD-1抗体である。AMP-224、別名、B7-DCIgは、WO2010/027827及びWO2011/066342に記載されるPD-L2-Fc融合可溶性受容体である。いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体は、MDX-1106である。「MDX-1106」の代替名には、MDX-1106-04、ONO-4538、BMS-936558、またはニボルマブが含まれる。いくつかの実施形態において、抗PD-1抗体は、ニボルマブ（CAS登録番号：946414-94-4）である。

10

20

30

【0332】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、活性化共刺激分子に対して指向されるアゴニストと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、活性化共刺激分子は、CD40、CD226、CD28、GITR、CD137、CD27、HVEM、またはCD127を含み得る。いくつかの実施形態において、活性化共刺激分子に対して指向されるアゴニストは、CD40、CD226、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、HVEM、またはCD127に結合するアゴニスト抗体である。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、阻害性共刺激分子に対して指向されるアンタゴニストと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、阻害性共刺激分子には、CTLA-4（別名、CD152）、PD-1、TIM-3、BTLA、VISTA、LAG-3、B7-H3、B7-H4、IDO、TIGIT、MICA/B、またはアルギナーゼが含まれ得る。いくつかの実施形態において、阻害性共刺激分子に対して指向されるアンタゴニストは、CTLA-4、PD-1、TIM-3、BTLA、VISTA、LAG-3（例えば、LAG-3-IgG融合タンパク質（IMP321））、B7-H3、B7-H4、IDO、TIGIT、MICA/B、またはアルギナ

40

50

ーゼに結合するアンタゴニスト抗体である。

【0333】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CTLA-4（別名、CD152）に対して指向されるアンタゴニスト、例えば、ブロック抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、イピリムマブ（別名、MDX-010、MDX-101、またはYervoy（登録商標））と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、トレメリムマブ（別名、チシリムマブまたはCP-675, 206）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、B7-H3（別名、CD276）に対して指向されるアンタゴニスト、例えば、ブロック抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、MGA271と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、TGFベータに対して指向されるアンタゴニスト、例えば、メテリムマブ（別名、CAT-192）、フレソリムマブ（別名、GC1008）、またはLY2157299と併せて投与され得る。

【0334】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、キメラ抗原受容体（CAR）を発現するT細胞（例えば、細胞傷害性T細胞またはCTL）の養子移入を含む治療と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、UCART19と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、WT128zと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、KTE-C19（Kite）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CTL019（Novartis）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、優性陰性TGFベータ受容体、例えば、優性陰性TGFベータII型受容体を含むT細胞の養子移入を含む治療と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、HERCREEMプロトコル（例えば、ClinicalTrials.gov Identifier NCT00889954を参照されたい）を含む治療と併せて投与され得る。

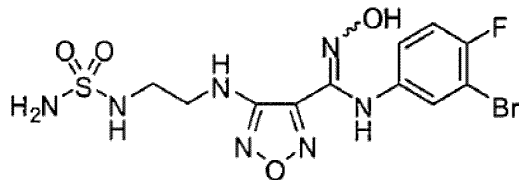
【0335】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CD19に対して指向されるアンタゴニストと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、MOR00208と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CD38に対して指向されるアンタゴニストと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ダラツムマブと併せて投与され得る。

【0336】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CD137（別名、TNFRSF9、4-1BB、またはILA）に対して指向されるアゴニスト、例えば、活性化抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ウレルマブ（別名、BMS-663513）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CD40に対して指向されるアゴニスト、例えば、活性化抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CP-870893またはRO7009789と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、OX40（別名、CD134）に対して指向されるアゴニスト、例えば、活性化抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CD27に対して指向されるアゴニスト、例えば、活性化抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CDX-1127（別名、バルリルマブ）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、インドールアミン-2, 3-ジオキシゲナーゼ（IDO）に対して指向されるアンタゴニストと併せて投与され

得る。いくつかの実施形態において、IDOアンタゴニストとともに、1-メチル-D-トリプトファン（別名、1-D-MT）がある。いくつかの実施形態において、IDOアンタゴニストは、WO 2010/005958（その内容は本明細書に記録によって明確に組み込まれる）に示されるIDOアンタゴニストである。いくつかの実施形態において、IDOアンタゴニストは、（例えば、WO 2010/005958の実施例23に記載される）4-（{2-[(アミノスフホニル)アミノ]エチル}アミノ)-N-（3-ブロモ-4-フルオロフェニル）-N'-ヒドロキシ-1,2,5-オキサジアゾール-3-カルボキシイミドである。いくつかの実施形態において、IDOアンタゴニストは



である。

【0337】

いくつかの実施形態において、IDOアンタゴニストは、INCB24360である。いくつかの実施形態において、IDOアンタゴニストは、インドキシモド（1-メチル-D-トリプトファンのD異性体）である。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗体-薬物抱合体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、抗体-薬物抱合体は、メルタンシンまたはモノメチルオーリスタチンE（MMAE）を含む。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗NaPi2b抗体-MMAE抱合体（別名、DNIB0600A、RG7599、またはリファスツズマブベドチン）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、トラスツズマブエムタンシン（別名、T-DM1、アドートラスツズマブエムタンシン、またはKADCYLA（登録商標）、Genentech）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗MUC16抗体-MMAE抱合体、DMUC5754Aと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗MUC16抗体-MMAE抱合体、DMUC4064Aと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、エンドセリンB受容体（EDNBR）を標的とする抗体-薬物抱合体、例えば、MMAEと抱合されたEDNBRに対して指向される抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、リンパ球抗原6複合体、遺伝子座E（Ly6E）を標的とする抗体-薬物抱合体、例えば、MMAEと抱合されたLy6Eに対して指向される抗体（別名、DLYE5953A）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ボラツズマブベドチンと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CD30を標的とする抗体-薬物抱合体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ADCETRIS（別名、ブレンツキシマブベドチン）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ボラツズマブベドチンと併せて投与され得る。

【0338】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、血管新生阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、VEGFに対して指向される抗体、例えば、VEGF-Aと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ（別名、AVASTIN（登録商標）、Genentech）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、アンジオポエチン2（別名、Ang2）に対して指向される抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は

、M E D I 3 6 1 7 と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、V E G F R 2 に対して指向される抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ラムシルマブと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、V E G F 受容体融合タンパク質と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、アフリベルセプトと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、z i v -アフリベルセプト（別名、V E G F トラップまたは Z a l t r a p（登録商標））と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、V E G F 及び A n g 2 に対して指向される二重特異性抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、R G 7 2 2 1（別名、バヌシズマブ）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、血管新生阻害剤と併せて、及び P D - 1 軸結合アンタゴニスト（例えば、抗 P D - 1 抗体などの P D - 1 結合アンタゴニスト、抗 P D - L 1 抗体などの P D - L 1 結合アンタゴニスト、及び抗 P D - L 2 抗体などの P D - L 2 結合アンタゴニスト）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び P D - 1 軸結合アンタゴニスト（例えば、抗 P D - 1 抗体などの P D - 1 結合アンタゴニスト、抗 P D - L 1 抗体などの P D - L 1 結合アンタゴニスト、及び抗 P D - L 2 抗体などの P D - L 2 結合アンタゴニスト）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び M D X - 1 1 0 6（ニボルマブ、O P D I V O）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び M e r c k 3 4 7 5（M K - 3 4 7 5、ペンブロリズマブ、K E Y T R U D A）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び C T - 0 1 1（ピジリズマブ）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び M E D I - 0 6 8 0（A M P - 5 1 4）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び P D R 0 0 1 と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び R E G N 2 8 1 0 と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び B G B - 1 0 8 と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び B G B - A 3 1 7 と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び Y W 2 4 3 . 5 5 . S 7 0 と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び M P D L 3 2 8 0 A と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び M E D I 4 7 3 6 と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び M D X - 1 1 0 5 と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベバシズマブ及び M S B 0 0 1 0 7 1 8 C（アベルマブ）と併せて投与され得る。

【0339】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗新生物剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、C S F - 1 R（別名、M - C S F R または C D 1 1 5）を標的とする薬剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗 C S F - 1 R 抗体（別名、I M C - C S 4 または L Y 3 0 2 2 8 5 5）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗 C S F - 1 R 抗体、R G 7 1 5 5（別名、R O 5 5 0 9 5 5 4 またはエマクツズマブ）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、インターフェロン、例えば、インターフェロンアルファまたはインターフェロンガンマと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ロフェロン - A（別名、組換えインターフェロンアルファ - 2 a）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗

体は、GM-CSF（別名、組換えヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、rhGM-CSF、サルグラモスチム、またはLeukine（登録商標））と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、IL-2（別名、アルデスロイキンまたはProleukin（登録商標））と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、IL-12と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、IL-27と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、IL-15と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ALT-803と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CD20を標的とする抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、CD20を標的とする抗体は、オビヌツズマブ（別名、GA101またはGazyva（登録商標））またはリツキシマブである。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、GITRを標的とする抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、GITRを標的とする抗体は、TRX518である。いくつかの実施形態において、GITRを標的とする抗体は、MK04166（Merck）である。

【0340】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ブルトンチロシンキナーゼ（BTK）の阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、イブルチニブと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ1（IDH1）及び／またはイソクエン酸デヒドロゲナーゼ2（IDH2）の阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、AG-120（Agios）と併せて投与され得る。

【0341】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、オビヌツズマブ及びPD-1軸結合アンタゴニスト（例えば、抗PD-1抗体などのPD-1結合アンタゴニスト、抗PD-L1抗体などのPD-L1結合アンタゴニスト、及び抗PD-L2抗体などのPD-L2結合アンタゴニスト）と併せて投与され得る。

【0342】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、がんワクチンと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、がんワクチンは、ペプチドがんワクチンであり、これは、いくつかの実施形態では、個人化されたペプチドワクチンである。いくつかの実施形態において、ペプチドがんワクチンは、多価長ペプチド、多ペプチド、ペプチドカクテル、ハイブリッドペプチド、またはペプチドパルス樹状細胞ワクチンである（例えば、Yamada et al., Cancer Sci, 104:14-21, 2013を参照されたい）。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、アジュバントと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、TLRアゴニスト、例えば、Poly-ICLC（別名、Hiltonol（登録商標））、LPS、MPL、またはCpG ODNを含む治療と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、腫瘍壊死因子（TNF）アルファと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、IL-1と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、HMG B1と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、IL-10アンタゴニストと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、IL-4アンタゴニストと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、IL-13アンタゴニストと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、IL-17アンタゴニストと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、HVE Mアンタゴニストと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ICOSアゴニストと併せて、例えば、I

COS-L、またはICOSに対して指向されるアゴニスト抗体の投与により投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CX3CL1を標的とする治療と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CXCL9を標的とする治療と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CXCL10を標的とする治療と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CCL5を標的とする治療と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、LFA-1またはICAM1アゴニストと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、セレクトインアゴニストと併せて投与され得る。

【0343】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、B-Rafの阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベムラフェニブ（別名、Zelboraf（登録商標））と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ダブラフェニブ（別名、Tafinlar（登録商標））と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、エンコラフェニブ（LGX818）と併せて投与され得る。

【0344】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、EGFR阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、エルロチニブ（別名、Tarceva（登録商標））と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、EGFR-T790Mの阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ゲフィチニブと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、アファチニブと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、セツキシマブ（別名、Erbix（登録商標））と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、パニツムマブ（別名、Vectibix（登録商標））と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ロシレチニブと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、AZD9291と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、MEK1（別名、MAP2K1）及び／またはMEK2（別名、MAP2K2）などのMEKの阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、コビメチニブ（別名、GDC-0973またはXL-518）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、トラメチニブ（別名、Mekinist（登録商標））と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ビニメチニブと併せて投与され得る。

【0345】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、B-Rafの阻害剤（例えば、ベムラフェニブまたはダブラフェニブ）及びMEKの阻害剤（例えば、MEK1及び／またはMEK2（例えば、コビメチニブまたはトラメチニブ））と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ERK（例えば、ERK1/2）の阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、GDC-0994と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、B-Rafの阻害剤、MEKの阻害剤、及びERK1/2の阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、EGFRの阻害剤、MEKの阻害剤、及びERK1/2の阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、1つ以上のMAPキナーゼ経路阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、CK127と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、K-Rasの阻害剤と併せて投与され得る。

10

20

30

40

50

【0346】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、c-Metの阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、オナルツズマブ（別名、MetMAb）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、未分化リンパ腫キナーゼ（ALK）の阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、AF802（別名、CH5424802またはアレクチニブ）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、クリゾチニブと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、セリチニブと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ（PI3K）の阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ブバルリシブ（BKM-120）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ピクチリシブ（別名、GDC-0941）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ブバルリシブ（別名、BKM-120）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ペリフォシン（別名、KRX-0401）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ（PI3K）のデルタ選択的阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、イデラリシブ（別名、GS-1101またはCAL-101）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、タセリシブ（別名、GDC-0032）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、BYL-719と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、Aktの阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、MK2206と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、GSK690693と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、イパタセルチブ（別名、GDC-0068）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、mTORの阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、シロリムス（別名、ラパマイシン）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、テムシロリムス（別名、CCI-779またはTorisel（登録商標））と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、エベロリムス（別名、RAD001）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、リダフォロリムス（別名、AP-23573、MK-8669、またはデフォロリムス）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、OSI-027と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、AZD8055と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、INK128と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、二重PI3K/mTOR阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、XL765と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、GDC-0980と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、BEZ235（別名、NVP-BEZ235）と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、BGT226と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、GSK2126458と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、PF-04691502と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、PF-05212384（別名、PKI-587）と併せて投与され得る。

【0347】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、エストロゲン受容体を選択的に分解する薬剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、G D C - 0 9 2 7 と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、H E R 3 の阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、デュリゴツズマブと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、L S D 1 の阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、M D M 2 の阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、B C L 2 の阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ベネトクラクスと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、C H K 1 の阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、G D C - 0 5 7 5 と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、活性化ヘッジホッグシグナル伝達経路の阻害剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、E R I V E D G E と併せて投与され得る。

10

【0348】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、放射線療法と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ゲムシタビンと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、n a b - パクリタキセル (A B R A X A N E) と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、トラスツズマブと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、T V E C と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、I L 2 7 と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、シクロホスファミドと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、T 細胞を腫瘍に動員する薬剤と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、リリルマブ (I P H 2 1 0 2 / B M S - 9 8 6 0 1 5) と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、イデラリシブと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、C D 3 及び C D 2 0 を標的とする抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、R E G N 1 9 7 9 と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、C D 3 及び C D 1 9 を標的とする抗体と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ブリナツモマブと併せて投与され得る。

20

30

【0349】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、腫瘍溶解性ウイルスと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、カルボプラチン及び n a b - パクリタキセルと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、カルボプラチン及びパクリタキセルと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、シスプラチン及びペメトレキセドと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、シスプラチン及びゲムシタビンと併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、F O L F O X と併せて投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗体は、F O L F I R I と併せて投与され得る。

40

【0350】

上記のかかる併用療法は、(同じまたは別個の製剤中に2つ以上の治療剤が含まれる) 組み合わせられた投与及び別個の投与を包含し、別個の投与の場合、本明細書に提供される抗体の投与は、追加の治療剤及び／またはアジュバントの投与前、投与と同時に、及び／または投与後に行うことができる。本明細書に提供される抗体は、放射線療法と組み合わせ

50

せて使用することもできる。

【0351】

H. 製造物品

本発明の別の態様において、上記の障害の治療、予防、及び／または診断に有用な材料を含有する製造物品が提供される。製造物品は、容器と、容器上のまたは容器に関連するラベルまたは添付文書とを含む。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、I V溶液バッグなどが挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチックなどの様々な材料から形成され得る。容器は、それ自体で、または別の組成物との組み合わせで、状態の治療、予防、及び／または診断に有効である組成物を保持し、滅菌接触ポートを有し得る（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穿孔可能な栓を有するバイアルであり得る）。組成物中の少なくとも1つの活性薬剤は、本発明の抗体である。ラベルまたは添付文書は、組成物が、本明細書に記載の選択される状態を治療するために使用されることを示す。さらに、製造製品は、（a）本発明の抗体を含む組成物を内部に収容した第1の容器と、（b）さらなる細胞傷害性薬剤、またはさなければ治療剤を含む組成物を内部に収容した第2の容器とを含み得る。本発明のこの実施形態における製造物品は、組成物が特定の状態を治療するために使用され得ることを示す添付文書をさらに含み得る。あるいは、または加えて、製造物品は、注射用静菌水（BWF I）、リン酸緩衝食塩水、リンガー溶液、及びデキストロース溶液などの薬学的に許容される緩衝剤を含む第2の（または第3の）容器をさらに含み得る。それは、他の緩衝剤、希釈剤、フィルター、針、及びシリンジを含む、商業的観点及びユーザ観点から望ましい他の材料をさらに含み得る。

10

20

【0352】

上記の物品のいずれも、抗MIC抗体の代わりに、またはそれに加えて、本発明の免疫抱合体を含み得ることが理解される。

【0353】

III. エピトープマッピング方法

一態様において、本発明は、抗原上でのグリコシル化の導入が抗体結合をブロックし、抗原エピトープについての情報を提供し得るという出願人の発見に基づく。理論に縛られることを望むことなく、出願人は、ポリペプチドの特定のアミノ酸のグリコシル化は抗体結合を破壊することができ、したがって置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの抗体の結合と比較したグリコシル化ポリペプチドへの抗体の結合の低減は、予め非グリコシル化したアミノ酸またはそれと構造的に近接した表面露出アミノ酸、例えば、1、2、3、4、または5オングストローム以内で抗体に接触可能なアミノ酸のうちの少なくとも1つが抗体のエピトープまたは接触アミノ酸の一部であることを示すと考える。いくつかの態様において、本明細書に記載される方法は、抗体のエピトープをマッピングすることに関する。他の態様において、本明細書に記載される方法は、抗体の接触アミノ酸を特定することに関する。

30

【0354】

いくつかの実施形態において、方法は、（a）ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換して置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドを生成することと、（b）抗体がグリコシル化ポリペプチドに結合するかを決定することと、（c）抗体のグリコシル化ポリペプチドへの結合が、抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、非グリコシル化アミノ酸または非グリコシル化アミノ酸の5オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも1つを、抗体のエピトープの一部または接触アミノ酸のうちの1つとして特定することと、を含む。

40

【0355】

いくつかの実施形態において、方法は、（a）ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換して置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドを生成することと、（b）抗体がグリコシル化ポリペプチドに結合するかを決定することと、を含み、抗体

50

のグリコシル化ポリペプチドへの結合が、抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、非グリコシル化アミノ酸または非グリコシル化アミノ酸の5オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも1つは、抗体のエピトープの一部または接触アミノ酸のうちの1つとして特定される。

【0356】

いくつかの実施形態において、方法は、抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含むグリコシル化ポリペプチドへの結合が、抗体の、置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの結合と比較して低減する場合、非グリコシル化アミノ酸または非グリコシル化アミノ酸の5オングストローム以内の表面露出アミノ酸のうちの少なくとも1つを抗体のエピトープの一部または接触アミノ酸のうちの1つとして特定することを含み、グリコシル化ポリペプチドは、ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸を置換することにより生成される。

10

【0357】

本明細書に記載される方法を用いて、グリコシル化機構を有する組換え発現宿主において発現させることができる任意のポリペプチドのエピトープをマッピングまたは接触アミノ酸を特定することができる。ポリペプチドは、全長タンパク質、タンパク質の断片、及び／または発現及び折り畳みを促進するために別のドメイン融合したタンパク質、例えば、Fc領域であり得る。マッピングまたは特定されるエピトープまたは接触アミノ酸は、線状または立体構造であり得る。

【0358】

いくつかの実施形態において、ポリペプチドの非グリコシル化アミノ酸の置換は、ポリペプチドにグリコシル化部位を導入または作製することによって達成される。グリコシル化部位は、N結合グリコシル化、O結合グリコシル化、Cマンノシル化、及びグリピエーションを含むがこれらに限定されない、任意の形態のグリコシル化のためのものであり得る。真核生物において、N結合グリコシル化のためのグリコシル化部位は、コンセンサス配列(N-X-S/T(標準シークオン)、N-X-C、N-G、N-X-V(非標準シークオン))(Moremen et al. Nature Reviews Molecular Cell Biology 13, 448-462 (2012))、X=Pを除く任意の残基)によって定義される。他の種類のグリコシル化について、グリコシル化部位を予測するのに生物情報科学ソフトウェアが使用され得る(例えば、Caragea et al. BMC Bioinformatics 8, 438 (2007))。部位特異的変異誘発を介してグリコシル化部位を操作するための方法は、当該技術分野で周知である。N結合グリコシル化部位の導入及びSDS-PAGEによって測定されるMWの増加によるグリコシル化の確認は、Eggink et al. J. Virol. 88, 699-704 (2014)に記載されている。方法は、Chandramouli et al. "Structure of HCMV glycoprotein B in the postfusion conformation bound to a broadly neutralizing human antibody" Nature Communications, in pressにも記載されている。いくつかの実施形態において、グリコシル化に必要な変異の数を最小化するために、グリコシル化部位は部分グリコシル化モチーフの部位で導入される。N結合グリコシル化について、ポリペプチドの一次配列における部分グリコシル化モチーフは、アスパラギン残基の後にプロリンがない場合、またはセリン及びトレオニン残基の前にプロリンがない場合に存在する。

20

30

40

【0359】

本明細書に記載される方法における置換グリコシル化アミノ酸は、アミノ酸に結合することができ、抗体結合を破壊する任意の種類のグリカンを含み得る。例えば、N結合グリカン、O結合グリカン、C結合マンノース、または糖脂質。

【0360】

いくつかの実施形態において、非グリコシル化アミノ酸は、置換グリコシル化アミノ酸

50

を含まないポリペプチドの表面上にある。結晶構造または相同性モデルなどの、ポリペプチドの構造を予測または可視化する任意の手段を使用して、表面露出位置を特定し、適切に折り畳まれた材料を確認することができる。相同性モデルは、SwissModel、MOE (CCG)、Bioluminate (Schrodinger) などのモデリングソフトウェアによって作製することができる。

【0361】

グリコシル化ポリペプチドへの抗体の結合は、ELISA及び本開示のアッセイセクションに記載される他の方法を含む、抗体とポリペプチドとの間の結合を検出するための当該技術分野において既知の任意の手段によって検出され得る。グリコシル化ポリペプチドへの抗体の結合は、置換グリコシル化アミノ酸を含まないポリペプチドへの抗体の結合と比較して、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%低減し得る。

【0362】

いくつかの実施形態において、抗体のエピトープマッピング及び接触アミノ酸を特定する方法は、非グリコシル化アミノ酸の置換グリコシル化アミノ酸での置換がポリペプチドの全体的な統合性または構造を変更しないことを確認するステップも含む。例示的なステップは、操作されたグリコシル化領域の外側に結合する対照抗体へのグリコシル化ポリペプチドの結合について試験することを含む。他の例示的なステップは、生物物理学的技法、例えば、示差走査蛍光測定 (DSF) (Niesen et al. Nat Protoc 2, 2212-2221 (2007))、示差走査熱量測定 (DSC) Makhatadze, G. I. (1998) Characterization of Recombinant Proteins, Chapter 7: Measuring Protein Thermostability by Differential Scanning Calorimetry, 7.9.1-7.9.14. In Current Protocols in Protein Science by John Wiley & Sons, Inc., doi:10.1002/0471140864.ps0709s12/pdf、円偏光二色性 (CD) (Greenfield et al. Nat Protoc 1, 2876-2890 (2006)) を行って、ポリペプチドが非グリコシル化アミノ酸の置換グリコシル化アミノ酸での置換後に依然として適切に折り畳まれることを確認することを含む。他の実施形態において、抗体のエピトープマッピング及び接触アミノ酸を特定する方法は、例えば、質量分析アッセイ、ゲルシフトアッセイ、またはウエスタンによって、非グリコシル化アミノ酸のグリコシル化アミノ酸での置換が成功したことを確認するステップも含む。いくつかの実施形態において、エピトープのマッピングまたは接触アミノ酸の特定の後に、エピトープを微細マッピングするためにアラニンスキャンニングが使用される。

【0363】

抗体をビンニングするための方法も提供される。方法は、上記の方法のいずれかによって第1の抗体のエピトープをマッピングまたは接触アミノ酸を特定することと、上記の方法のいずれかによって第2の抗体のエピトープをマッピングまたは接触アミノ酸を特定することと、第1の抗体及び第2の抗体が、同じエピトープまたは接触アミノ酸を有する場合、同じビンにあることを決定することと、を含む。

【0364】

エピトープが上記方法によってマッピングされるか、接触アミノ酸が上記方法によって特定される、本明細書に記載される抗体も提供される。

【0365】

本明細書は、当業者が本発明を実践することを可能にするのに十分なものであるとみなされる。本明細書に示され、かつ記載される修正に加えて、本発明の様々な修正が前述の記載から当業者に明らかになり、添付の特許請求の範囲内に含まれる。本明細書で引用される全ての刊行物、特許、及び特許出願は、あらゆる目的のために参照によりそれらの全

体が本明細書に組み込まれる。

【実施例】

【0366】

本発明は、以下の実施例を参照することによってより完全に理解されるだろう。しかしながら、それらは、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。本明細書に記載される実施例及び実施形態が例証のみを目的とするものであり、それを考慮した様々な修正または変更が当業者に示唆され、本出願の趣旨及び範囲ならびに添付の特許請求の範囲内に含まれるべきであることが理解される。

【0367】

実施例1：抗MICA／B抗体の生成

この実施例は、抗MICA／B抗体を生成するために使用された戦略について記載する。

【0368】

レガシー免疫化プロトコル

ヒトMICAに選択的に結合する抗体のパネルを、免疫原としてFc（インハウス）に融合したMICAを使用して生成した。10匹のBALB／cマウスは各々、PBS中2成分Rib iで再懸濁させたMICA－Fcタンパク質を足蹠に注射された。全てのその後のブーストは、PBS中Rib iで再懸濁させたMICA－Fcタンパク質を含有した。9回のブーストを3～4日毎に足蹠に注射した。

【0369】

GH免疫化プロトコル

ヒトMICAに選択的に結合する抗体のパネルを、免疫原としてマウスIgG2a（インハウス）に融合したMICAアルファ3ドメイン（対立遺伝子002、004、008、及びMICB 005）を使用して生成した。5匹のBALB／cマウスは各々、PBS中完全フロイントアジュバント（CFA）で再懸濁させた50ugのMICAタンパク質（対立遺伝子の混合物）をまず尾の根元に注射された。全てのその後のブーストは、PBS中不完全フロイントアジュバント（IFA）で再懸濁させたMICA対立遺伝子の混合物を含有した。5回のブーストを2週間毎に異なる部位に注射した（飛節16ug／マウス、IP8ug／マウス、皮下8ug／マウス、及び／または尾の根元8ug／マウス）。

【0370】

GG免疫化プロトコル

ヒトMICAに選択的に結合する抗体のパネルを、免疫原としてマウスIgG2a（インハウス）に融合したMICAアルファ3ドメイン（対立遺伝子002、004、008、及びMICB 005）を使用して生成した。5匹のBALB／cマウスは各々、それぞれマウスあたりPBS中カクテルアジュバント（ポリI：C＋モノホスホリル脂質A（MBL）＋R848＋CpG）からなるカクテルで再懸濁させたmuIgG2aタンパク質（対立遺伝子の混合物）に融合した6及び3ugのMICA002アルファ3ドメインをまず飛節及びIPに注射された。全てのその後のブーストは、PBS中カクテルアジュバントで再懸濁させたmuIgG2a（対立遺伝子004、008、及びMICB005）に融合した異なるMICAα3ドメインの連続免疫化を含有した。15回のブーストを3～4日毎に異なる部位に注射した（飛節6ug／マウス、IP3ug／マウス、皮下3ug／マウス、及び／または尾の根元3ug／マウス）。

【0371】

HZ免疫化プロトコル

ヒトMICAに結合する抗体のパネルを、Flagタグ（インハウス）を有するMICA／B ECDドメイン（対立遺伝子002、004、008、及びMICB 005）を使用して生成した。5匹のBALB／cマウスは各々、PBS中カクテルアジュバント（ポリI：C＋モノホスホリル脂質A（MBL）＋R848＋CpG）で再懸濁させた50ugのMICA／Bタンパク質（対立遺伝子の混合物）をまず尾の根元に注射された。

全てのその後のブーストは、PBS中カクテルアジュバントで再懸濁させたMICA対立遺伝子の混合物を含有した。マウスは、1週間に1回、異なる部位に注射された（飛節16ug/マウス、IP8ug/マウス、皮下8ug/マウス、及び/または尾の根元8ug/マウス）。

【0372】

ハイブリドーマ融合及び開発

上述の免疫化の全てについて、最終ブーストの3日後、ELISAによって正の血清力価を示した動物を犠死させ、脾臓細胞の単一細胞懸濁液をマウス黒色腫細胞株P3X63Ag.U.1 (American Type Culture Collection, Manassas, VA) と、電気融合 (Cyto Pulse Sciences, Inc., Glen Burnie, MD) を用いて融合した。融合ハイブリドーマ細胞を、非融合脾臓、膝窩節、または黒色腫細胞から、ClonaCell (登録商標) ハイブリドーマ選択キット (StemCell Technologies, Inc., Vancouver, BC, Canada) からの培地Dにおいてヒポキサンチン-アミノプテリン-チミジン (HAT) 選択を用いて選択した。ハイブリドーマ細胞をClonaCell (登録商標) ハイブリドーマ選択キットからの培地Eにおいて培養し、細胞培養上清をさらなる特徴付け及びスクリーニングに使用した。

【0373】

実施例2：結合アッセイ

この実施例は、ELISAによって測定される、ヒトMICA/B対立遺伝子に結合するハイブリドーマクローンの特定について記載する。ELISAに結合する抗体を、Biacoreを使用してさらに試験した。

【0374】

ELISA

酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) を使用して、上述のようなハイブリドーマクローンが、ヒトMICA/B対立遺伝子に結合したモノクローナル抗体を産生していたかを決定した。Nunc Maxi sorp プレート、50mMの炭酸ナトリウムバッファ、pH9.6中の2ug/mlのヒトMICA対立遺伝子002、004、008、またはMICB 005アルファ3ドメイン (インハウス) で一晩4℃でコーティングした。マウス由来ハイブリドーマからの上清を、0.5%BSA及び0.05%Tween 20を含有する1倍PBSバッファで1時間ブロッキング後にプレートに添加した。インキュベーション後、プレートを洗浄バッファ (0.05%Tween 20を含有する1倍PBS) で複数回洗浄し、二次抗体 (HRPと抱合したヤギ抗マウスIgG Fc、Sigma) を添加した。プレートを次いで、BioFX TMB Microwell 1 Component Peroxidaseを添加する前に、再度洗浄バッファで複数回洗浄した。数分のインキュベーション後、反応を、TMB Microwell 1のためのBioFX停止試薬で停止した。プレートをSpectra MAX 340プレートリーダー (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) で、630nmで読んだ。

【0375】

MICA*008アルファ3構成体の配列を以下に提供する：

>MICA008.muIgG2a (a3ドメイン太字) . 注記：これは糖鎖バリエーションにのみ使用された。

GSTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNILTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGN
 GTYQTWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGNSRAQVTDKKIEPRGPTIKPCPPC
 KCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHTAQQT
 HREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP
 EEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDSYFMYSKLRVEKK
 NWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK (配列番号 1 9 4)

【 0 3 7 6 】

10

E L I S A 及び B i a c o r e に使用される H i s タグ付き M I C A タンパク質。

M I C A * 0 0 8 アルファ 3 構成体の配列を以下に提供する：

> M I C A 0 0 8 . H i s (a 3 ドメイン太字)

GSTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNILTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGN
 GTYQTWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGNSHHHHHHHH (配列番号 1 9 5)

M I C A * 0 0 2 アルファ 3 構成体の配列を以下に提供する：

> M I C A 0 0 2 . H i s (a 3 ドメイン太字)

GSTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWNITLSWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGN
 N GTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGNSHHHHHHHH (配列番号 1 9
 6)

20

M I C A * 0 0 4 アルファ 3 構成体の配列を以下に提供する：

> M I C A 0 0 4 . H i s (a 3 ドメイン太字)

GSTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNITLTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGN
 G TYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGNSHHHHHHHH (配列番号 1 9 7)

30

M I C B * 0 0 5 アルファ 3 構成体の配列を以下に提供する：

> M I C B 0 0 5 . H i s (a 3 ドメイン太字)

GSTVPPMVNVTCSEVSEGNITVTCRASSFYPRNITLTWRQDGVSLSHNTQQWGDVLPDGN
 N GTYQTWVATRIRQGEEQRFTCYMEHSGNHGTHPVPSGNSHHHHHHHH (配列番号 1 9

8)

表 2 . 抗 M I C A 抗体及び M I C A 対立遺伝子のアルファ 3 ドメインへの結合についての
 E L I S A データ

	MICA*008 a3	MICA*002 アルファ3	MICA*004 アルファ3	MICB*005 アルファ3
3C9. 10	—	+	+	+
7D4. 6	+	+	+	+
6F8. 7	+	+	+	+
32D2	+	+	+	+
3E11	+	+	+	+
9C9. 5. 6	—	+	+	+
1E6. 1. 3	+	+	+	+
7A3. 1. 9	+	+	+	+
6E12. 5	+	+	+	+
20G11	+	+	+	+
6E1. 1. 12	+	+	+	+
2E5. 2. 3	+	+	+	+
1D5	+	+	+	+
15F11	+	+	+	+
13A9	+	+	+	+
12H10	+	+	+	+
18G3	+	+	+	+

10

20

30

注記：E L I S A 値 > 0. 5 は正符号で示される。E L I S A 値 < 0. 5 は負符号で示される。

40

【0377】

B i a c o r e

抗MICA/B抗体の結合動態を、Biacore T200機器（GE Healthcare）で表面プラズモン共鳴（SPR）を用いて測定した。抗マウスFcまたは抗ヒトFc（GE Healthcare）を、製造業者が提供するプロトコルを用いて、アミンに基づくカップリングを介してCM5センサチップに固定した。抗MICA/B抗体を抗Fcによって捕捉し、MICA/B対立遺伝子は考慮しなかった。ヒトMICA 002、004、008、及びMICB 005アルファ3ドメイン（Hisタグ付き、インハウス）への抗体結合を測定した。MICA/Bの結合のセンサグラムは、2～3分の注入時間、30ml／分の流量、25℃の温度、ならびに10mMのHEPES、pH

50

7. 4、150 mMのNaCl、及び0.005% Tween 20のランニングバッファを用いて記録した。注入後、抗体からのアルファ3ドメインの解離をランニングバッファ中で10分間監視した。表面を結合サイクル間に10 mMグリシンHCl pH 1.7の60 μ l注入で再生した。ランニングバッファのみを含有していたブランクを差し引いた後、抗MICA/B抗体へのMICA結合について観察されたセンサグラムを、製造業者によって供給されたソフトウェアで1:1ラングミュア結合モデルを使用して分析して、動態及び結合定数を計算した。1:1結合モデルを使用してデータを分析した。捕捉された抗MICA抗体へのMICA対立遺伝子結合のセンサグラムを使用して、解離定数(K_d)を計算した。これらのデータからの動力学定数を表3に提供する。各クローンの最終ビン割り当ても示す(最終ビン割り当てに関するさらなる詳細について実施例6を参照されたい)。図3A-図3Eは、各ビンのエピトープがMICA上に位置する場所を示す構造モデルを描写する。

表3：そのリガンドへの抗MICA抗体結合の動力学定数

クローン	huMICA * 002 アルファ 3-his	huMICA*004 ア ルファ 3-his	huMICA * 008 アルファ 3-his	huMICB * 005 アルファ-his	最 終 ビ ン
	Kd (nM)	Kd (nM)	Kd (nM)	Kd (nM)	
3C9. 10	81	60	結合なし	45	1
9C9. 5. 6	16	18	結合なし	11	3
1E6. 1. 3	24	37	IC	18	3
7A3. 1. 9	22	8. 7	IC	16	3
6E12. 5	4. 5	3	15. 1	IC	4
6E1. 1. 12	2. 8	8. 7	6. 8	10	6
7D4. 6	3. 5	8. 9	10	20	2
2E5. 2. 3	0. 66	1. 96	1. 8	2. 7	7
6F8. 7	2. 4	6. 2	8. 4	14. 5	2
20G11	1. 76	1. 06	0. 77	1. 05	5
3E11	7. 7	5	2. 5	6. 8	2
32D2	3. 18	2. 85	1. 94	2. 82	2
15F11	3. 05	1. 22	1. 02	3. 28	2
13A9	0. 50	1. 55	0. 94	0. 97	8
12H10	25. 8	7. 02	1. 48	10. 7	9
18G3	10. 4	4. 03	2. 03	6. 18	9
1D5	0. 67	0. 49	0. 42	1. 09	2

10

20

30

40

注記： I C：モノクローナル抗体の良好な捕捉にかかわらず実験条件下で弱い結合が観察されたので不確定

【 0 3 7 8 】

実施例 3：O c t e t 競合によるエピトープマッピング

方法

抗体エピトープピンを、O c t e t (F o r t e b i o) を使用して決定した。M I C A アルファ 3 ドメイン (対立遺伝子 0 0 4、H i s タグ) タンパク質を、E Z - L I N K N H S - P E G 4 B i o t i n (P i e r c e) を使用してビオチン化した。ストレプトアビジンバイオセンサチップ (F o r t e b i o) を使用して、ビオチン化 M I C A

50

タンパク質を捕捉した（10 ug/ml の溶液中 180 秒）。一次抗体（10 ug/ml）を 300 秒間にわたって捕捉タンパク質と会合させる前に、ベースラインを 60 秒間安定させた。5 ug/ml の二次抗体のパネルを次いで、抗原及び一次抗体複合体とさらに 300 秒間にわたって会合させた。

【0379】

結果

シグナルを各結合事象について記録し、比較して、抗体ビンを決めた。第2の抗体の添加後の追加結合は、重複するエピトープビンを示さなかった。第2の抗体の添加後の追加結合は、別個のエピトープビンを示した。結果は3つのビンを示す。

表4. Octet との抗体競合によるエピトープマッピングは3つのビンを示す。

10

	Octet ビン
3C9. 10	1
7D4. 6	1
6F8. 7	1
32D2	N. D.
3E11	N. D.
9C9. 5. 6	1
1E6. 1. 3	1
7A3. 1. 9	1
6E12. 5	1
20G11	N. D.
6E1. 1. 12	3
15F11	N. D.
13A9	N. D.
12H10	N. D.
18G3	N. D.
1D5	N. D.
2E5. 2. 3	2

20

30

40

注記：N. D. = 未決定。

【0380】

実施例4：グリコシル化部位操作によるエピトープマッピング

50

この実施例は、抗体結合をブロックし、抗原エピトープについての情報をもたらすための抗原上の単一操作N結合グリコシル化部位の使用を例証する。具体的には、この実施例は、MICA*008の非グリコシル化アミノ酸を、N結合グリコシル化部位を導入するグリコシル化アスパラギンまたはトレオニン残基で置換し、グリコシル化アスパラギンを有するMICA*008 Fc融合体への抗体結合について試験することによるエピトープのマッピングを示す。単一または複数のN結合グリコシル化部位を導入して、異なる抗原領域をマスキングすることによって、MICA*008を操作した。これらの構成体を使用して、様々な抗MICA抗体のMICA*008抗原結合部位をプローブした。

【0381】

ヒト、マウス、ハエ、植物、及び酵母におけるアスパラギンの比較構造研究は、Nグリコシル化で示されるN-X-S/T、式中、X≠Pのモチーフにおける高い割合のアスパラギンがターン/ループ内に局在化し、タンパク質表面で溶媒曝露されていることを示した。グリコシル化部位操作バリエーションは、これを考慮して設計され、ループ中またはターン近くの表面曝露残基に操作された(Lam et al., "Structure-based Comparative Analysis and Prediction of N-linked Glycosylation Sites in Evolutionarily Distant Eukaryotes" Genomics Proteomics Bioinformatics (2013) 11(2):96-104)。

【0382】

方法

グリコシル化操作

MICA*008中の単一の残基をAsnまたはThrに変更して、N-X-S/T、式中、X≠Pの配列モチーフを有する新たなグリコシル化部位を導入した。個別の変異を有する7つの構成体及び、5つの操作されたN結合グリコシル化部位を含有した超グリコシル化構成体を作製した。MICA*001の結晶構造(Protein Data Bank構造1B3J及び1HYR)において表面曝露された残基のみを変異させた。これらのMICA*008操作グリコシル化部位バリエーションをマウスIgG2a Fc融合体として発現させ、293S哺乳動物細胞において発現させ、MabSelect Sureによって精製した。

【0383】

下記のバリエーションを作製した(シグナル配列を含むヒトMICA*008配列に対して付番する)：

Glyco4：E215N，G243N，H248N，R279N

Glyco11：R202N

Glyco12：E215N

Glyco13：I236T

Glyco14：G243N

Glyco15：H248N

Glyco16：R279N

Glyco17：N298のC末端挿入，G299，S300

【0384】

MICA*008，α3，マウスIgG2a Fc融合タンパク質上のグリコシル化操作部位の配列を以下に提供する。太字で下線が引かれた変異を含み、マウスIgG2a Fc融合体の配列を含まないMICA*008，α3ドメインのみを示す。

>MICA.008.a3.T204-S297.mIgG2a.野生型

TVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSTFYPRNIIILTWQRQDGV
VSLSHDTPQQWGDVLPDGNNGTYQTWVATRICRGEEQRFTCY
MEHSGNHSTHPPVPS (配列番号199)

>MICA.008.a3.T204-S297.E215N.G243N.H248N

． R 2 7 9 N． N 2 9 8 の C 末 端 挿 入． G 2 9 9． S 3 0 0． m I g G 2 a． G l y c o
4 （ 超 グ リ コ シ ル 化 ）

TVPPMVNVTRSNASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWRQDNVSLSNNDTQQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQNFTCYMEHSGNHSTHPVPSNGS （ 配 列 番 号 2 0 0 ）

> M I C A． 0 0 8． a 3． R 2 0 2 － S 2 9 7． R 2 0 2 N m I g G 2 a． G l y c
o 1 1

NRTTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGT
YQTTWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPS （ 配 列 番 号 2 0 1 ）

10

> M I C A． 0 0 8． a 3． T 2 0 4 － S 2 9 7． E 2 1 5 N． m I g G 2 a． G l y c
o 1 2

TVPPMVNVTRSNASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPS （ 配 列 番 号 2 0 2 ）

> M I C A． 0 0 8． a 3． T 2 0 4 － S 2 9 7． I 2 3 6 T． m I g G 2 a． G l y c
o 1 3

TVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNITLTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPS （ 配 列 番 号 2 0 3 ）

20

> M I C A． 0 0 8． a 3． T 2 0 4 － S 2 9 7． G 2 4 3 N． m I g G 2 a． G l y c
o 1 4

TVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWRQDNVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPS （ 配 列 番 号 2 0 4 ）

> M I C A． 0 0 8． a 3． T 2 0 4 － S 2 9 7． H 2 4 8 N． m I g G 2 a． G l y c
o 1 5

TVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWRQDGVSLSNNDTQQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPS （ 配 列 番 号 2 0 5 ）

30

> M I C A． 0 0 8． a 3． T 2 0 4 － S 2 9 7． R 2 7 9 N． m I g G 2 a． G l y c
o 1 6

TVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQNFTCYMEHSGNHSTHPVPS （ 配 列 番 号 2 0 6 ）

> M I C A． 0 0 8． a 3． T 2 0 4 － S 2 9 7． N 2 9 8 の C 末 端 挿 入． G 2 9 9． S
3 0 0． m I g G 2 a． G l y c o 1 7

40

TVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSNGS （ 配 列 番 号 2 0 7 ）

【 0 3 8 5 】

全 て の 4 つ の M I C A ／ B 対 立 遺 伝 子 ア ル フ ァ 3 ド メ イ ン に 結 合 す る ハ イ ブ リ ド ー マ 由
来 ク ロ ー ン を 、 E L I S A に よ っ て 、 マ ウ ス I g G 2 a F c 融 合 体 に 融 合 し た M I C A
＊ 0 0 8 ア ル フ ァ 3 グ リ コ シ ル 化 バ リ ア ン ト へ の 結 合 に つ い て 試 験 し た 。 N u n c m a
x i s o r p プ レ ー ト を 2 u g ／ m l の 前 述 の よ う な グ リ コ シ ル 化 バ リ ア ン ト で コ ー テ ィ
ン グ し た 。 ク ロ ー ニ ン グ し 、 組 換 え 発 現 さ せ た ハ イ ブ リ ド ー マ モ ノ ク ロ ー ナ ル 抗 体 を 、 0

50

． 5 % B S A 及び 0 . 0 5 % T w e e n 2 0 を含有する 1 倍 P B S バッファでのブロッ
 キング後にプレートに添加した。インキュベーション後、プレートを洗浄バッファ（0 .
 0 5 % T w e e n 2 0 を含有する 1 倍 P B S ）で複数回洗浄し、二次抗体（H R P と抱
 合したヤギ抗ヒト I g G F c ）を添加した。プレートを次いで、B i o F X T M B
 M i c r o w e l l 1 C o m p o n e n t P e r o x i d a s e またはテトラメチ
 ルベンジジン（T M B ）基質（K P L , G a i t h e r s b u r g , M D ）のいずれかを
 添加する前に、再度洗浄バッファで複数回洗浄した。数分のインキュベーション後、反応
 を、それぞれ B i o F X 停止溶液または H C l の 1 N 溶液で停止した。プレートを S p e
 c t r a M A X 3 4 0 プレートリーダーで、それぞれ 6 3 0 または 4 5 0 n m で読ん
 だ（M o l e c u l a r D e v i c e s , S u n n y v a l e , C A ）。

10

【0386】

示差走査蛍光測定（D S F）

示差走査蛍光測定（D S F）は、タンパク質の熱安定性を測定するのに使用される方法
 である。この方法では、S Y P R O O r a n g e 蛍光染料がタンパク質と組み合わせられ
 、ゆっくりと加熱される。タンパク質の折り畳みがほどけると、露出した疎水性表面は
 染料と結合し、蛍光シグナルをもたらす。蛍光シグナルは加熱プロセス中に各温度で測定
 され、最高シグナルはタンパク質融解物と相関付けられる。

【0387】

示差走査蛍光測定によるタンパク質安定性測定

B i o r a d C F X 9 6 R e a l - T i m e S y s t e m （B i o r a d , U S
 A ）を S y p r o O r a n g e 染料ストック（M o l e c u l a r P r o b e s , U
 S A ）の 1 : 5 0 0 の最終希釈液で使用して、タンパク質安定性を決定した。P B S 中の
 2 5 μ L 試料（0 . 5 m g / m l ）の蛍光を 2 0 ~ 1 0 0 $^{\circ}$ C （ステップ毎に 0 . 2 $^{\circ}$ C 増分
 、1 0 秒保持）で記録した。m u I g G 2 a 融解物は、M I C A . m I g G 2 a G l y
 c o バリエーションで見られる第 2 の推移またはピークに対応した（図 4 A 、図 5 ）。M I C
 A 融解物は、第 1 の推移またはピークに割り当てた（図 4 A 、図 5 ）。

20

【0388】

ゲルシフトアッセイ

6 μ g の各 M I C A . m I g G 2 a G l y c o バリエーションを、M E S - S D S ランニ
 ングバッファ（5 0 m M の M E S 、5 0 m M の T R I S B a s e p H 7 . 3 、0 .
 1 % S D S 、1 m M の E D T A ）を使用して 4 ~ 1 2 % B i s - T r i s G e l （L i
 f e T e c h n o l o g i e s ）に供した。タンパク質バンドを G e l C o d e B l
 u e S a f e P r o t e i n S t a i n （T h e r m o F i s h e r S c i e
 n t i f i c ）で染色した。G l y c o 操作バリエーションは、野生型（W T ）M I C A * 0
 0 8 . m I g G 2 a と比較して上向きであるか、または異なるシフトを示し、それらが異
 なるグリコシル化状態を有することを示す。

30

【0389】

質量分析

5 μ g の各タンパク質試料を、5 0 m M の重炭酸アンモニウム p H 8 で希釈し、1 0 m
 M のジチオトレイトールで 1 時間 3 7 $^{\circ}$ C で還元し、1 0 m M のヨードアセトアミドで 2 0
 分間室温でアルキル化した。各試料を、一晚、トリプシン（P r o m e g a ）及びキモト
 リプシン（T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c ）で、1 : 5 0 の酵素：
 基質比、3 7 $^{\circ}$ C で別々に消化した。ペプチド消化物を 2 % トリフルオロ酢酸でクエンチし
 、C 1 8 ステージチップ清浄に供した。試料をオートサンプラーによって、7 5 μ m $\times$ 1
 0 0 m m カラム（B E H , 1 . 7 μ m , W a t e r s C o r p ）に 1 μ L / 分の流量で
 N a n o A c q u i t y U P L C （W a t e r s ）を用いて注入した。9 8 % 溶媒 A （
 水 + 0 . 1 % ギ酸）から 8 0 % 溶媒 B （アセトニトリル + 0 . 1 % ギ酸）までの勾配を 4
 0 分にわたって適用した。試料をハイブリッド L T Q - O r b i t r a p 質量分析計（T
 h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c ）へのナノスプレーイオン化によって
 オンラインで分析した。データをデータ依存モードで収集し、親イオンを F T M S におい

40

50

て分析し、LTQにおけるフラグメンテーション及び分析のために上位8つの最も豊富なイオンを選択した。タンデム質量分析データを、PepFinderソフトウェア(Thermo Fisher Scientific)を使用して分析した。システインに対する固定カルバミドメチル化及びメチオニンに対する可変酸化を、20ppmの前駆体質量許容差及び0.8Daのフラグメントイオン許容差を有するタンパク質配列に対するデータベース検索に含めた。ソフトウェア内のCHO-N結合グリカンライブラリも、グリコシル化部位マッピング及び無標識定量化のためのデータベース検索に含めた。

【0390】

結果

グリコシル化バリエーションへの結合の低減が観察された場合、潜在的なエピトープは、グリコシル化残基及び構造的にグリコシル化残基の5オングストローム以内である残基を含むと推定された。

10

【0391】

グリコシル化について見られる変動する幅及び長さ、ならびにさらにサイズ不確実性をもたらす高い柔軟性のために、1つのN結合グリコシル化がカバーすることができるサイズを予測するのは難しい。例えば、血漿リン脂質輸送タンパク質における6つのN-グリコシル化部位の各々での炭水化物のサイズは、質量分析によって測定されるように3.14~4.2kDaの範囲であった(Albers et al., "Impact of site-specific N-glycosylation on cellular secretion, activity and specific activity of the plasma phospholipid transfer protein", Biochimica et Biophysica Acta (2001) 1814 (7): 908-11.)。しかしながら、2つのグリコシル化操作バリエーションを比較する2つの抗体でのデータ及びAlaスキャニングデータは、構造的に操作グリコシル化部位におけるAsnの5オングストローム以内の相互作用が有効なエピトープであり得ることを示唆する。これは、小さなデータセットに基づき、かつMICA*001構造を用いる構造予測である(PDBコード1HYR)。

20

【0392】

以下に列挙されるものは、PyMolを使用して1HYR構造に基づき各糖鎖改変バリエーションの5Å以内であると予測されるアミノ酸残基である。両方のPDB構造1HYR及び1B3Jに基づいていずれの接触可能な表面領域も有しないと予測された残基は含まれなかった。構造モデルにおけるAsnへの目的のアミノ酸位置の変異は、この分析の結果を変更しなかった。

30

・Glyco4バリエーション(E215N, G243N, H248N, R279N): Arg213, Ser214, Ala216, Ser217, Asn220, Arg240, Gln241, Asp242, Gly243, Val244, Ser245, Ser247, Asp249, Thr250, Trp253, Arg271, Glu276, Glu277, Gln278, Arg279, またはThr281。

・Glyco12バリエーション(Glu215): Arg213, Ser214, Ala216, Ser217, Asn220, またはArg271。

40

・Glyco14バリエーション(Gly243): Arg240, Gln241, Asp242, Val244, Ser245, Arg279, またはThr281。

・Glyco15バリエーション(His248): Ser247, Asp249, Thr250, またはTrp253。

・Glyco16バリエーション(Arg279): Arg240, Gln241, Asp242, Gly243, Glu276, Glu277, Gln278, またはThr281。

【0393】

この情報を使用して、潜在的なエピトープを特定した。例えば、Glyco12バリエーションへの結合の低減が観察された場合、エピトープは、Glu215, Arg213, S

50

er 214、Ala 216、Ser 217、Asn 220、またはArg 271のうちの少なくとも1つを含むと推定される。

【0394】

グリコシル化変異体の適切な折り畳みを、示差走査蛍光測定(DSF)によって確認した。図4A及び図4Bは、全てのグリコシル化バリエーションの融解曲線及びそれらの導関数を示す。Glyco 12及びGlyco 16は、DSFの開始時に多量の折り畳まれている材料を有する。Glyco 4(超グリコシル化)MICAピークは右にシフトし、これがより安定であり、mIgG2a融解物のピークがMICA融解物をマスキングすることを示す。加えてこれは、他のGlycoバリエーションと比較して、DSFの開始時に最低量の折り畳まれている材料を有する。図5は、MICA及びmIgG2aのDSF融解温度(T_m)値を示す。我々はELISAによって正の結合を見ることができるので、Glyco 12及びGlyco 16はおそらく折り畳まれた種及び折り畳まれている種の組み合わせを有し、材料のいくらかは折り畳まれていることを示す。Glyco 4(超グリコシル化)は、おそらくWTよりも安定である。MICA*008 Glycoバリエーションのグリコシル化は、図6においてゲルシフトによって確認される。Glycoバリエーションの全ては、野生型(WT)MICA*008、mIgG2aよりも高いか、またはこれとは異なるシフトを有する。トリプシンペプチド質量分析を行って、MICA*008アルファ3ドメインのグリコシル化バリエーション上のグリコシル化を分析した。我々は、Glycoバリエーション11、14、15、または16についてトリプシンペプチドのカバレッジを有さなかった(図3D)。しかしながら、我々は、Glyco 12、13、及び17についてトリプシンペプチドを検出し、それらは全て、それらのWT MICA*008トリプシンペプチド対応物と比較して増加したN結合グリコシル化を示した(図3D)。Glyco 12についてのグリコシル化部位の付加によって、我々は、38%グリコシル化及び1つの天然グリコシル化部位を有したWTペプチドと比較して、トリプシンペプチド上で>99%の総グリコシル化を観察した。Glyco 13は、他の部位を有さなかったペプチドにおいてN結合グリコシル化部位を導入し、総グリコシル化が0から99%となった。Glyco 17についてのグリコシル化部位の付加によって、我々は、68%グリコシル化及び1つの天然グリコシル化部位を有したWTペプチドと比較して、トリプシンペプチド上で86%の総グリコシル化を観察した。

【0395】

これらの実験に基づき、抗体を8つのビンに分け、エピトープを含む残基を決定した。各ビンのエピトープがMICA上に位置する場所を示す構造モデルである、実施例5の後に位置する、表5及び図3A~図3Eを参照されたい。ビン1(3C9.10)エピトープは、MICAの「底部」にマッピングする。ビン2(6F8、7D4、32D2、3E11、1D5、15F11)エピトープは、MICAの「底部及び前部」にマッピングする。ビン3(9C9.5.6、1E6.1.3、7A3.1.9)エピトープは、MICAの「底部及び側部」にマッピングする。ビン4(6E12.5)エピトープは、MICAの「側部」にマッピングする。ビン5(20G11)エピトープは、MICAの「前部」にマッピングする。ビン8(12H10及び18G3)エピトープは、MICAの「底部及び前部」にマッピングする。

【0396】

実施例5:MILL1-MICA*008キメラを使用する6E1.1.12及び2E5.2.3についてのエピトープのさらなる試験

方法

MICA*008アルファ3ドメインを、NCBIブラストを用いて非冗長性タンパク質データベースに対してブラストし、上位ヒットはマウスMILL1タンパク質であった。「背部」にあるエピトープNGTYQTを囲むMICA*008からの残基、及びベータ2マイクログロブリン結合部位がMILL1上で見られる界面における残基を、マウスMILL1配列上に移植した。これはMICAの「背部」での結合についての情報を与えるための代替戦略として行った。

【0397】

MILL1-MICA*008キメラ、マウスIgG2a Fc融合タンパク質の配列を以下に提供する：

>MILL1-MICAキメラ、マウスIgG2a Fc融合

GSTVPPMVTVTSRNYPVGRVTLTCRASSPYPRNITLVWLQ
DGKPVQQKTFRSGDVLDPDNGTYQTWVSIRVLPGEPPQFS
CNLRHGNHSIMQTAVGNSRAQVTDKKIEPRGPTIKPCPPC
KCPAPNLLGGPSVFIFFPKIKDVLMISSLSPIVTCVVVDVS
EDDPDVQISWFFVNNVEVHTAQTTQTHREDYNSTLRVVSALP
IQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQ
VYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKT
ELNYKNTEPVLDSGYSFYMSKLRVEKKNWVERNSYSCSV
VHEGLHNHHTTKSFSRTPGK (配列番号208)

10

【0398】

図7Aは、MILL上に移植されたMICA*008残基を示す。図7Bは、MILLキメラの非MICA*008残基を示す。

【0399】

結果

2つの抗体、6E1.1.12及び2E5.2.3は、MILL1-MICA*008キメラタンパク質及びMICA*008の全てのグリコシル化部位操作バリエーションに結合し、それらが抗原の「背面」上のエピトープに結合することを示す（ビン6）。以下の表5を参照されたい。図8は、MILL1-MICAキメラに結合するこれらの抗体に基づいて可能なエピトープを黒色で示す。より濃い灰色の領域は、エピトープではない部位を示す。かかる部位は、グリコシル化部位マッピングに基づいて特定された。6E1.1.12及び2E5.2.3は全ての4つの対立遺伝子に結合するので、それらはまたMICA002、004、008、及びMIBC005の間の対立遺伝子の相違に基づいて特定された。モデルは、これらの抗体のエピトープが抗原の「背部及び上部」にあることを示す。黒色の残基は、ヒトMICA*008のVal205、Pro206、Met208、Thr212、Gly219、Thr222、Thr224、Arg226、Ser228、Tyr231、Pro232、Gln241、Asp242、Thr250、Asp255とGly262との間のアミノ酸、Tyr264、Gln265、Trp267、Arg271、Gly275、Glu277、Gly288、Asn289、及びHis290である。13A9抗体は、これがMILL1-MICA*008キメラタンパク質及び、超グリコシル化バリエーションGlyco4を除く、MICA*008の全てのグリコシル化部位操作バリエーションに結合するという点で固有である（ビン7）。Elisa値はGlyco14について0.9であり、>0.65Elisaカットオフがこれを正の結合として分類したが、この領域で結合が大幅に減少したことを示した。加えて、Glyco16のElisa値は2.2であり、これは全て3.8または3.9のElisa値を有した他のGlycoバリエーションと比較していくらかの結合が減少したことも示す。したがって、13A9抗体は、MICA*008の「前部」及び「背部」の両方でいくらかの結合を共有するようである。

20

30

40

表5. グリコシル化バリエーション4及び11-17ならびにMILL1-MICAキメラへのELISA結合。

	4	11	12	13	14	15	16	17	エピトープ	MILL1 MICA メラ	糖鎖改 変ビン
3C9. 10	—	+	—	+	+	—	—	+	E215: R213, S214, A216, S217, N220, R271; H248: S247, D249, T250, W253; R279: R240, Q241, D242, G243, E276, E277, N278, T281	—	1
7D4. 6	—	+	+	+	—	+	—	+	G243: R240, Q241, D242, V244, S245, R279, T281; R279: R240, Q241, D242, G243, E276, E277, N278, T281	—	2
6F8. 7	—	+	+	+	—	+	—	+	G243: R240, Q241, D242, V244, S245, R279, T281; R279: R240, Q241, D242, G243, E276, E277, N278, T281	—	2
32D2	—	+	+	+	—	+	—	+	G243: R240, Q241, D242, V244, S245, R279, T281; R279: R240, Q241, D242, G243, E276, E277, N278, T281	—	2
3E11	—	+	+	+	—	+	—	+	G243: R240, Q241, D242, V244, S245, R279, T281; R279: R240, Q241, D242, G243, E276, E277, N278, T281	—	2
15F11	—	+	+	+	—	+	—	+	G243: R240, Q241, D242, V244, S245, R279, T281; R279: R240, Q241, D242, G243, E276, E277, N278, T281	—	2
1D5	—	+	+	+	—	+	—	+	G243: R240, Q241, D242, V244, S245, R279, T281; R279: R240, Q241, D242, G243, E276, E277, N278, T281	—	2

10

20

30

40

	4	11	12	13	14	15	16	17	エビ ^o トープ	MILL1 - MICA キ メラ	糖鎖改 変ビン
9C9. 5. 6	—	+	+	+	+	—	—	+	H248: S247, D249, T250, W253; R279: R240, Q241, D242, G243, E276, E277, N278, T281	—	3
1E6. 1. 3	—	+	+	+	+	—	—	+	H248: S247, D249, T250, W253; R279: R240, Q241, D242, G243, E276, E277, N278, T281	—	3
7A3. 1. 9	—	+	+	+	+	—	—	+	H248: S247, D249, T250, W253; R279: R240, Q241, D242, G243, E276, E277, N278, T281	—	3
6E12. 5	—	+	+	+	+	—	+	+	H248: S247, D249, T250, W253	—	4
20G11	—	+	+	+	+	+	—	+	R279: R240, Q241, D242, G243, E276, E277, N278, T281	—	5
6E1. 1. 12	+	+	+	+	+	+	+	+	「背部 & 上部」: V205、 P206、M208、T212、G219、 T222、T224、R226、S228、 Y231、P232、Q241、D242、 T250、D255—G262、Y264、 Q265、W267、R271、G275、 E277、G288、N289、H290	+	6
2E5. 2. 3	+	+	+	+	+	+	+	+	「背部 & 上部」: V205、 P206、M208、T212、G219、 T222、T224、R226、S228、 Y231、P232、Q241、D242、 T250、D255—G262、Y264、 Q265、W267、R271、G275、 E277、G288、N289、H290	+	6
13A9	—	+	+	+	+	+	+	+	「背部 & 上部」: V205、 P206、M208、T212、G219、 T222、T224、R226、S228、 Y231、P232、Q241、D242、	+	7

10

20

30

40

	4	11	12	13	14	15	16	17	エピトープ	MILL1 MICA メラ	糖鎖改 変ビン
									T250、D255、G262、Y264、 Q265、W267、R271、G275、 E277、G288、N289、H290		
12H10	—	+	+	+	—	+	+	+	G243 : R240, Q241, D242, V244, S245, R279, T281	—	8
18G3	—	+	+	+	—	+	+	+	G243 : R240, Q241, D242, V244, S245, R279, T281	—	8

10

【0400】

表5において、ELISA値>0.65を正の結合として示す。最終ビン割り当ても示す。太字の残基はグリコシル化部位を示し、グリコシル化部位後に記載される太字ではない残基は5オングストローム以内である。エピトープは、グリコシル化残基の少なくとも1つまたはグリコシル化残基の5オングストローム以内の残基の1つを含むと推定される。

20

【0401】

実施例6：最終エピトープビン割り当て

Octet競合及びグリコシル化部位操作に基づく最終ビン割り当ては7つのビンを示す。

表6．最終ビン割り当て。

	Octet ビン	グリコシル化部位操作 ビン	最終ビン
3C9. 10	1	1	1
7D4. 6	1	2	2
6F8. 7	1	2	2
32D2	N. D.	2	2
3E11	N. D.	2	2
1D5	N. D.	2	2
15F11	N. D.	2	2
9C9. 5. 6	1	3	3
1E6. 1. 3	1	3	3
7A3. 1. 9	1	3	3
6E12. 5	1	4	4
20G11	N. D.	5	5
6E1. 1. 12	3	6	6
2E5. 2. 3	2	6	7
13A9	N. D.	7	8
12H10	N. D.	8	9
15F11	N. D.	8	9

注記：N. D. = 未決定。E L I S A 値 > 0. 5 を示す。

【0402】

実施例 7：アラニンスキャニング

この実施例は、M I C A * 0 0 8 対立遺伝子のアラニンスキャニングを使用して、6 F 8. 7（最終ビン 2）、7 D 4. 6（最終ビン 2）、2 E 5. 2. 3（最終ビン 7）、及び 1 D 5（最終ビン 2）のエピトープをマッピングする。

【0403】

方法

M I C A アラニンバリエーションに結合する抗 M I C A / B 抗体の結合動態を、T 2 0 0 機器（G E H e a l t h c a r e）で表面プラズモン共鳴（S P R）を用いて測定した。抗マウス F c（G E H e a l t h c a r e）を、製造業者が提供するプロトコルを用いて、アミンに基づくカップリングを介して C M 5 センサチップに固定した。M I C A * 0

10

20

30

40

50

08. m I g G 2 a アラニンバリエーションは、F a b を考慮しないので、抗マウス F c 及び抗 M I C A / B 抗体によって捕捉した。ヒト M I C A * 0 0 8 アルファ 3 ドメイン (m I g G 2 a タグ付き、インハウス) への F a b 結合を測定した。抗 M I C A / B F a b の結合のセンサグラムは、2 分の注入時間、3 0 μ L / 分の流量、2 5 $^{\circ}$ C の温度、ならびに 1 0 m M の H E P E S 、p H 7 . 4 、1 5 0 m M の N a C l 、3 m M の E D T A 、及び 0 . 0 0 5 % T w e e n 2 0 のランニングバッファを用いて記録した。注入後、F a b のアルファ 3 ドメインからの解離をランニングバッファ中で 5 分間監視した。表面を結合サイクル間に 1 0 m M グリシン H C l p H 1 . 7 の 7 0 μ L 注入で再生した。ランニングバッファのみを含有していたブランクを差し引いた後、M I C A への抗 M I C A / B F a b 結合について観察されたセンサグラムを、製造業者によって供給されたソフトウェアで 1 : 1 ラングミュア結合モデルを使用して分析して、動態及び結合定数を計算した。捕捉された M I C A * 0 0 8 アラニンバリエーションへの抗 M I C A / B 抗体結合のセンサグラムを使用して、解離定数 (K d) を計算した。K d 値を次いで野生型 M I C A * 0 0 8 に対して正規化し、データを親和性の倍の減少として報告し、図 9 に提供する。

10

結果

図 9 は、アラニンスキャニングからの親和性の倍の減少を示す。3 倍よりも大きい倍の減少は影付きである。前部における残基を有する 2 E 5 . 2 . 3 (最終ビン 7) の A l a スキャニングは、抗体が M I C の「前部」ではなく「背部」に結合することを示す M I L L 1 - M I C キメラデータを確認する。図 1 0 は、A l a スキャニングデータが含まれる 2 E 5 . 2 . 3 エピトープを示す。黒色の残基は、ヒト M I C A * 0 0 8 の V a l 2 0 5 、P r o 2 0 6 、M e t 2 0 8 、T h r 2 1 2 、G l y 2 1 9 、T h r 2 2 2 、T h r 2 2 4 、A r g 2 2 6 、S e r 2 2 8 、T y r 2 3 1 、P r o 2 3 2 、A s p 2 4 2 、A s p 2 5 5 と G l y 2 6 2 との間のアミノ酸、T y r 2 6 4 、G l n 2 6 5 、T r p 2 6 7 、及び A r g 2 7 1 である。図 1 1 A は、グリコシル化操作及び A l a スキャニングによってマッピングされた 6 F 8 のエピトープを比較する。図 1 1 B は、グリコシル化操作及び A l a スキャニングによってマッピングされた 7 D 4 のエピトープを比較する。

20

【0404】

考察

グリコシル化操作によってマッピングされたエピトープは、抗体 6 F 8 、7 D 4 、及び 1 D 5 の A l a スキャニング B i a c o r e 実験からの結果と非常によく一致した。6 F 8 、7 D 4 、及び 1 D 5 について、我々は、糖鎖改変残基 (G l y c o 1 4 からの) G 2 4 3 N 及び (G l y c o 1 6 からの) R 2 7 9 N を M I C A エピトープとして特定した。A l a スキャニングから、我々は、G 2 4 3 の 5 $\text{\AA}$ 以内の 2 つの残基及び R 2 7 9 の 5 $\text{\AA}$ 以内の 2 つの残基を、6 F 8 、7 D 4 両方のエピトープとして特定した。1 D 5 について、我々は、G 2 4 3 の 5 $\text{\AA}$ 以内の 4 つの残基及び R 2 7 9 の 5 $\text{\AA}$ 以内の 1 つの残基をエピトープとして特定した。我々は、R 2 7 9 を 6 F 8 、7 D 4 、及び 1 D 5 のエピトープとして特定した。しかしながら、G 2 4 3 A は 2 E 5 . 2 . 3 対照及び他の抗体の B i a c o r e 実験において低い R m a x を有し、タンパク質が誤って折り畳まれ、よって A l a スキャニングが情報を提供しないことを示した。それでも我々は R 2 4 0 及び V 2 4 4 、G 2 4 3 の 5 $\text{\AA}$ 以内の残基を、6 F 8 、7 D 4 、及び 1 D 5 のエピトープとして特定することができた。アラニンバリエーションに加えて、G 2 4 3 A 、D 2 4 2 A 、L 2 4 6 A 、T 2 8 1 A 、及び H 2 9 3 A は、不十分に折り畳まれた M I C A * 0 0 8 タンパク質のために評価することができなかった。

30

40

【0405】

E L I S A を使用する糖鎖改変は、結合に重要である抗原表面上の領域を特定するための迅速な方法である。グリコシル化でカバーすることができる領域には制限があり得るが、それは抗原エピトープ情報を得るための迅速で容易な方法である。抗原を A l a スキャニングすることは、エピトープについての非常に詳細な情報をもたらすことができるが、それは多くの構成体を必要とし、そのいくつかは不十分に折り畳まれる場合があり、B i a c o r e を使用してさらに時間がかかる。巨大タンパク質または多ドメインタンパク質

50

のエピトープをマッピングする場合、これは特に面倒である。この場合、抗原のグリコシル化操作は、全てのA1aバリエーションまたは別個の抗原ドメインを発現する必要なく、抗原の結合ドメインまたは領域を特定するのに特に有用である。抗体への結合に重要である結合ドメインまたは領域が特定されると、次いで表面露出残基のより小さなサブセットに対してA1aスクリーニングを行うことができる。

【0406】

実施例8：MICAシェディング阻害及び干渉アッセイ

抗MIC抗体を、MICA*004及びMICA*008シェディング細胞株からのMICシェディング阻害について試験した。

【0407】

方法

MICA*004及びMICB*005対立遺伝子を分析するために、肺癌細胞株HCC1534 (UTSW)を使用した。MICA*008について、黒色腫細胞株MEL-JUSO (DSMZ)を使用した。真正の細胞シェディング阻害を試験するために、MICの細胞分泌に対する抗体の効果を反映する試料及びMIC ELISAアッセイへの抗体干渉を反映する試料を分析した。簡潔に、細胞をT150フラスコ (Corning) において少なくとも24時間 (解凍後)、10% FBS及び2 mMのGlutamax (Gibco) が補足されたRPMI 1640培地で培養した。細胞は、細胞密度が70~80%コンフルエントに到達したとき採取し、250,000細胞/mlの濃度で培養培地に再懸濁させた。40マイクロリットルの細胞懸濁液 (合計10,000細胞) を384ウェルポリスチレン組織培養プレート (Greiner) の各ウェルに添加した。干渉アッセイのための上清 (sup) としての役割を果たすように、追加のプレートに同数の細胞を播種した。

【0408】

組み合わせ阻害のための抗体調製物

抗体 (mIgG2a、CHO由来) を、最高濃度について培養培地中40 µg/ml (4倍濃度) に対して正規化し、次いで4倍、7点希釈スキームで連続希釈した。希釈4倍抗体を1:1比 (最終20 µg/ml [2倍] 各Ab濃度) のチェッカー盤様式 (水平/垂直) で組み合わせた。

【0409】

濃度-効果分析のための抗体調製物

抗体 (hIgG1) を、最高濃度について培養培地中20 µg/ml (2倍濃度) に対して正規化し、次いで4倍、8点希釈スキームで連続希釈した。

【0410】

シェディング阻害アッセイの構築

40 µLの2倍抗体試料を、ウェルあたり10,000細胞を含有する細胞培養プレートに添加し、10 µg/ml (1倍) の最終最高濃度で80 µLの体積をもたらした。任意の残ったウェルは、対照としての役割を果たすように添加された40 µLの培地 (最終体積80 µL) を有した。試料を37°C/5% CO₂でインキュベートした。インキュベーションの24時間後、細胞培養上清を384ウェルのディープウェルポリプロピレンブロック (Greiner) に採取し、その後の分析のために-80°Cで凍結した (または同じ日に分析した)。干渉上清について、培養培地は、プールのためにリザーバーに採取し、また凍結した。

【0411】

MIC ELISAアッセイ

ELISAプレートを、MICA*004及びMICA*008について抗MICA AMO1 (MBL) またはMICB*005について抗MICB 236511 (R&D) でコーティングした。一晚インキュベーション後、試料を3回洗浄し、カゼインブロッキングバッファ (Sigma) を使用してブロッキングした。阻害試料分析のために、sup試料をアッセイの日に解凍し (または採取直後に使用し)、次いで試料バッファ (0

10

20

30

40

50

． 5 % B S A、1 0 p p m プロクリン、0 . 0 5 % T w e e n 2 0、0 . 2 5 % C H A P S、5 m M の E D T A、0 . 3 5 M の N a C l、1 0 p p m プロクリンを含む P B S 7 . 4) 中で希釈し、E L I S A プレートに添加した。干渉試料分析のために、プールされた条件培地は、試験抗体が添加され、穏やかに攪拌しながら室温で少なくとも 1 時間インキュベートした。抗体添加培地を次いで E L I S A プレートに添加した。連続希釈された組換え M I C タンパク質も、(s u p とは無関係の) プレートに添加して、試料定量化のための標準曲線を構築した。

【0412】

プレートを次いで密封し、穏やかに攪拌しながら室温で 2 時間インキュベートした。使用される一次抗体は次のとおりであった：M I C A について B i o - 8 C 5 . 6 (インハウス G e n e n t e c h) : 図 1 3 A ~ 図 1 3 C、B i o - 6 D 4 (M B L) : 図 1 5 A ~ 図 1 5 B、及び表 7、M I C A について B i o - 8 C 5 . 6 (インハウス G e n e n t e c h) : 図 1 6 A ~ 図 1 6 C、及び表 8 ~ 表 1 0、ならびに M I C B アッセイについて B i o - 7 E 3 (インハウス G e n e n t e c h) (図 1 3 A ~ 図 1 3 C、図 1 5 A ~ 図 1 5 C、図 1 6 A ~ 図 1 6 C、表 8 ~ 表 1 0。これらの抗体を、A s s a y D i l u e n t (P B S p H 7 . 4、0 . 5 % B S A、0 . 0 5 % T w e e n 2 0、1 0 p p m プロクリン) 中で希釈し、5 0 u g / m L の非特異的マウス I g G (E q u i t e c h - B i o) と 1 時間室温でインキュベートした。試料インキュベーション後、プレートを 6 回洗浄し、2 5 u L の一次抗体を添加した。プレートを次いで穏やかに攪拌しながら室温で 1 時間インキュベートした。インキュベーション後、ストレプトアビジン P o l y - H R P 8 0 (F i t z g e r a l d) をユニバーサルカゼイン希釈剤 (F i t z g e r a l d) 中で 9 0 n g / m L まで希釈した。プレートを 6 回洗浄し、2 5 u L の希釈ストレプトアビジン P o l y - H R P 8 0 を各ウェルに添加し、穏やかに攪拌しながら室温で 1 時間インキュベートした。インキュベーション後、プレートを 6 回洗浄し、2 5 u L の T M B (M o s s) を各ウェルに添加し、穏やかに攪拌しながら 1 5 分間インキュベートした。2 5 u L の 1 M リン酸を次いで各ウェルに添加し、E L I S A プレートを 4 5 0 / 6 2 0 n m 波長で読んだ。

【0413】

データ分析方法

O D を、標準材料の 5 パラメータ曲線あてはめ (1 / Y 重み付け) を使用して処理して、対応する対立遺伝子標準を使用する各試料中の可溶性 M I C A / B (s M I C) の量を定量化した。二重反復試料を一緒に平均し、全ての未処置試料をその特定のプレートについて平均した。各処置試料の阻害パーセントは、 $1 - (\text{処置試料中の s M I C}) / (\text{未処置試料中の s M I C 平均})$ として定義された。

【0414】

干渉試料を同じ方法で処理した。抗体が M I C A / M I C B 定量化に干渉した場合、抗体添加条件培地中の M I C A / M I C B 濃度は未処置条件培地 (対照) から顕著に逸脱する。M I C A / M I C B 量が対照よりも高い場合、それは正の干渉として定義された。M I C A / M I C B 量が対照よりも低い場合、それは負の干渉として定義された。

【0415】

結果

結果を表 7 に提供する。M I C A 0 0 8 対立遺伝子について、最終ビン 9 及び 2、続いてビン 5 及び 7 中の抗体は最高最大阻害 % 値を有し、最低 E C 5 0 値はビン 2 及び 9 において見られる。最終ビン 1 及び 3 中の抗体は、しかしながら、M I C A 0 0 8 対立遺伝子の不十分なシェディング阻害を示す。このシェディングをブロッキングできないことは、抗体の低親和性によるものであり得る。M I C A * 0 0 4 対立遺伝子について、最終ビン 2、9、5、7、続いてビン 8 及び 6 中の抗体は最高最大阻害 % 値を示し、最低 E C 5 0 値はビン 2 及び 9 において見られる。M I C B 0 0 5 対立遺伝子について、より小さいセットのデータが入手可能であるが、ビン 8、続いてビン 7 は最高最大阻害 % 値を有し、最低 E C 5 0 値はビン 9、2、5、及び 8 において見られる。

【0416】

HCC1534細胞におけるMICA*004シェディング阻害を図13Aに示す。単独の1D5または13A9によるシェディングの最大阻害は約60%であり、6E1によるシェディングの最大阻害は約50%であった。1D5と13A9とを組み合わせることは、相加または相乗効果を示さなかった。1D5及び6E1の組み合わせは、しかしながら、試料中のsMICの量をバックグラウンドと比較して約10%さらに低下し、微小の相加／相乗効果を示した。同様に、13A9及び6E1の組み合わせも、シェディング阻害を増強した。

【0417】

MEL-JUSO細胞におけるMICA*008シェディング阻害を図13Bに示す。単独の1D5によるシェディングの最大阻害は約70～75%であり、単独の13A9によるシェディングの最大阻害は約40%であり、6E1による最大阻害は約35～50%であった。1D5及び13A9が組み合わされた場合、シェディング阻害において相加または相乗効果はなかった。1D5の活性は一般に、13A9の存在下で維持された。1D5及び6E1の組み合わせは、しかしながら、試料中のsMICの量を約5～10%さらに低下し、微小の相加／相乗効果を示した。同様に、13A9及び6E1の組み合わせは、シェディング阻害の5～10%増加を示した。

【0418】

HCC1534細胞におけるMICB*005シェディング阻害を図13Cに示す。単独の1D5によるシェディングの最大阻害は約50%であり、13A9による最大阻害は75%に到達し、6E1によるシェディングの最大阻害は約45～50%であった。1D5及び13A9を10ug/mlで組み合わせることは53%のシェディング阻害を示すのみであったので、13A9の強いシェディング阻害は1D5の添加によって減少した。加えて、シェディング阻害において相加または相乗効果はなかった。1D5及び6E1の組み合わせは、しかしながら、シェディング阻害を約20～30%顕著に増強し、相加／相乗効果を示した。6E1と13A9との組み合わせは、相加または相乗効果を示さなかった。

表7：EC50及び最大阻害パーセント値。

10

20

名称	MICA*008	MICA*008	MICA*004	MICA*004	MICB*005	MICB*005	最終 ビン
	MEL-JUSO	MEL-JUSO	HCC1534	HCC1534	HCC1534	HCC1534	
	EC50 (ug/mL)	最大阻害%	EC50 (ug/mL)	最大阻害%	EC50 (ug/mL)	最大阻害%	
3C9.10	不活性	<10	50	24	該当せず	該当せず	1
7D4.6	不活性	26	0.185	63	該当せず	該当せず	2
6F8.7	0.163	47.5	0.251	70	該当せず	該当せず	2
3E11	0.265	70	0.309	55	該当せず	該当せず	2
9C9.5.6	不活性	<10	3.176	44	該当せず	該当せず	3
1E6.1.3	不活性	20	0.681	46	該当せず	該当せず	3
7A3.1.9	不活性	<10	0.411	50	該当せず	該当せず	3
6E12.5	0.074	28	0.329	37	該当せず	該当せず	4
6E1.1.12	0.355	42.2	0.265	65	該当せず	該当せず	6
2E5.2.3	0.195	61	0.107	72	該当せず	該当せず	7
2E5.2.3	0.1122	60	0.2304	80%	0.1067	60	7
6E1.1.12	0.0941	47	0.1565	73%	0.0791	55	6
15F11	0.0165	74	0.0485	86%	0.0736	59	2
32D2	0.0303	71	0.0592	76%	0.0781	54	2
13A9	0.4888	47	0.1656	66%	0.0530	79	8
18G3	0.0191	75	0.0120	74%	0.0124	48	9
12H10	0.0103	81	0.0689	76%	0.1394	54	9
20G11	0.0285	70	0.1234	69%	0.0169	51	5
1D5	0.0087	77	0.0435	81%	0.0128	54	2

注記：灰色で強調されたデータは、HEK293細胞の代わりにCHOから精製された抗MICA抗体を使用して、別の日に実施された。

【0419】

アッセイ干渉を、抗体を異なる濃度で希釈し、次いでそれらを組み合わせ、HCC1534またはMEL-JUSO細胞培養上清と>1時間インキュベートし、続いてシェディングされたMICA/MICBの定量化を行うことによって試験した。抗体がMICA/MICB定量化に干渉した場合、MICA/MICB濃度は抗体なし対照から顕著に逸脱する。MICA/MICB量が対照よりも高い場合、これは正の干渉である（正の回復%/負の阻害%をもたらす、場合によっては活性をマスキングする）。MICA/MICB量が対照よりも低い場合、これは負の干渉である（正の阻害%/偽陽性をもたらす）。正及び負の両方の干渉が、変動する程度で観察された（表8及び図15A～図15B）。潜在的にはHEK293宿主細胞からの共精製MICAの存在のために、特定の抗体について高濃度でいくらかの正の干渉があった（表8、図15A～図15B、及び図16A～図16C）。よって、列挙された抗体からのシェディング阻害活性は、アッセイ干渉アーチファクトによるものではないようであった。

【0420】

CHOから精製された抗MICA抗体が使用された場合、共精製MICAは存在しなかった。mIgG2a CHO由来材料が使用されたので、観察された唯一の顕著な干渉は負であり、場合によっては生物学的メカニズムにおいて真に発生していたものよりも強力な活性をもたらした。HCC1534細胞におけるMICA*004アッセイ干渉を図16Aに示す。全ての抗体について、干渉は阻害よりも低く、したがって、抗体はシェディ

ングを積極的に阻害し、結果は単にアッセイ干渉からのアーチファクトではなかった。1 D 5 及び 1 3 A 9 の組み合わせについて、いくらかの干渉（バックグラウンドの約 2 5 ～ 3 5 % 超）がほとんどの試料にわたって観察され、より低い抗体濃度でわずかな低減があった。この干渉は、単一抗体で観察された。1 D 5 及び 6 E 1 の組み合わせについて、高濃度の 6 E 1 でいくらか（適量の 1 D 5 で最高）の干渉（バックグラウンドの約 2 0 ～ 3 5 % 超）があり、この干渉は 6 E 1 で薄められた。この干渉は、単一抗体では顕著なレベルで観察されなかった。1 3 A 9 及び 6 E 1 の組み合わせについて、いくらかの抗体干渉（バックグラウンドの約 1 0 ～ 1 5 % 超）が高濃度の 1 3 A 9 及び 6 E 1 で観察され、6 E 1 と組み合わせられた 1 3 A 9 よりも顕著な影響を有するようであった 6 E 1 干渉で、薄まるようであった。

10

【0 4 2 1】

M E L - J U S O 細胞における M I C A * 0 0 8 アッセイ干渉を図 1 6 B に示す。有意な抗体干渉は任意の抗体によっていずれの対立遺伝子に対しても観察されず、したがって、任意の効果は主に生物学的であった。

【0 4 2 2】

H C C 1 5 3 4 細胞における M I C B * 0 0 5 アッセイ干渉を図 1 6 C に示す。1 D 5 及び 1 3 A 9 からいくらかの微小の干渉（2 0 ～ 3 0 % 阻害）があった。干渉は、組み合わせられた抗体のより高い濃度で、より少なかった。したがって、1 3 A 9 の活性のほとんどは生物学的であり、1 D 5 の活性の多くは干渉である。単独の 1 D 5 または 6 E 1 から最小限の干渉があったが、組み合わせられた場合、約 3 0 ～ 4 0 % 阻害があり、したがって、観察された活性のいくらかは部分的に干渉によるものである。6 E 1 及び 1 3 A 9 の組み合わせでは、組み合わせ干渉は明確な滴定傾向に従わなかった。観察されたほとんどの干渉は約 2 5 ～ 3 0 % であったので、活性の多くは真の阻害であると決定された。

20

表 8 : M I C A / B 干渉。

名称	HCC1534 (MICA*004) 干渉)	MEL-JUSO (MICA*008) 干渉)	HCC1534 (MICA*005) 干渉)
3C9.10	なし	なし	該当せず
7D4.6	正の干渉	なし	該当せず
6F8.7	正の干渉	正の干渉	該当せず
3E11	なし	N/A	該当せず
9C9.5.6	なし	なし	該当せず
1E6.1.3	なし	なし	該当せず
7A3.1.9	正の干渉	正の干渉	該当せず
6E12.5	正の干渉	正の干渉	該当せず
6E1.1.12	正の干渉	正の干渉	該当せず
2E5.2.3	なし	なし	該当せず
2E5.2.3	33%	なし	32%
6E1.1.12	28%	なし	25%
15F11	23%	なし	22%
32D2	該当せず	なし	該当せず
13A9	16%	なし	20%
18G3	28%	なし	26%
12H10	23%	なし	15%
20G11	21%	なし	18%
1D5	18%	なし	15%

10

20

注記：灰色で強調されたデータは、HEK293細胞の代わりにCHOから精製された抗MICA抗体を使用して、別の日に実施された。

30

【0423】

低干渉アッセイ様式（MICAについてAMO1/8C5及びMICBについて236511/7E3）を使用するsMICシェディング阻害活性に対する抗MIC抗体の比較の要約を表9に提供する。

表9：MIC対立遺伝子にわたる抗MIC抗体のシェディング阻害

Ab	PANC-1 (MICA*002)		HCC1534 (MICA*004)		MEL-JUSO (MICA*008)		HCC1534 (MICB*005)	
	最大阻害%	EC50 (ug/mL)	最大阻害%	EC50 (ug/mL)	最大阻害%	EC50 (ug/mL)	最大阻害%	EC50 (ug/mL)
1D5	48%	0.0342	65%	0.0136	74%	0.0207	59%	0.0386
13A9	66%	0.4180	56%	0.5990	50%	0.7945	76%	0.0349
6E1	23%	不可能	52%	0.3298	45%	0.1050	58%	0.0724
15F11	54%	0.0752	64%	0.0375	73%	0.0255	60%	0.1016

40

【0424】

低干渉アッセイ様式（MICAについてAMO1/8C5及びMICBについて236511/7E3）を使用する条件培地に対する抗MIC抗体の干渉の比較の要約を表10に提供する。

50

表 10 : M I C 対立遺伝子にわたる抗 M I C 抗体の干渉

Ab	PANC-1 (MICA *002)	HCC1534 (MICA* 004)	MEL-JUSO (MICA *008)	HCC1534 (MICB* 005)
	10ug/mL での 干渉による低減%	10ug/mL での干 渉による低減%	10ug/mL での干 渉による低減%	10ug/mL での干 渉による低減%
1D5	24%	26%	14%	31%
13A9	24%	21%	6%	33%
6E1	26%	23%	13%	17%
15F11	ND	24%	15%	21%

10

【0425】

表9及び表10に示されるように、抗MICA抗体1D5、13A9、及び15F11は全て、全ての対立遺伝子上のPANC-1、HCC1534、及びMEL-JUSOに対する干渉レベルを上回るシェディング阻害活性を示した。抗MICA抗体6E1は、HCC1534及びMEL-JUSOに対する干渉を上回るシェディング阻害活性を示すが、PANC-1に対する非干渉活性を示さない。1D5及び15F11はMICA*004及びMICB*008対立遺伝子に対する優れたシェディング阻害を示し、13A9は対立遺伝子MICA*002及びMICB*005に対する優れたシェディング阻害を示した。

20

【0426】

実施例9：抗MICA/B抗体の親和性及びシェディング阻害特性

この実施例は、MICEピトープと抗MICA/Bクローンの親和性及びシェディング阻害特性との間の関係を分析する。HZキャンペーンからのアルファ3ドメインに結合する抗MICA/Bクローン及び早期キャンペーンからの選択されたクローンを、結合、抗体ピン、及びシェディングの阻害について試験した。ピンをこのクローンのセットに基づいて割り当てた。

【0427】

30

Wasatchビニング方法

96×96アレイベースSPRイメージングシステム(Carterra USA)を使用して、モノクローナル抗体のパネルをエピトープビニングする。精製されたモノクローナルハイブリドーマ抗体を、10mMの酢酸ナトリウムバッファpH4.5中で10ug/mlで希釈した。アミンカップリングを使用し、抗体を、Continuous Flow Microspotter(Carterra, USA)を使用するSPRセンサプリズムCMD 200Mチップ(Xantec Bioanalytics, Germany)上に直接固定化して、抗体のアレイを作製した。ビニング分析について、IBIS MX96 SPRi(Carterra USA)を使用して、固定化抗体への結合を評価した。実験を、25℃で、10mMのHEPES、pH7.4、150mMのNaCl、3mMのEDTA、及び0.005%Tween 20(HBS-TE)のランニングバッファ中に行った。抗原をまず4分間100nMで注入し、続いてHBS-TEのランニングバッファ中10ug/mlで精製抗体の第2の4分注入を行った。表面をサイクル間に10mMのグリシンpH2.0で再生した。結合データを、Wasatchビニングソフトウェアツールを使用して処理した。

40

【0428】

結果

合計96個の抗MICA/Bクローンは、ELISAスクリーン(データ示さず)によって、MICA対立遺伝子*002、*004、及び008、ならびにMICB005のECD及びアルファ3ドメインを結合することが見出された。>0.5のELISA値を

50

「結合」とみなした。これらのクローンを次いで、B i a c o r eによってM I C A及びM I C Bのアルファ3ドメイン版への結合について試験し、M I C A*008アルファ3ドメインへの親和性値 $</=10\text{ nM}$ での結合を示した52個のクローンを選択した(図17)。次に、これらの52個の抗M I C A/B抗体をM I C A*008のシェディング阻害%について試験した(図18A)。これらの抗体はM I C A*008に十分に結合するが($</=10\text{ nM}$)、それらはM I C A*008のシェディングを1%~81%阻害する。この大きな範囲をさらに詳細に分析し、6個の抗体は、M I C A*008の1~20%シェディング阻害、7個の抗体は21~40%、26個の抗体は41~60%、13個の抗体は61~81%を示した。26個の抗M I C A抗体はM I C A*008シェディングを $>/=50\%$ 阻害し、3個の抗体はシェディングを $>/=75\%$ 阻害した。

10

【0429】

抗M I C A抗体のより良好なシェディング阻害特性の原因となる決定因子を理解するために、シェディング阻害と親和性との間の相関を分析した。M I C A*008の親和性(KD)及びM I C A*008のシェディング阻害%を52個の抗M I C A抗体についてプロットした(図18B)。このデータは、M I C A*008親和性とシェディング阻害%との間の相関を示さなかった。次に、親和性とM I C A*008上の特定のエピトープとの間の相関を試験した。Wasatchを使用してビニング実験を行い、52個の抗M I C A抗体のセットについての3つの固有のエピトープピンを決定した(図19A)。ピン1及びピン3は固有であったが、ピン2はピン1及びピン3とのいくつかの重複を有した。ピン1は、1D5と同様に結合した抗体を含有し、ピン3は、6E1、1、12と同様の結合を有した抗体を含有した。M I C A*008 Wasatchエピトープピンをプロットし、M I C A抗体の結合親和性と比較した(図19B)。ピン1は0.5~8.4 nMの親和性範囲を有する33個の抗M I C A抗体を有し、ピン2は2.1 nM~10 nMの親和性範囲を有する4個の抗M I C A抗体を有し、ピン3は0.47~6.8 nMの親和性範囲を有する15個の抗M I C A抗体を有した。Wasatchは3つの別個のM I C A*008エピトープピンを決定したが、これらのピン(特にピン1及び3)内での親和性範囲は類似し、親和性とエピトープピンとの間の相関を欠くことを示した。

20

【0430】

最後に、52個の抗M I C A抗体について特定のM I C A*008エピトープへのシェディング阻害の相関を分析した。WasatchによるM I C A*008エピトープピン及びシェディング阻害パーセント(%)をプロットした(図19C)。ピン1は、51%の中央値及び16~81%の範囲のシェディング阻害%を有する33個の抗M I C A抗体を有した。ピン2は、39%の中央値及び26~42%の範囲のシェディング阻害%を有する4個の抗M I C A抗体を有した。ピン3は、47%の中央値及び1~64%の範囲のシェディング阻害%を有する15個の抗M I C A抗体を有した。ピン1及びピン3のシェディング阻害%の中央値は類似し、ともに約65%の範囲差を有した。しかしながら、M I C A*008エピトープとシェディングを阻害する能力との間の相関が存在することが見出された。ピン1は最高シェディング阻害値を有する10個の抗体を含有し、ピン3は最低シェディング阻害能力を有する3個の抗体を有した(図19C)。ピン1におけるシェディング阻害パーセント値の大きな範囲のために、最良シェディング阻害に相関した特定のエピトープを特定するには、より高分解能のエピトープマッピング方法が必要であった。これは、所望のM I C Aエピトープについて選択するための抗体のスクリーニングを可能にした。

30

40

【0431】

より高分解能及び抗スループットのエピトープマッピング方法の必要性に対処するために、糖鎖改変エピトープマッピングまたはGEM方法が開発された(図20)。この方法は、単一N結合グリコシル化部位(N-X-S/T、式中、 $X\neq P$)を作製するようにタンパク質抗原配列を操作した。これはN-X-X部位をN-X-S/Tに変更することによって、またはX-X-S/T部位をN-X-S/Tに変更することによって達成された。加えて、いくつかのアミノ酸をNまたはC末端に付加して、新たなN結合グリコシル化

50

部位を作製することができた。糖鎖改変抗原バリエーションのパネルが作製され、精製されると、それらを抗体の結合についてELISAまたはBiacore/Wasatchのいずれかを使用してスクリーニングした。正及び負の結合を次いで構築し、エピトープがグリコシル化によってマスキングされているために結合が観察されなかった部位（複数可）としてエピトープを定義した。

【0432】

MICA*008について、MICA*008アルファ3ドメインの「前部」の単一N結合グリコシル化部位を、7個の別々のMICA*008バリエーションに導入した（図21A）。かかるバリエーションは、MICA*001の結晶構造（Protein Data Bank構造1B3J及び1HYR）に基づいて設計され、変異された7個の残基は、全て結晶構造において表面が露出された。MICA*008糖鎖改変バリエーションの質量分析を行って、グリコシル化を分析した（図21B）。我々は、Glycoバリエーション11、14、15、または16についてトリプシンペプチドのカバレッジを有さなかった。しかしながら、我々は、Glyco12、13、及び17についてトリプシンペプチドを検出し、それらは全て、それらのWT MICA*008トリプシンペプチド対応物と比較して増加したN結合グリコシル化を示した（図21B）。Glyco12についてのグリコシル化部位の付加によって、我々は、38%グリコシル化及び1つの天然グリコシル化部位を有したWTペプチドと比較して、トリプシンペプチド上で>99%の総グリコシル化を観察した。Glyco13は、他の部位を有さなかったペプチドにおいてN結合グリコシル化部位を導入し、総グリコシル化が0から99%となった。Glyco17についてのグリコシル化部位の付加によって、我々は、68%グリコシル化及び1つの天然グリコシル化部位を有したWTペプチドと比較して、トリプシンペプチド上で86%の総グリコシル化を観察した。

【0433】

これらの7個のMICAグリコシル化バリエーションの結合を、ELISAによって全ての4個のMICA/B対立遺伝子を結合した全ての96個の抗MICA/Bクローンで試験した。11個の固有のエピトープピンを、7個の糖鎖改変バリエーションへの結合特性に基づいて特定した（図21C）。最も多数の抗体は、糖鎖改変MICAバリエーションのいずれも結合しないピン6、糖鎖改変バリエーション14及び16に結合するピン2、ならびに糖鎖改変バリエーション16に結合するピン5において観察された。シェディングを>70%阻害する抗MICA抗体のさらなる試験は、シェディングをブロッキングする上位抗体が3つのピンのみに該当したことを示した（図21C）。これらのピンは、糖鎖改変バリエーションGlyco14、Glyco16、またはGlyco14及びGlyco16の両方を有するエピトープを含んだ。したがって、MICAの「前部」及び「底部」上のエピトープをブロッキングする抗体は、MICA*008シェディングをブロッキングするのに最も効果的であった（図21D）。

【0434】

実施例10：抗MIC抗体の結晶構造解析

この実施例は、抗MIC 1D5、13A9、及び6E1.1.12抗体の結晶構造を特徴付ける。

【0435】

Fabの発現及び精製

全てのFabを、E. coliにおいて、マウス可変ドメインならびにヒトカッパCL及びヒトIgG1 CH1定常ドメインを含有するキメラとして発現させた。細胞をペレット化し、25mMのトリス、pH7.5、150mMのNaCl、5mMのEDTAに再懸濁し、マイクロフルイダイザーに2回通すことによって溶解した。DNAを、0.4%ポリエチレンイミン（PEI）を添加し、攪拌しながら1時間～一晩まで4℃でインキュベートすることによって沈殿させた。溶解物を、15,000×gでの1時間の遠心分離、続いて0.22µmフィルターを通す濾過によって浄化した。

【0436】

1D5 Fabを、GammaBind Plus Sepharose (GE Healthcare)を使用する親和性クロマトグラフィーによって精製した。親和性捕捉後、カラムを平衡バッファ (25mMのトリス、pH7.5、150mMのNaCl、5mMのEDTA)、平衡化バッファ及び0.1% Triton X-100+0.1% Triton X-114、再び平衡化バッファ、続いて低塩バッファ (25mMのスクシネート、pH6.0)で洗浄した。Fabを150mMの酢酸、pH2.7で溶出し、1/10体積の1Mのトリス、pH9.0で直ちに中和した。1D5 Fabを、バッファA (20mMのクエン酸ナトリウム、pH5.0)で予め平衡化されたSP Sepharose High Performanceカラム (GE Healthcare)を使用するカチオン交換クロマトグラフィーによってさらに精製し、10のカラム体積 (CV) にわたる0~40%勾配のバッファB (20mMのクエン酸ナトリウム、pH5.0、1MのNaCl)で溶出した。カチオン交換クロマトグラフィー後、1D5 Fabを、複合体形成前に25mMのトリス、pH7.5、150mMのNaClに透析した。

10

【0437】

13A9 Fabを、上述のようなGammaBind Plus Sepharose (GE Healthcare)、続いてHiLoad Superdex 200 pgカラム (GE Healthcare)を使用するサイズ排除クロマトグラフィーによって精製した。サイズ排除クロマトグラフィー後、13A9 Fabを、複合体形成前に、25mMのトリス、pH7.5、150mMのNaClに透析した。

20

【0438】

6E1.1.12 Fabも、GammaBind Plus Sepharose (GE Healthcare)を使用する親和性クロマトグラフィー、続いて20CVにわたる0~20%勾配のバッファB (20mMのクエン酸ナトリウム、pH5.0、1MのNaCl)を溶出に使用したことを除き、上述のようなカチオン交換クロマトグラフィーによって精製した。SP Sepharose High Performanceカラムからの溶出後、2つのピークが観察された。質量分析は、主要ピークがそれらの各理論的質量に一致する軽鎖 (LC) 及び重鎖 (HC) を有するFabを含有したことを示した。微小ピークはLCの予想される質量を含有したが、HCは理論的質量よりも17Da小さく、タンパク質の画分のアミノ末端上でのピログルタメートの形成を示した。ピログルタメートを含有するピークは総タンパク質の微小画分であり、したがってアミノ末端でグルタミンを含有するピークは結晶化に使用された。カチオン交換クロマトグラフィー後、6E1.1.12 Fabを、複合体形成前に25mMのトリス、pH7.5、150mMのNaClに透析した。

30

【0439】

ヒトMICA*008α3ドメインの発現及び精製

野生型ヒトMICA*008α3ドメイン及びC273S変異体の両方を生成した。C273S変異体は、α3ドメインから非対合システインを除去し、小画分の野生型タンパク質で観察されたジスルフィド結合形成を介した共有結合二量体化をブロックするように設計された。

40

【0440】

アミノ末端トロンピン切断性His₆タグを含有するヒトMICA*008α3ドメインを、バキュロウイルス発現系を使用してTrichoplusia ni (T. ni)細胞においてStreptomyces pllicatu EndoHと共発現させた。ヒトMICA*008の残基T204-S297及びStreptomyces pllicatu EndoHの残基F2-P313をコードするDNAを、pAcgp67 (BD Biosciences)をわずかに修飾した版に別々にクローニングした。導入ベクターを、BestBac直線化ウイルスDNA (Expression Systems, LLC)と、Spodoptera frugiperda (Sf9)細胞に、Cellfectin (Invitrogen)を用いてコトランスフェクトして、組換えバキュロウイルスを産生した。ウイルスを増幅させて、タンパク質発現に使用されるストッ

50

クを調製した。T. ni Pro細胞を、2 LのESF921無血清無タンパク質培地 (Expression Systems) に 2×10^6 細胞/mLで接種し、20 mLのウイルスに1:1 MICA:EndoHの比で感染させた。キフネンシンを10 mLのESF921培地に溶解し、滅菌濾過し、1 mg/Lの最終濃度までの感染で添加し、複合体N結合グリカン形成を防止した。細胞を、130 RPMでの2 インチスローによる振盪機における5 L Thomson Optimum Growth (商標) フラスコ中27 °Cで増殖させた。感染の48時間後、培養物を、トリス及び塩で50 mMのトリス、pH 8.0、5 mMのCaCl₂、1 mMのNiCl₂の最終濃度まで調節し、30分間混合させて、培地における過剰遊離アミノ酸を沈殿させた。細胞及び沈殿アミノ酸を、300 RCFで15分間の遠心分離によって培養上清から除去した。分泌MICA*008タンパク質を含有する上清を、0.2 µmフィルターに通して濾過し、精製前にpH 7.0に調節した。

10

【0441】

全てのMICA*008精製ステップは4 °Cで行った。pHが調節された上清を、バッファA (50 mMのリン酸ナトリウム、pH 8.0、300 mMのNaCl) 中で平衡化されたNi Sepharose Excel (GE Healthcare) カラムに装填した。カラムを、2.5%バッファB (50 mMのリン酸ナトリウム、pH 8.0、300 mMのNaCl、400 mMのイミダゾール)、Triton X-114 バッファ (50 mMのリン酸ナトリウム、pH 8.0、300 mMのNaCl、0.1% Triton X-114)、続いて2.5%バッファBで洗浄した。タンパク質を、100%バッファBの段階的勾配で溶出し、次いで50 mMのリン酸ナトリウム、pH 8.0、150 mMのNaClに透析した。

20

【0442】

His₆ タグを、MICA*008タンパク質1 mgあたり15単位のトロンビン (GE Healthcare) での16時間室温で回転させながらの切断によって除去し、切断反応を質量分析によって監視した。MICA*008の1 mgあたりさらに5単位のトロンビンを添加し、反応を室温で回転させながらさらに24時間進行させた。タンパク質を0.22 µmフィルターに通して濾過して、さらなる精製前に沈殿を除去した。

【0443】

タグ付けされていないMICA*008α3ドメインを、フロースルーの収集を伴うNi Sepharose Excel (GE Healthcare) カラムを使用する逆親和性精製によっていずれの残ったタグ付きタンパク質からも分離した。カラムを50 mMのリン酸ナトリウム、pH 8.0、300 mMのNaCl、20 mMのイミダゾールで洗浄し、洗浄物も収集した。フロースルー及び洗浄物の両方を、Hi Load Superdex 75 pg カラム (GE Healthcare) でさらに精製して、トロンビン及び高分子量凝集物を除去した。

30

【0444】

Mono S GLカラム (GE Healthcare) で、30 CVにわたる0~100%バッファB (20 mMの酢酸ナトリウム、pH 5.0、1 MのNaCl) 勾配を用いて最終研磨ステップを行って、微量の残ったHis₆ タグ付きMICA*008を除去した。タグ付けされていないMICA*008α3ドメインを含有する画分をプールし、複合体形成前に25 mMのトリス、pH 7.5、150 mMのNaClに透析した。

40

【0445】

Fab-MICA*008α3ドメイン複合体の精製

Fab-MICA*008複合体を、2倍モル過剰の、4 °Cで一晩様々なFabとインキュベートされたMICA*008α3ドメインから形成した。1D5または13A9 Fabを含有する複合体を野生型MICA*008α3ドメインで形成した一方で、6E1.1.12複合体をC273S変異体MICA*008α3ドメインで形成した。複合体を、25 mMトリス、pH 7.5、150 mMのNaCl中でHi Load Superdex 75 pg カラム (GE Healthcare) を使用するサイズ排除クロマ

50

トグラフィーによって、過剰MICA*008α3ドメインから精製した。複合体を含有する画分をプールし、結晶化スクリーニング試験のために20mg/mLまで濃縮した。

【0446】

Fab-MICA*008α3ドメイン複合体の結晶化及びX線データ収集

1D5 Fab-MICA*008複合体の結晶は、30日にわたって4℃でタンパク質(25mMのトリス、pH7.5、150mMのNaCl中20mg/mL)及びウェル溶液(0.1Mの酢酸ナトリウム、pH4.6、25%PEG4000)の1:1混合物からの蒸気拡散懸滴において成長した。結晶は、ウェル溶液を使用して極低温保護し、急速冷凍し、液体窒素中で保存した。回折データを、極低温冷却条件(100K)下、Advanced Photon Source (APS) ビームラインSER-CAT 22-ID (Argonne National Laboratory, IL)、1.00 Åの波長で収集した(表11)。

10

【0447】

13A9 Fab-MICA*008複合体の結晶は、一晚19℃でタンパク質(25mMのトリス、pH7.5、150mMのNaCl中20mg/mL)及びウェル溶液(0.01MのZnSO₄、0.1MのMES、pH6.5、25%PEG 550 MME)の2:1混合物からの蒸気拡散懸滴において成長した。これらの結晶を、Seed Beadキット(Hampton Research)で粉砕し、ウェル溶液中で1:500に希釈し、タンパク質(25mMのトリス、pH7.5、150mMのNaCl中20mg/mL)及びより低濃度のPEG 550 MMEを含有するウェル溶液(0.01MのZnSO₄、0.1MのMES、pH6.5、16~18%PEG 550 MME)の1:1混合物へのストリークシーディングに使用した。播種された結晶は、3日にわたって19℃で蒸気拡散懸滴において成長した。結晶は、25%グリセロール、0.01MのZnSO₄、0.1MのMES、pH6.5、15%PEG 550 MME中で極低温保護し、急速冷凍し、液体窒素中で保存した。回折データを、極低温冷却条件(100K)下、Advanced Light Source (ALS) ビームライン5.0.2 (Lawrence Berkeley National Laboratory, CA)、1.00 Åの波長で収集した(表11)。

20

【0448】

6E1.1.12 Fab-MICA*008 C273S複合体の結晶は、5日にわたって19℃でタンパク質(25mMのトリス、pH7.5、150mMのNaCl中20mg/mL)及びウェル溶液(0.1Mのクエン酸三ナトリウム、15%イソプロパノール、15%PEG4000)の1:1混合物からの蒸気拡散懸滴において成長した。結晶は、25%グリセロールを添加したウェル溶液を使用して極低温保護し、急速冷凍し、液体窒素中で保存した。回折データを、極低温冷却条件(100K)下、Stanford Synchrotron Radiation Lightsource (SSRL) ビームライン12-2 (SLAC National Accelerator Laboratory, CA)、0.97946 Åの波長で収集した(表11)。

30

表11. X線データ収集及び精密化統計

データ収集	1D5 Fab-MICA*008 $\alpha 3$	13A9 Fab-MICA*008 $\alpha 3$	6E1.1.12 Fab-MICA*008 C273S $\alpha 3$
ビームライン	APS SER-CAT 22-ID	ALS 5.0.2	SSRL 12-2
波長 (Å)	1.00	1.00	0.97946
検出器:	Rayonix 300HS	Pilatus 6M	Pilatus 6M
空間群	P2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
細胞寸法 a, b, c (Å) α, β, γ (°)	58.69, 50.18, 88.63 90.00, 90.85, 90.00	51.55, 61.83, 172.37 90.00, 90.00, 90.00	66.50, 89.79, 89.72 90.00, 90.00, 90.00
分解能 (Å)	35.00-1.30 (1.32-1.30)	35.00-1.90 (1.93-1.90)	35.00-2.21 (2.26-2.21)
R _{merge}	0.059 (0.56)	0.085 (0.49)	0.090 (0.33)
<I/ σ I>	23.9 (1.4)	18.2 (2.2)	10.5 (1.8)
CC1/2 (最高ビン)	(0.793)	(0.724)	(0.591)
完全性 (%)	99.6 (96.4)	95.0 (74.6)	76.0 (59.4)
冗長性	3.5 (2.9)	5.2 (4.0)	3.7 (1.7)
観察された反射	443, 217	219, 704	97, 888
固有の反射	126, 363	42, 120	26, 155
精密化			
分解能 (Å)	35.00-1.30	35.00-1.90	35.00-2.05
反射の数	120, 157	40, 023	24, 785
R _{free} セットにおける反射	6, 152	2, 050	1, 353
ASU 中の Fab-MICA 複合体	1	1	1
R _{work} /R _{free} (%)	18.84/20.54	20.84/24.68	22.34/27.46

10

20

30

データ収集	1D5 Fab-MICA*008 $\alpha 3$	13A9 Fab-MICA*008 $\alpha 3$	6E1.1.12 Fab- MICA*008 C273S $\alpha 3$	
平均 B 因子 ($\text{\AA}^2$)				
タンパク質	13. 83	19. 76	25. 39	
水	32. 41	38. 02	33. 36	
グリセロール	該当せず	52. 85	該当せず	
硫酸塩	該当せず	64. 49	該当せず	
亜鉛	該当せず	33. 63	該当せず	10
総溶媒	32. 41	40. 70	33. 36	
全原子	16. 24	21. 28	25. 51	
ウィルソン B 因子 ($\text{\AA}^2$)	14. 66	23. 66	25. 87	
原子なし				
タンパク質	4, 186	4, 008	4, 043	
水	625	260	61	
グリセロール	0	48	0	20
硫酸塩	0	5	0	
亜鉛	0	1	0	
総溶媒	625	314	61	
全原子	4, 811	4, 322	4, 104	
R. m. s. 偏差				
結合長 ($\text{\AA}$)	0. 007	0. 006	0. 006	
結合角度 ($^\circ$)	1. 30	1. 12	1. 13	
ラマチャンドラン プロット (%)				
好適	98. 9	97. 7	97. 5	
許容	1. 1	2. 3	2. 5	
外れ値	0	0	0	30
回転異性体外れ値 (%)	1. 25	0. 91	0. 89	

注記：*括弧内の値は、最高分解能シェルのものである。

【0449】

6E1.1.12 Fab-MICA*008 C273S $\alpha 3$ ドメイン複合体の分解能は 2. 21 $\text{\AA}$ であり、完全性 > 50% であったが、CC1/2 > 0. 5 である 2. 05 $\text{\AA}$ のデータを精密化に使用した。平均 B 因子は CCP4 において B 平均を使用して計算し、ウィルソン B 因子は PHENIX において Xtriage を使用して計算した。ラマチャンドラン統計及び回転異性体外れ値は、PHENIX において PDB ツールを使用して計算した。

【0450】

Fab-MICA*008 $\alpha 3$ ドメイン複合体の X 線構造決定

HKL2000 を使用して、データを統合し、スケーリングした。1D5 Fab-MICA*008 結晶は、1つの Fab-MICA 複合体が非対称単位 (ASU) 中にある P2₁ 空間群に属した。13A9 Fab-MICA*008 結晶は、1つの Fab-M

40

50

I C A 複合体が A S U 中にある $P2_12_12_1$ 空間群に属した。6 E 1 . 1 . 1 2 F a b - M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S 結晶も、1つの F a b - M I C A 複合体が A S U 中にある空間群 $P2_12_12_1$ であることが見出された（表 1 1）。

【0451】

全ての構造を、P H E N I Xにおいて P H A S E R - M Rを用いる分子置換によって決定した。各複合体について、5つの連続分子置換検索を、後述のような個別の検索モデルとして F a b 定常ドメイン（C L及びC H 1）、F a b 可変ドメイン（V L及びV H）、及び M I C A α 3ドメインの各々で行った。

【0452】

この試験に使用される F a b の全ては、ヒトカップ C L 及びヒト I g G 1 C H 1 定常ドメインを含有する。ハーセプチン（タンパク質データバンク（P D B）受託 1 N Z 8）の F a b 断片からの個別の C L（鎖 A の残基 1 0 8 - 2 1 2）及び C H 1（鎖 B の残基 1 2 1 - 2 2 0）ドメインを検索モデルとして使用した。

10

【0453】

1 D 5 F a b V L ドメインはマウス I G K V 4 - 9 1 * 0 1 生殖細胞系列遺伝子に由来し、P D B 受託 4 M 1 G からの鎖 L の残基 1 - 1 0 8 を検索モデルとして使用した。

1 D 5 F a b V H ドメインはマウス I G H V 1 S 1 3 5 * 0 1 生殖細胞系列遺伝子に由来し、P D B 受託 1 F 3 D からの鎖 H の残基 1 - 1 1 3 を検索モデルとして使用した。

【0454】

1 3 A 9 F a b V L ドメインはマウス I G K V 1 2 - 4 1 * 0 1 生殖細胞系列遺伝子に由来し、P D B 受託 1 A 2 Y からの A 鎖の残基 1 - 1 0 7 を検索モデルとして使用した。1 3 A 9 F a b V H ドメインはマウス I G H V 1 - 5 4 * 0 2 生殖細胞系列遺伝子に由来し、P D B 受託 4 J 8 R からの B 鎖の残基 2 - 1 1 3 を検索モデルとして使用した。

20

【0455】

6 E 1 . 1 . 1 2 V L ドメインはマウス I G K V 1 - 1 1 7 * 0 1 生殖細胞系列遺伝子に由来し、P D B 受託 1 F 3 D からの鎖 J の残基 1 - 1 0 7 を検索モデルとして使用した。6 E 1 . 1 . 1 2 F a b V H ドメインはマウス I G H V 1 - 8 4 * 0 1 生殖細胞系列遺伝子に由来し、P D B 受託 1 C T 8 からの鎖 B の残基 1 - 1 1 3 を検索モデルとして使用した。

30

【0456】

1 D 5 F a b - M I C A * 0 0 8 複合体構造について、M I C A * 0 0 1 P D B 受託 1 H Y R からの鎖 C の残基 1 8 1 - 2 7 4 を検索モデルとして使用した。その後の 1 3 A 9 F a b - M I C A * 0 0 8 及び 6 E 1 . 1 . 1 2 F a b - M I C A * 0 0 8 複合体の構造について、1 D 5 F a b - M I C A * 0 0 8 複合体からの M I C A * 0 0 8 の残基 2 0 4 - 2 9 7 を、 α 3ドメインのための検索モデルとして使用した。

【0457】

分子置換溶液を得た後、C O O T を使用してモデルを構築し、R E F M A C 及び P H E N I X において精密化した。平均 B 因子は C C P 4 において B 平均を使用して計算し、ウィルソン B 因子は P H E N I X において X t r i a g e を使用して計算した。ラマチャンドラン統計及び回転異性体外れ値は、P H E N I X において P D B ツールを使用して計算した。接触は、C C P 4 において接触 / N C O N T 及び P I S A で分析した。全ての数値は、P Y M O L で生成した。

40

【0458】

1 D 5 F a b - M I C A * 0 0 8 複合体構造の分解能は 1 . 3 0 Å であり、モデルは 2 0 . 5 % の $R_{f r e e}$ 値に精密化した。最終モデルは、1 D 5 L C の残基 1 - 2 1 4、1 D 5 H C の残基 2 - 2 1 6、及び M I C A * 0 0 8 α 3ドメインの残基 2 0 4 - 2 9 7 を含有し、M I C A * 0 0 8 の残基 2 1 5 - 2 2 0 は構造が破壊されている。ラマチャンドラン統計は、残基の 9 8 . 9 % が好まれる領域にあり、1 . 1 % が許容される領域にあり、外れ値がないことを示す（表 1 1）。

50

【0459】

13A9 Fab-MICA*008複合体構造の分解能は1.90 Åであり、モデルは24.7%のR_{free}値に精密化した。最終モデルは、13A9 LCの残基1～214、13A9 HCの残基1～217、及びMICA*008α3ドメインの残基204～297を含有する。ラムチャンドラン統計は、残基の97.7%が好まれる領域にあり、2.3%が許容される領域にあり、外れ値がないことを示す(表9)。

【0460】

6E1.1.12 Fab-MICA*008 C273S複合体構造の分解能は2.21 Åであり、完全性は依然として50%超(59.4%)であったが、CC1/2が依然として0.5より大きかった2.05 Å分解能のデータを精密化に使用した。モデルを27.5%のR_{free}値に精密化した。最終モデルは、6E1.1.12 LCの残基1～212、6E1.1.12 HCの残基2～214、及びMICA*008α3 C273Sドメインの残基204～297を含有する。ラムチャンドラン統計は、残基の97.5%が好まれる領域にあり、2.5%が許容される領域にあり、外れ値がないことを示す(表11)。

【0461】

1D5 Fab-MICA*008α3ドメイン複合体の構造分析

MICA*008α3ドメインを有する複体内の1D5 Fabの構造は、1D5が、カルボキシ末端ベータ鎖を含有する免疫グロブリン(Ig)ドメインのベータシートとして定義される、α3ドメインの「前面」に結合することを明らかにする(図22A～図22D)。約1526 Å²の表面積は、1D5 FabとMICA*008α3ドメインとの界面で埋没し、そのうちの934 Å²はHCとの接触からのものであり、526 Å²はLCからのものである。全ての6つのCDRからの残基はMICA*008と相互作用し、最多数の接触はCDR H1からのものであり、続いてはCDR L3及びH3からのものである(図23A～図23B)。1D5のエピトープは、複合体の構造において1D5 Fabの4.5 Å以内のMICA*008α3ドメインの残基として定義される(表12及び図24A～図24D)。同様に、1D5のパラトープは、MICA*008α3ドメインの4.5 Å以内の1D5 Fabの残基として定義される(表12及び図24A～図24D)。

表12. 1D5のMICA*008のエピトープ残基及びそれらの対応するパラトープ残基

10

20

30

MICA*008 α 3 エピト ープ残基	1D5 LC パラトープ残基	1D5 HC パラトープ残基
Arg240		Ser31、Gln32
Gln241	Tyr32、Gly91、Ser92	
Asp242	Gly91、Leu94、Leu96	Asn33、Tyr35、Tyr50、Ser95、 Asn99
Gly243		Gln32、Asn33、Ser95、Gly96
Val244		Tyr35、Ser95、Gly96、Ser97、 Ser98、Asn99
Ser245	Arg50	Gly96
Leu246	Tyr32	
Ser247	His31、Arg50	
Asp249	His31	
Thr250	His31	
Arg279	Gly91、Ser92、Ser93、Leu94	Tyr50
Tyr283		Ser31
His290		Ala28、Thr30、Ser31、Tyr53
Ser291		Tyr53
Thr292		Thr30、Glu52、Tyr53、Asn54
Pro294		Asn54

10

20

注記：1D5 エピトープは、1D5 Fab の 4.5 Å 以内の MICA*008 α 3 ドメイン残基として定義された。1D5 パラトープは、MICA*008 α 3 ドメインの 4.5 Å 以内の 1D5 残基として定義された。距離は、CCP4 において接触/NCNT で計算された。

30

【0462】

1D5 は、極性及び非極性の両方の相互作用の組み合わせを用いて MICA*008 α 3 ドメインと相互作用する。観察される極性相互作用は、水素結合（図 25A～図 25D）及び静電相互作用（図 26A～図 26B）の両方を含む。MICA*008 の Ser247 の側鎖は、Asp249 の側鎖と分子内水素結合を作製する（図 25A）。これは Asp249 を CDR L1 の His31 との静電相互作用を起こすように位置付ける（図 26A～図 26B）。1D5 LC も、ともに MICA*008 における Arg279 の側鎖のグアニジニウム基からの 2 つのアミンと水素結合を形成する CDR L3 の Gly91 及び Ser92 の主鎖カルボニルとの 2 つの水素結合に寄与する（図 25B）。いくつかの水素結合及び極性相互作用も、1D5 の HC からのものである。2 つの水素結合は CDR H1 における残基からのものであり、H1 の Ser31 の主鎖カルボニルが MICA*008 における Arg240 の側鎖と水素結合を形成し（図 25C）、H1 の Tyr35 の側鎖ヒドロキシルが MICA*008 の Asp242 の主鎖カルボニルと水素結合を形成する（図 25D）。CDR H2 の Tyr50 も、MICA*008 の Asp242 の側鎖カルボキシルと水素結合を作製する（図 25D）。加えて、CDR H2 の Asn54 の側鎖カルボニルは、MICA*008 の T292 の主鎖カルボニルと極性相互作用を形成し（図 25C）、CDR H3 の Gly96 の主鎖カルボニルは、MICA*008 の Ser245 の主鎖アミドと水素結合を作製する（図 25D）。観察される非極性相互作用は、ファンデルワールス相互作用及び形状相補性を含む。MICA*008 の 240 台ループは、Ig ドメインの「前面」から突出し、 α 3 ドメイン上の凸面を作製

40

50

する（図 27A～図 27B）。1D5 Fab は、LC と HC との界面での形状相補性を用いて、この表面を収容する。CDR L3 及び H3 の両方は、240 台ループの結合に関与し、両方は、セリンなどの小さな側鎖を有するか、またはグリシンなどの側鎖を有さない一連の残基を含有する。これらの CDR は LC/HC 界面から離れて広がり、セリン側鎖が MICA*008 界面から離れて示され、MICA*008 の凸面が結合する窪みを作製する（図 27C～図 27E）。CDR L3 及び H3 アミノ酸組成物の性質ならびにそれらの立体構造は、240 台ループの凸状性質を補完する凹面をもたらす。CDR L3 及び H3 の側鎖及び全体的なループ立体構造は、MICA*008 界面から離れて曲がるが、CDR L1、L2、H1、及び H2 ならびにそれらの側鎖は、MICA*008 α 3 ドメイン表面の凹状領域を充填する界面を指す傾向がある（図 27F～図 27G）。

10

【0463】

13A9 Fab-MICA*008 α 3 ドメイン複合体の構造分析

MICA*008 α 3 ドメインを有する複体内の 13A9 Fab の構造は、13A9 が、カルボキシ末端ベータ鎖を含有する Ig ドメインのベータシートとして定義される、 α 3 ドメインの「前面」に結合することを明らかにする（図 28A～図 28D）。約 1750 $\text{\AA}^2$ の表面積は、13A9 Fab と MICA*008 α 3 ドメインとの界面で埋没し、そのうちの 1086 $\text{\AA}^2$ は HC との接触からのものであり、664 $\text{\AA}^2$ は LC からのものである。全ての 6 つの CDR からの残基は MICA*008 と相互作用し、最多数の接触は CDR H2 からのものであり、続いては CDR L3 及び H3 からのものである（図 29A～図 29B）。13A9 のエピトープは、複合体の構造において 13A9 Fab の 4.5 $\text{\AA}$ 以内の MICA*008 α 3 ドメインの残基として定義される（表 13 及び図 30A～図 30D）。同様に、13A9 のパラトープは、MICA*008 α 3 ドメインの 4.5 $\text{\AA}$ 以内の 13A9 Fab の残基として定義される（表 13 及び図 30A～図 30D）。13A9 は、極性及び非極性の両方の相互作用の組み合わせを用いて MICA*008 α 3 ドメインと相互作用する。観察される極性相互作用は、水素結合（図 31A～図 31D）及び静電相互作用（図 32A～図 32B）の両方を含む。LC 及び HC の両方からの残基は、MICA*008 と水素結合を形成する。3 つの水素結合は、13A9 の CDR L1 からのものである。His30 の側鎖は Ser297 の主鎖アミドと水素結合を作製し、Ser31 の主鎖カルボニル基は Glu278 の側鎖と水素結合を作製し、Tyr32 の側鎖は Val295 の主鎖カルボニルと水素結合を形成する（図 31A）。LC からの追加の水素結合は、CDR L2 の Tyr50 からのものであり、側鎖が Glu278 の主鎖カルボニルと水素結合を作製する（図 31A）。合計 9 つの水素結合は、13A9 の HC からのものである。CDR H1 の Asn31 の主鎖カルボニルは、Arg240 の側鎖と水素結合を形成する（図 31B）。CDR H2 は、MICA*008 α 3 ドメインと 5 つの水素結合を形成する（図 31C）。Asn52 の側鎖は、Tyr283 の側鎖と水素結合を作製する。Ser54 の側鎖は、Glu285 の側鎖と水素結合を作製する。Ala56 の主鎖カルボニルは、His290 の側鎖と水素結合を作製する。最後に、Thr57 は 2 つの水素結合を形成し、その主鎖アミドが Glu288 の主鎖カルボニルと結合を形成し、Thr57 の主鎖カルボニルが His290 の主鎖アミドと水素結合を形成する。13A9 の CDR H3 は、MICA*008 と 3 つの水素結合を作製するが、これらの結合を作製するのに単一の残基のみを使用する（図 31D）。Asn98 の側鎖は、Glu278 及び Phe280 の主鎖カルボニルと、ならびに Thr281 の側鎖と水素結合を作製する。13A9 及び MICA*008 の非極性相互作用は、ファンデルワールス相互作用及び形状相補性を含む。240 台ループ（残基 240～245）の開始、270 台ループ（残基 277～279）の終止、及び MICA*008 α 3 ドメインのカルボキシ末端ベータ鎖（残基 288～297）は、Ig ドメインの「前面」から突出し、それらの間に窪みを有する 2 つの隆起を作製する（図 33A～FIG. 33B）。13A9 は、その CDR の 6 つ全てを用いて結合し、隆起及び窪みに及ぶ（図 33C）。CDR L1 の Tyr32、CDR L3 の Tyr96、CDR H1 の Leu

20

30

40

50

33、CDR H2のAla56、ならびにCDR H3のPhe95及びAsn98は結合し、それらの側鎖がMICA*008 α 3ドメインの「前面」の認識のための相補的凸面を作製する窪みを指す（図33D～図33E）。CDR L1のHis30及びSer31、CDR L2のTyr50、CDR L3のTrp92及びThr94、CDR H1のAsn31及びTyr32、CDR H2のAsn52、Ser54、及びAsn58、ならびにCDR H3のLeu96などの残基の側鎖は、隆起に折り重なり、MICA*008と顕著なファンデルワールス相互作用を起こす（図33D～図33E）。
表13. 13A9のMICA*008のエピトープ残基及び対応するパラトープ残基

MICA*008 α 3 エピトープ残基	13A9 LC パラトープ残基	13A9 HC パラトープ残基
Arg240		Asn31、Tyr32、Leu33、Asn52
Asp242		Tyr32、Leu96、Gly97
Gly243		Asn31、Tyr32、Phe95、Leu96、Gly97
Val244		Asn31、Tyr32
Glu277	Tyr32	
Gln278	His30、Ser31、Tyr32、 Tyr50	Gly97、Asn98
Arg279	Tyr50	Gly97、Asn98
Phe280		Asn98
Thr281		Phe95、Asn98
Tyr283		Leu33、Asn52、Ser54、Ala56、
Glu285		Asn52、Ser54、Ala56
Gly288		Ala56、Thr57
Asn289		Ala56、Thr57
His290		Leu33、Ala50、Ile51、Asn52、Ala56、 Thr57、Asn58
Ser291		Asn58
Thr292	Thr94、Tyr96	Leu33、Asn58
Pro294	Tyr32、Phe91、Trp92	Asn98
Val295	Tyr32、Trp92	
Pro296	His30、Trp92	
Ser297	His30	

注記：13A9エピトープは、13A9 Fabの4.5 Å以内のMICA*008 α 3ドメイン残基として定義された。13A9パラトープは、MICA*008 α 3ドメインの4.5 Å以内の13A9残基として定義された。距離は、CCP4において接触/NC-ONTで計算された。

【0464】

6E1. 1. 12 Fab-MICA*008 C273S α 3ドメイン複合体の構造分析

MICA*008 C273S α 3ドメインを有する複合体内の6E1. 1. 12 Fabの構造は、6E1. 1. 12が、アミノ末端ベータ鎖を含有するIgドメインのベータシートとして定義される、 α 3ドメインの「背面」に結合することを明らかにする（

図 3 4 A～図 3 4 D)。約 $1416 \text{ \AA}^2$ の表面積は、6 E 1. 1. 1 2 F a b と M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインとの界面で埋没し、そのうちの $1046 \text{ \AA}^2$ は H C との接触からのものであり、 $370 \text{ \AA}^2$ は L C からのものである。6 つの C D R のうちの 5 つからの残基は M I C A * 0 0 8 と相互作用し、最多数の接触は C D R H 3 からののものであり、続いては C D R L 1 及び H 2 からののものであり、C D R L 3 からの接触はない（図 3 5 A～図 3 5 B）。6 E 1. 1. 1 2 のエピトープは、複合体の構造において 6 E 1. 1. 1 2 F a b の 4. 5 $\text{\AA}$ 以内の M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインの残基として定義される（表 1 4 及び図 3 6 A～図 3 6 D）。同様に、6 E 1. 1. 1 2 のパラトープは、M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインの 4. 5 $\text{\AA}$ 以内の 6 E 1. 1. 1 2 F a b の残基として定義される（表 1 4 及び図 3 6 A～図 3 6 D）。

表 1 4. 6 E 1. 1. 1 2 の M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S のエピトープ残基及び対応するパラトープ残基

MICA*008 α 3 エピトープ残基	6E1. 1. 12 LC パラトープ残 基	6E1. 1. 12 HC パラトープ残基
Thr224		Tyr98
Arg226		Asp31、Tyr98
Arg233	Ser27E、Asn28	
Trp253		Ser100A
Gly254		Tyr97、Ser100A
Asp255	Asn28、Asn30、Tyr32、Lys50	Tyr97、Ser100A、Gly100B
Val256	Asn28	
Leu257	His27D、Asn28、Tyr32	Tyr33、His95、Tyr97、Trp100D
Pro258		Tyr33、Trp50
Asp259		Trp50、Tyr52、Thr54、Gly56
Gly260		Trp50、Gly56、Ser57
Asn261		Thr54、Gly56
Gln265		Tyr33、Tyr52、Tyr97
Thr266		Tyr97
Trp267		Tyr97、Tyr98、Ser100A

注記：6 E 1. 1. 1 2 エピトープは、6 E 1. 1. 1 2 F a b の 4. 5 $\text{\AA}$ 以内の M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインとして定義された。6 E 1. 1. 1 2 パラトープは、M I C A * 0 0 8 C 2 7 3 S α 3 ドメインの 4. 5 $\text{\AA}$ 以内の 6 E 1. 1. 1 2 残基として定義された。距離は、C C P 4 において接触／N C O N T で計算された。

【0465】

6 E 1. 1. 1 2 は、極性及び非極性の両方の相互作用の組み合わせを用いて M I C A * 0 0 8 α 3 ドメインと相互作用する。観察される極性相互作用は、水素結合、塩橋、パイカチオン相互作用、及び静電相互作用を含む（図 3 7 A～図 3 7 C、図 3 8 A～図 3 8 B）。L C 及び H C の両方からの残基は、M I C A * 0 0 8 と水素結合を形成する。C D R L 1 における 2 つの残基は、M I C A * 0 0 8 と水素結合を作製する。A s n 2 8 の側鎖は、M I C A * 0 0 8 の V a l 2 5 6 の主鎖カルボニルと水素結合を形成し、T y r 3 2 の側鎖は、M I C A * 0 0 8 の A s p 2 5 5 の側鎖と水素結合を作製する（図 3 7 A）。C D R L 2 の正荷電 L y s 5 0 は、M I C A * 0 0 8 の負荷電 A s p 2 5 5 と塩橋を形成する（図 3 7 A）。C D R H 1 の負荷電 A s p 3 1 は、M I C A * 0 0 8 の正荷電 A r g 2 2 6 と塩橋を形成する（図 3 7 B）。C D R H 1 の T y r 3 3 の側鎖は、

MICA*008のGln265の側鎖と、及びPro258の主鎖カルボニルと水素結合を形成する(図37B)。Thr54の側鎖は、Asp259の主鎖カルボニルと水素結合を作製する(図37B)。CDRH3のTyr97は、3つの水素結合を作製する。Tyr97の主鎖カルボニルは、MICA*008のTrp267と水素結合を形成し、Tyr97の側鎖は、MICA*008のAsp255及びGln265の主鎖カルボニルと2つの水素結合を形成する(図37C)。CDRH3のSer100Aの側鎖も、Asp255の主鎖アミドと水素結合を形成する。最終的に、Tyr98は、MICA*008のArg226とパイカチオン相互作用を形成する(図37C)。観察される非極性相互作用は、ファンデルワールス相互作用及び形状相補性を含む。6E1.1.12のCDRL1は、残基27(残基27A~27E)後に5アミノ酸挿入を有し、ほとんどの抗体において典型的に見られるものよりもかなり長いL1ループを作製する。これは、CDRL1とCDRH3との間に溝を作製する、6E1.1.12の全ての他のCDRよりもさらに突出するCDRL1をもたらす(図39A~図39B)。より長いCDRL1は、ペプチド抗原に結合する抗体において見られることが多く、ペプチドはCDRL1及びH3によって作製される裂片において結合する。MICA*008の250台ループ(残基254~260)は、 α 3ドメインの「背面」にわたる隆起を作製する(図39C~図39D)。250台ループは、ペプチド抗原を模倣する6E1.1.12のCDRL1とCDRH3との間の溝において結合する(図39E~図39F)。特にAsp255及びLeu257の側鎖は、裂片を指し、CDRL1及びH3の両方からの残基と相互作用する。Leu257は、LCからの残基His27D、Asn28、Tyr32、及びHCからのTyr33、His95、Tyr97、Trp100Dによって形成された疎水性ポケットにおいて結合する(図39G)。このポケットは、芳香族残基で重度に裏打ちされている。Asp255はLCの残基Asn28、Asn30、Tyr32、Lys50、及びHCのTyr97、Ser100A、Gly100Bによって形成されたポケットに結合し(図39H)、Tyr32との水素結合、及びLCのLys50との塩橋を形成する(図37A)。

10

20

30

40

【0466】

1D5 Fab-MICA*008 α 3ドメイン、13A9 Fab-MICA*008 α 3ドメイン、及び6E1.1.12 Fab-MICA*008 C273S α 3ドメイン複合体構造の比較

1D5及び13A9の両方は、カルボキシ末端ベータ鎖を含有するIgドメインのベータシートとして定義される、MICA*008の「前面」に結合する一方で、6E1.1.12は、アミノ末端ベータ鎖を含有するIgドメインのベータシートとして定義される、MICA*008の「背面」に結合する(図40A)。1D5及び13A9の(それらの各Fabの4.5Å以内の残基として定義される)エピトープの比較は、それらが部分的に重複するエピトープを有することを明らかにした(図40B~図40C)。文献(Cancer Res(2008);68:6368及びBBRC(2009);387:476)において報告されたMICA切断部位の分析は、 α 3ドメイン中の全ての切断部位がドメインの「前面」にマッピングしたことを明らかにした(図41A)。報告された切断部位での結晶構造解析によって定義されたエピトープの比較は、1D5及び13A9エピトープが α 3ドメインの「前面」上に排他的に見られるこれらの切断部位と重複したことを示した(図41B)。MICA α 3ドメインへの1D5または13A9の結合は、立体障害を作製し、MICAの切断に必要なプロテアーゼの接触をブロックし得る。対照的に、6E1.1.12は、MICAの「背面」上で任意の報告された切断部位から離れて結合した(図41B)。エピトープを定義することは、1D5及び13A9がMICA*008切断及びシェディングの強力な遮断剤である一方で、6E1.1.12が切断及びシェディングの比較的弱い遮断剤である理由を説明するのに役立つ。

【0467】

タンパク質の高速光化学酸化(FPOP)によるMicA酸化フットプリント法

MICA*008上の1D5 Fabのエピトープを、タンパク質の高速光化学酸化(

50

FPOP)を用いる酸化フットプリント法によってマッピングした。1D5 Fabを発現させ、結晶構造解析について上述のように精製した。MICA*008α3ドメイン(残基Thr204-Ser297)を、CHO DP12細胞においてC末端His8タグとともに発現させた。CHO DP12細胞株は、大規模生産のために選択されたCHO-K1細胞株(ATCC番号CCL-61)の誘導体である。MICA*008α3ドメイン発現プラスミドを、以前に記載されたPEIを用いて一時的にトランスフェクトした(Wong, A. W. et al. (2010) Biotechnol Bioeng 106:751-763)。トランスフェクションの14日後に上清を採取し、分泌したMICA*008α3ドメインを結晶構造解析について上述のようにNi Sepharose Excel (GE Healthcare) カラム、続いてHiLoad Superdex 75 pgカラム (GE Healthcare) で精製した。 10

【0468】

1. 5:1モル比の1D5 Fab対MICA*008α3ドメイン抗原を、2.35 mg/mLの総タンパク質濃度を有するPBS中で調製した。溶液を37℃で30分間インキュベートした。サイズ排除クロマトグラフィーを行って、完全な複合体の形成を確保した。未結合MICA*008α3ドメイン抗原について、2.35 mg/mL溶液を1 mLのPBS中で調製した。捕捉剤アルギニンを30 mMの最終濃度でタンパク質溶液に添加した。未結合MICA*008α3ドメインまたはMICA*008α3ドメイン:1D5 Fab複合体を30 mMの過酸化水素と流動混合し、以前に記載されたタンパク質の高速光化学酸化(FPOP)方法を用いて標識を行った(Zhang, Y., et al. (2015) J Am Soc Mass Spectrom 26:526-529, Zhang, Y., et al. (2017) J Am Soc Mass Spectrom 28:850-858, Li, J. et al. (2017) Anal Chem 89:2250-2258)。簡潔には、露光前の高速混合のために、15 μL/分のMICA溶液を30 mMのH₂O₂と7.5 μL/分の割合でマイクロティーマキサー(Covert Associates Lab, St. Louis, MO)によって混合した。集束された248 nmのKrFエキシマレーザー(GAM Laser Inc., Orlando, FL)を内径150 μmの溶融シリカ管(Polymeric Technologies, Phoenix, AZ)の3.0 mmの露光窓を通して7 Hzの速度で70 mJ/パルスでパルスすることによって酸化反応を開始した。酸化試料を、メチオニン(Sigma Aldrich)及びカタラーゼ(Sigma Aldrich)をそれぞれ40 mM及び1 μMの最終濃度で含むクエンチ溶液を含有するチューブ中に収集した。タンパク質分解及び質量分析の前に試料を-80℃で凍結及び保存した。バックグラウンド酸化を考慮するために、非曝露試料を得、各タンパク質状態について3つの酸化複製物と比較した。FPOP実験のための試料収集の順序及び継続時間を表15に示す。 20 30

表15. 三重反復試料標識の時間表

開始時間 (分)	終了時間 (分)	継続時間 (分)	作用	レーザーステータス	収集
0	2	2	ポンプ開始(レーザーオフ)	オフ	廃棄物
2	8	6	対照(レーザーなし)	オフ	収集バイアル
8	10	2	レーザーオン	オン	廃棄物
10	16	6	試料1収集	オン	収集バイアル
16	22	6	試料2収集	オン	収集バイアル
22	28	6	試料3収集	オン	収集バイアル
28	終了		ラン終了	オフ	廃棄物
			キャピラリー位置変更	オフ	廃棄物

【0469】

解凍後、試料を還元し、PNGアーゼFで脱グリコシル化し、ヨードアセトアミドでアルキル化し、次いでSDS-PAGEで分離した(図42)。MICA*008α3ドメインの分子量に対応する15kDa領域のバンドを、非曝露及び曝露両方の、MICA*008α3ドメイン単独及びMICA*008:1D5 Fab複合体試料から切り取った。試料を1:500酵素:基質比のトリプシン及びキモトリプシンで消化した。消化物をC18ステージチップ浄化し、乾燥させ、100μLの2%アセトニトリルを含有する0.1%ギ酸で再構成した。1μLをオートサンプラーによって、75μm×100mmカラム(BEH、1.7ミクロン、Waters Corp)に1μL/分の流量でNanoAcquity UPLC(Waters Corp)を用いて注入した。98%溶媒A(水+0.1%ギ酸)から80%溶媒B(アセトニトリル+0.08%ギ酸)までの勾配を60分間適用した。試料をハイブリッドElite Orbitrap質量分析計(Thermo Fisher Scientific)へのナノスプレーイオン化によってオンラインで分析した。得られたスペクトルを、使用されたMICA*008α3ドメイン構成体のタンパク質配列の理論的なトリプシン及びキモトリプシン消化物に対して調査した。各トリプシンペプチドの修飾されていない酸化種を断片化スペクトルから特定した。システイン、トリプトファン、チロシン、メチオニン、フェニルアラニン、ヒスチジン、アルギニン、ロイシン、及びイソロイシンの酸化を、所与のペプチドの一致する修飾イオン対総発生の曲線下の面積を測定することによって定量化した。複合体及び未結合MICA*008α3ドメインの両方の酸化事象を次いでMICA*008α3ドメインの配列上にマッピングした。保護の領域を、2つの値の間に顕著な変化を有するものとして観察した。三重反復試料を最終酸化パーセントについて平均し、エラーバーは3つの測定標準偏差を表す。

【0470】

残基Asn234-Arg240を含有するMICA*008α3ドメイントリプシンペプチド内のTrp239について、ならびにMICA*008α3ドメインキモトリプシンペプチドVal268-Phe280内の残基Ile272及びPhe280について、酸化保護における顕著な変化が観察された(図43A~B、図44、図45)。

【0471】

グリコシル化操作、アラニンスキヤニング、FPOP、及びX線結晶構造解析からのエピトープマッピング結果の比較

グリコシル化操作、アラニンスキヤニング、FPOP、及びX線結晶構造解析によって決定された1D5エピトープの比較は、これらの方法の間で一貫した結果を明らかにする。

10

20

30

40

50

【0472】

1D5抗体は、グリコシル化バリエーションGlyco14 (G243N) またはGlyco16 (R279N) のいずれかを含有するMICA*008α3ドメインへの結合の完全な喪失を示すが、Glyco11 (R202N)、Glyco12 (E215N)、Glyco13 (I236T)、Glyco15 (H248N)、及びGlyco17 (残基N298、G299、S300のC末端付加) には影響されない。グリコシル化部位バリエーションの位置でX線結晶構造解析によって決定された1D5のエピトープの比較は、Glyco14 (G243N) 及びGlyco16 (R279N) が1D5エピトープの一部である一方で、Glyco11 (R202N)、Glyco12 (E215N)、Glyco13 (I236T)、Glyco15 (H248N)、及びGlyco17 (残基N298、G299、S300のカルボキシ末端付加) が1D5エピトープの範囲外であることを示す (図46A)。

10

【0473】

13A9抗体は、グリコシル化バリエーションGlyco14 (G243N) またはGlyco16 (R279N) のいずれかを含有するMICA*008α3ドメインへの結合の部分的な喪失を示すが、Glyco11 (R202N)、Glyco12 (E215N)、Glyco13 (I236T)、Glyco15 (H248N)、及びGlyco17 (残基N298、G299、S300のC末端付加) には影響されない。グリコシル化部位バリエーションの位置でX線結晶構造解析によって決定された13A9のエピトープの比較は、Glyco14 (G243N) 及びGlyco16 (R279N) が13A9エピトープの一部である一方で、Glyco11 (R202N)、Glyco12 (E215N)、Glyco13 (I236T)、Glyco15 (H248N)、及びGlyco17 (残基N298、G299、S300のカルボキシ末端付加) が13A9エピトープの範囲外であることを示す (図46A)。カルボキシ末端に付加された残基N298、G299、及びS300は結晶構造中に存在せず、したがってGlyco17は、図46Aにおいて、付加グリコシル化部位直前のカルボキシ末端残基S297を強調することによって示される。N298でのグリコシル化は、13A9の結合に影響を及ぼさない。

20

【0474】

6E1. 1. 12抗体は、試験されたグリコシル化バリエーション (Glyco11 (R202N)、Glyco12 (E215N)、Glyco13 (I236T)、Glyco14 (G243N)、Glyco15 (H248N)、Glyco16 (R279N)、またはGlyco17 (残基N298、G299、S300のカルボキシ末端付加)) のいずれかへの結合の喪失を示さなかった。グリコシル化部位バリエーションの位置でX線結晶構造解析によって決定された6E1. 1. 12のエピトープの比較は、全てのグリコシル化バリエーション (Glyco11 (R202N)、Glyco12 (E215N)、Glyco13 (I236T)、Glyco14 (G243N)、Glyco15 (H248N)、Glyco16 (R279N)、及びGlyco17 (残基N298、G299、S300のカルボキシ末端付加) が6E1. 1. 12エピトープの範囲外であることを示す (図46A)。

30

【0475】

グリコシル化学によって決定されたエピトープの全てが、X線結晶構造解析によって決定されたエピトープと一貫している。また、グリコシル化学は、1D5及び13A9のものなどのエピトープにおける微妙な相違を区別することができる。上記に示されるように、X線結晶構造分析は、1D5及び13A9が部分的に重複するエピトープを含有することを示す (図40A～図40C)。両方の抗体の結合は、Glyco14 (G243N) 及びGlyco16 (R279N) バリエーションによって、異なる程度にであるが、影響を受けた。1D5結合はGlyco14 (G243N) またはGlyco16 (R279N) バリエーションのいずれかによって完全に無効化されたが、13A9はこれらの2つのバリエーションのいずれかへの結合における部分的な喪失のみを示した。X線結晶構造の比較は、Glyco14 (G243N) 及びGlyco16 (R279N) バリエーションが1D

40

50

5 Fabとの結合界面の中心にある一方で、それらが13A9 Fabとの結合界面の周辺にあることを明らかにする(図46B)。MICA*008の243及び279位にあるグリコシル化は、1D5エピトープ/パラトープ相互作用の中心にかさ高い糖を導入し、結合を破壊するが、同じ糖は、13A9エピトープ/パラトープの側部にFabから離して曲げることによって潜在的に収容することができ、結合の部分的な喪失のみを引き起こす。

【0476】

FPOPによって決定された1D5のエピトープの、結晶構造によって決定されたエピトープに対する比較は、重複する結果を明らかにする(図46C)。FPOPエピトープは、MICA*008α3ドメインへの1D5 Fabの結合によってトリプシンペプチドAsn234-Arg240における残基Trp239及びキモトリプシンペプチドVal268-Phe280におけるPhe280に与えられた酸化保護によって定義された。これらの2つのFPOPペプチドには、共結晶構造からの1D5エピトープの一部として定義される残基Arg279及びArg240が含まれる(表10及び図24A~図24D)。

10

【0477】

アラニンスキャニングによって決定された1D5のエピトープの、結晶構造によって決定されたエピトープに対する比較も、高度に重複する結果を明らかにする(図46C)。アラニンスキャニングによって1D5エピトープの一部として特定された残基Arg240、Gln241、Val244、Ser245、Asp249、Thr250、Arg279、Tyr283、His290、及びThr292を、結晶構造におけるエピトープの一部としても特定した。残基Asp242、Gly243、及びLeu246は結晶構造によって決定された1D5エピトープの一部であるが、それらはアラニンスキャニングにおいて試験することができなかった。これらの残基は、アラニンに変異される場合、(「背面」上の)MICA*008α3ドメインの反対面に結合することが知られる抗体によるこれらの変異体への結合の欠如によって推論されるように、誤って折り畳まれたタンパク質をもたらした。結晶構造によってエピトープの一部として特定された3つの残基、Ser247、Ser291、及びPro294のみが、アラニンスキャニングによって決定されたエピトープの一部ではなかった。これらの残基の全ては、結晶構造においてエピトープの周辺にある(図24A~図24D)。4つの追加の残基、His248、Glu276、Glu285、及びSer287が、結晶構造によって決定されたエピトープにおいて見られなかったアラニンスキャニングによる1D5エピトープの一部として特定された。これらの残基は全て、共結晶構造において決定されるエピトープの周辺に沿って見られる(図46C)。

20

30

【0478】

結晶構造解析は2つのタンパク質間の結合界面についての非常に高い分解能の配列情報を提供するのでエピトープ決定の黄金律であるが、これは非常に労働集約的かつ低スループットである。アラニンスキャニングは、個別の残基のレベルで結合分解能も提供しながら、多くの個別のアラニン点変異体を発現、精製、及び特徴付けしなければならないので、結晶構造解析よりも労働集約度がわずかに低いのみである。FPOPは、依然としてより高スループットであるが、結合残基が線状ペプチド内で特定され、ペプチド断片が一次アミノ酸配列におけるプロテアーゼ切断部位の存在または非存在によって決定されるという事実によって配列分解能が損なわれる。加えて、全てのアミノ酸が等しく酸化を受けやすいわけではなく、側鎖が主鎖ペプチド骨格よりもより受けやすい。したがって、エピトープ中の全ての接触残基が、結晶構造でそうであるとおりにFPOPによって特定されるわけではない。

40

【0479】

抗体のペアワイズ併用の相互ブロッキング試験は、エピトープマッピングの最高スループット方法であるが、低分解能配列情報に悩まされる。グリコシル化学は、相互ブロッキングまたはFPOPなどの方法の高スループットとアラニンスキャニング及び結晶構造

50

解析の高分解能配列情報とを組み合わせる。グリコシル化学は、抗体の大パネルのエピトープを個別の残基レベルの分解能でマッピングする高速高スループット方法を提供する。

【0480】

1D5及び13A9エピトープと前述のエピトープとの比較

シェディングをブロックする前述の抗MICA/Bエピトープの全ては、アミノ末端ベータ鎖を含有するIgドメインのベータシートとして定義されるMICA/Bの「背面」をマッピングする。これらには、Dana FarberのCM33322 Ab4、CM33322 Ab28、及びCM33322 Ab29、Innate Pharmaの16A8、ならびにUniversity of WashingtonのH9抗MICA/B抗体が含まれる（図47A～図47B）。これは、カルボキシ末端ベータ鎖を含有するIgドメインのベータシートとして定義されるMICA/Bの「前面」にマッピングする1D5及び13A9エピトープとは対照的である（図47A～図47B）。

10

【0481】

実施例11：Biacore抗MICA/Bヒト化バリエーション動態

1D5、13A9、及び15F11抗MICA/B抗体のヒト化バリエーションの結合動態を、Biacore 8K機器（GE Healthcare）で表面プラズモン共鳴（SPR）を用いて測定した。タンパク質Aセンサチップ（GE Healthcare）を製造業者が提供するプロトコルに従って使用し、ヒト化抗MICA/B抗体を捕捉した。MICA/B対立遺伝子は除外した。ヒトMICA 002、004、008、及びMICB 005アルファ3ドメイン（Hisタグ付き、インハウス）への抗体結合を測定した。MICA/Bの結合のセンサグラムは、注入時間2分、流速30ml/分、25℃の温度で、10mMのHEPES、pH7.4、150mMのNaCl、3mMのEDTA、及び0.005% Tween 20のランニングバッファを用いて記録した。注入後、抗体からのアルファ3ドメインの解離をランニングバッファ中で10分間監視した。結合サイクル間に、10mMグリシン-HCl pH1.5を60ul注入して表面を再生させた。ランニングバッファのみを含有していたブランクを差し引いた後、抗MICA/B抗体へのMICA結合について観察されたセンサグラムを、製造業者によって供給されたソフトウェアで1:1ラングミュア結合モデルを使用して分析して、動態及び結合定数を計算した。1:1結合モデルを使用してデータを分析した。捕捉された抗MICA抗体へのMICA対立遺伝子結合のセンサグラムを使用して、解離定数（Kd）を計算した。これらのデータからの動力学定数を表16に提供する。

20

30

表16：そのリガンドへの抗MICA抗体結合の動力学定数

クローン	huMICA*002 アル ファ 3-his	huMICA*004 アル ファ 3-his	huMICA * 008 アルファ 3- his	huMICB*005 アル ファ 3-his
	Kd (nM)	Kd (nM)	Kd (nM)	Kd (nM)
1D5	0. 83	0. 63	0. 61	0. 95
1D5v1	1. 4	1. 17	0. 96	1. 96
1D5v2	1. 69	1. 34	0. 89	2. 69
1D5v3	1. 21	0. 96	0. 85	1. 78
1D5v4	6. 63	6. 20	7. 45	16. 19
1D5v5	2. 59	2. 13	1. 64	3. 99
1D5v6	3. 69	2. 91	2. 61	6. 15
1D5v7	2. 21	1. 67	1. 70	3. 31
1D5v8	11. 33	9. 41	9. 08	18. 82
1D5v9	1. 31	0. 95	0. 87	1. 51
1D5v10	1. 44	1. 08	1. 05	1. 98
1D5v11	1. 09	0. 83	0. 78	1. 38
1D5v12	4. 64	3. 91	3. 66	9. 16
1D5v13	1. 20	0. 91	0. 85	1. 48
1D5v14	1. 62	1. 23	1. 16	2. 14
1D5v15	1. 06	0. 81	0. 76	1. 26
1D5v16	4. 09	3. 42	3. 21	8. 37
1D5v17	0. 91	0. 68	0. 64	1. 01
1D5v18	1. 04	0. 79	0. 75	1. 41
1D5v19	1. 16	0. 88	0. 83	1. 51
1D5v20	1. 14	0. 88	0. 83	1. 57

10

20

30

40

クローン	huMICA*002 アル ファ 3-his	huMICA*004 アル ファ 3-his	huMICA * 008 アルファ 3- his	huMICB*005 アル ファ 3-his
	Kd (nM)	Kd (nM)	Kd (nM)	Kd (nM)
1D5v21	1. 35	1. 08	0. 99	1. 98
1D5v22	6. 46	5. 45	4. 98	13. 25
1D5v23	1. 11	0. 90	0. 58	1. 65
1D5v24	1. 21	0. 90	1. 41	1. 62
1D5v25	1. 22	0. 96	0. 93	1. 84
1D5v26	3. 90	3. 17	3. 12	7. 15
1D5v27	1. 85	1. 52	1. 44	3. 31
1D5v28	1. 19	0. 87	0. 84	1. 49
1D5v29	2. 01	1. 58	1. 65	3. 86
13A9	4. 82	6. 77	2. 35	2. 35
13A9v1	5. 87	8. 37	5. 60	5. 12
13A9v2	4. 44	5. 32	2. 56	3. 15
13A9v3	4. 97	4. 79	3. 85	3. 15
13A9v4	3. 93	3. 69	2. 72	2. 40
13A9v5	4. 27	5. 52	3. 68	3. 17
13A9v6	3. 94	3. 77	2. 80	2. 45
15F11	2. 21	1. 31	0. 79	2. 28
15F11v1	12. 80	5. 96	6. 52	16. 10
15F11v2	5. 05	2. 74	3. 17	6. 71
15F11v3	12. 74	5. 70	5. 56	14. 10
15F11v4	4. 75	2. 58	2. 58	5. 72
15F11v5	6. 05	3. 11	3. 20	7. 80

10

20

30

40

クローン	huMICA*002 アルファ 3-his	huMICA*004 アルファ 3-his	huMICA * 008 アルファ 3-his	huMICB*005 アルファ 3-his
	Kd (nM)	Kd (nM)	Kd (nM)	Kd (nM)
15F11v6	5. 47	2. 91	2. 94	6. 62
6E1. 1. 12	1. 49	3. 95	3. 72	2. 96

10

【0482】

実施例12：インビボ腫瘍モデルにおけるMIC-NKG2D経路の抗アルファ3MIC A/B抗体調節

この実施例は、インビトロ及びインビボアッセイにおける抗MIC（1D5抗体）調節の効果を記載する。

【0483】

序論

MICA（MHCクラスI鎖関連遺伝子A）発現は細胞ストレスに応じて誘導され、腫瘍細胞において、MICAはDNA損傷によって誘導される。MICAは、CD8+ T及びNK細胞上の活性化受容体NKG2Dに結合する。NKG2D係合は、次いでNK細胞における細胞溶解活性を誘導し、CD8+ T細胞を共刺激する。腫瘍細胞は細胞表面MICAを切断し、低減した表面MIC発現はNKG2D媒介性腫瘍細胞殺滅を弱める。MICAのシェディングは、腫瘍細胞へのNKG2D媒介性結合に干渉し得る。抗MIC抗体の作用機序について提案された仮説は、抗MIC抗体がシェディングを防止し、細胞傷害性細胞による表面発現及び認識を増加するということである。

20

【0484】

結果

実施例8に記載されるように、様々な細胞株：MEL-JUSO、HCC1534、及びPANC-1を使用して細胞シェディングアッセイを行った。細胞を37℃で抗MIC 1D5抗体を含有する培地において24時間インキュベートした。その後、細胞上清を採取し、（必要に応じて）希釈し、適切なELISAフォーマット（MICAまたはMICB）において分析し、対応するMIC ECD材料を使用して定量化した。式： $1 - ([sMIC]_{ab-処置細胞} / [sMIC]_{未処置細胞})$ を使用してシェディング阻害パーセントを計算し、式中、sMICは可溶性MICAまたは可溶性MICBを表した。これらのデータからEC50も決定した。表17は、各細胞シェディングアッセイについての抗体親和性、IC50、及び最大阻害パーセントを示す。

30

表17：抗体1D5の切断阻害活性

1D5	MICA*008	MICB*005	MICA*002	MICA*004
	MEL-JUS0 細胞シェディング グアッセイ	HCC1534 細胞 シェディング グアッセイ	PANC-1 細胞 シェディング グアッセイ	HCC1534 細胞 シェディング グアッセイ
親和性 (nM)	0. 54	2. 28	0. 82	0. 56
IC50 (mg/mL)	0. 008234	0. 0293	0. 02906	0. 0247
最大阻害	81%	52%	53%	70%

10

【0485】

次に、NK G2D-Fc、抗Fc抗体、及び抗MIC抗体を使用してMIC-NK G2D相互作用を評価した。図48に示されるように、ブロッキング抗体8C5はNK G2D結合を用量依存的様式で破壊する一方で、1D5抗体はMIC-NK G2D相互作用に干渉しなかった。

【0486】

MICA*008α3ドメインに結合した1D5 Fabの結晶構造は、1D5がC末端ベータ鎖を含有するα3ドメインの「前面」に結合することを示した（図49A）。加えて、1D5のエピトープは、Fabの4. 5 Å以内のMICA残基として定義され、報告された切断部位は、MICA*008アルファα3ドメインの「前面」の表面上で特定された（図49B）。まとめると、これらの所見は、1D5エピトープ及びMICA切断部位の1D5 Fab-MICA*008α3ドメイン複合体における重複を示す。

20

【0487】

BALB/c SCIDマウスにおけるHCC1534細胞から増殖させた異種移植腫瘍モデルにおける1D5処置の抗腫瘍効果を次いで分析した。図50Aに示されるように、各マウス（n=10マウス/処置群）における腫瘍接種に1千万個のHCC1534細胞を使用した。抗MIC 1D5 IgG2a、抗MIC 1D5 IgG1、または抗gp120（対照）を次いでTIWで4週間にわたって各群に投与した。その後、PK試験料を7日毎に21日間回収した。カリパス測定による腫瘍体積は、1D5 IgG1ではなく、抗MIC 1D5 IgG2a処置で予防有効性を示し、抗体エフェクター機能が必要であることを示した。（図50B）。腫瘍を接種後7日目にも採取し、処理し、FACS分析のために抗体で染色し、HCC1534腫瘍成長阻害がNK細胞数の増加（図50C）及びグランザイムB発現（図50D）と関連付けられることを示した。

30

【0488】

次に、ドキシサイクリン（dox）誘導後にMICA（B16-MICA002）を発現するように操作された 1×10^4 個のB16細胞を、ウェルあたり1 µg/mLのdox及び5 µg/mLの抗体とともに24時間にわたって播種した。細胞を次いで採取し、MICA表面発現について染色した。1D5処置は、B16-MICA002におけるMIC表面発現をdox依存的様式で安定化することが見出された（図51A）。B16-MICA002細胞から増殖させた異種移植腫瘍モデルにおける1D5処置の抗腫瘍効果を次いで分析した。図51Bに示されるように、カリパス測定による腫瘍体積は、単剤として投与された場合に抗MIC 1D5 IgG2a処置及び抗PD-L1での控えめな予防有効性を示した。しかしながら、抗PD-L1及び抗MIC 1D5 IgG2aの両方が投与された群においてロバストな相加効果が観察された。腫瘍成長は、抗MIC 1D5 IgG1での処置による影響を受けず、ADCCが重要な機序であり得ることを示した。

40

【0489】

結論

50

抗M I C抗体、1 D 5は、インビトロで切断障害を示し、複数の対立遺伝子に対する広範囲の活性を例証し、M I C－N K G 2 D相互作用に干渉しなかった。加えて、1 D 5－M I C A＊0 0 8複合体の結晶構造は、1 D 5エピトープとM I C A切断部位との重複を明らかにした。

【0 4 9 0】

抗腫瘍有効性は、マウス異種移植モデル、H C C 1 5 3 4における1 D 5の予防的抗体投薬で観察され、N K細胞の数の増加及びN K細胞におけるグランザイムB発現の増加と関連付けられた。

【0 4 9 1】

最後に、B 1 6．F 1 0 M I C A 0 0 2誘導性過剰発現モデルにおいて、1 D 5は、10
単剤効果及び抗P D L 1と組み合わせられた場合のロバストな相加効果の両方を有した。

【0 4 9 2】

実施例1 3：異なるマッピング方法を使用するエピトープの比較

この実施例は、表1 8に示される様々なエピトープマッピング方法を使用して抗M I C抗体1 D 5、1 3 A 9、及び6 E 1．1．1 2について決定されたエピトープをまとめる。

表1 8：エピトープ比較。

抗体	糖鎖改変	アラニンス キャンニング	X 線結晶構造解 析	FPOP
1D5	G243: R240, Q241, D242, V244, S245, R279, T281; R279: R240, Q241, D242, G243, E276, E277, N278, T281	R240、Q241、 V244、S245、 H248、D249、 T250、E276、 R279、Y283、 E285、S287、 H290、T292	R240、Q241、 D242、G243、 V244、S245、 L246、S247、 D249、T250、 R279、Y283、 H290、S291、 T292、P294	N234、I235、 I236、L237、 T238、W239、 R240、 V268、A269、 T270、R271、 I272、C273、 R274、G275、 E276、E277、 Q278、R279、 F280
13A9	「背部&上部」: V205、 P206、M208、T212、G219、 T222、T224、R226、S228、 Y231、P232、Q241、D242、 G243、T250、D255—G262、 Y264、Q265、W267、R271、 G275、E277、R279、G288、 N289、H290	N. D.	R240、D242、 G243、V244、 E277、Q278、 R279、F280、 T281、Y283、 E285、G288、 N289、H290、 S291、T292、 P294、V295、 P296、S297	N. D.
6E1. 1. 12	「背部及び上部」: V205、 P206、M208、T212、G219、 T222、T224、R226、S228、 Y231、P232、Q241、D242、 T250、D255—G262、Y264、 Q265、W267、R271、G275、 E277、G288、N289、H290	N. D.	T224、R226、 R233、W253、 G254、D255、 V256、L257、 P258、D259、 G260、N261、 Q265、T266、W267	N. D.
15F11	G243: R240, Q241, D242, V244, S245, R279, T281; R279: R240, Q241, D242, G243, E276, E277, N278, T281	N. D.	N. D.	N. D.
18G3	G243: R240, Q241, D242, V244, S245, R279, T281	N. D.	N. D.	N. D.

10

20

30

40

12H10	G243: R240, Q241, D242, V244, S245, R279, T281	N. D.	N. D.	N. D.
-------	--	-------	-------	-------

注記：N. D. = 未決定。

【0493】

実施例14：抗MICA／Bヒト化バリエーションを使用するMICAシェディング阻害及び干渉

この実施例は、HEK293及びCHO細胞株におけるMICAシェディング阻害及び干渉についてのヒト化抗MIC抗体の試験を記載する。 10

【0494】

結果

バリエーション試料について、残留可溶性MIC（sMICBよりも多量のsMICA）を含有するhIgG2a HEK293由来材料を使用した。この干渉は、試料におけるsMICの過回復を引き起こし、見かけシェディング阻害の低下をもたらした（表19）。sMICは抗体で共希釈され、したがって、より少ない抗体がより少ない干渉を示した。抗体の変動する濃度のために、試料中のsMICの量は各抗体で変動した。干渉を複雑にして、精製方法にかかわらず観察された抗体干渉のためにsMICの人工的な回復不足があり得る（CHO対HEK293）。結果として、報告されたデータは、阻害及び干渉の両方について、0.625ug/mLのMICA試料及びMICBについて2.5ug/mLからのものであり、これらのそれぞれの濃度で、多くの試料は正のsMIC関連干渉の大部分を薄めたが、抗体効果は依然として観察された。観察された抗体効果は最大限の潜在的な阻害を反映しない場合があり得ることに留意すべきである。 20

【0495】

以前のデータは、HCC1534（MICA*004及びMICB*005）上で抗体からのいくつかの負のシグナル干渉があり、MEL-JUSO（MICA*008）上ではかなり小さかったことを示した。これらの2つの種類の相反するシグナル干渉のために、HCC1534 MICA*004上のいくつかの正のシグナル（MIC）及び負のシグナル（Ab）干渉、MEL-JUSO MICA*008上の主に正のシグナル（MIC）干渉、ならびにHCC1534 MICB*005上の主に負のシグナル（Ab）干渉が予想された。対照抗体について、mIgG2a CHO由来材料を使用し、よって、観察された唯一の顕著な干渉は負であり、場合によっては生物学的活性の真のレベルよりも有力な結果をもたらした。アッセイばらつきのために、sMICの絶対量は、阻害及び干渉アッセイ間で変動し得た。 30

【0496】

次の抗体：1D5v2、1D5v15、1D5v28、13A9v1、及び15F11v1において不十分な試料があった。したがって、以前の抗体調製物を使用した。オートメーションエラーのために、前述の試料の精度を保証することができなかった。1D5v14は再希釈することができたが、新たな試料調製物は濃度が意図されたものよりもわずかに低かった。1D5v14の元のかつ場合によっては不正確な試料希釈液も分析した（表19）。 40

【0497】

いくつかの干渉試料、特にHCC1534 A004：13A9v1、MEL-JUSO A008：1D5v10、及び13A9v1、ならびにHCC1534 B005：1D5v3、1D5v22、及び15F11v3が、ワッシャーピンの詰まりによりアッセイプレート上のウェルが冷えたために欠損していた。よって、これらの条件の各々について結果を決定することができなかったので、「ND」値を割り当てた（表19）。

【0498】

表20に示されるように、完全カットオフを、適切なプレート上の非処置試料の全ての 50

標準偏差を3倍することによって決定される阻害パーセント(%)として定義した。平均を、3つのアッセイプレートを使用して決定した。

【0499】

HCC1534細胞におけるMICA*004シェディング阻害

全ての1D5バリエントは(易感染性であり得る1D5v28を除き)、いくつかの分散、及び小さな干渉のみとともに、非バリエント抗体(約50~60%)とほぼ同等の阻害活性を示した(表19)。一般に、13A9バリエントは、最小限の阻害を示した。15F11バリエントは、活性をマスキングしたであろう顕著な正のsMIC干渉を示した潜在的に易感染性の試料15F11v1、ならびに15F11v4及び15F11v6を除き、非バリエント抗体(約50%)とほぼ同様の活性を示した。

10

【0500】

MEL-JUSO細胞におけるMICA*008シェディング阻害

MEL-JUSOは、典型的には、CHO試料での非常にわずかな抗体干渉を示した。よって、ほとんどの干渉はこれらの試料中のsMICに起因すると予想され、実際にsMIC増加効果は他の細胞株よりも大きい。

【0501】

全ての1D5バリエントは、易感染性であり得る1D5v28を除き、いくつかの分散とともに、かつ(HEK293材料対他の細胞株及び対立遺伝子からのかなり大きなsMIC干渉があるが)抗体阻害干渉がほとんどなく、非バリエント抗体(約60~70%)とほぼ同等の阻害活性を示した(表19)。一般に、13A9バリエントは、阻害をほとんど~全く示さなかった。15F11バリエントは、活性をマスキングしたであろう顕著な正のsMIC干渉を示した潜在的に易感染性の試料15F11v1、ならびに15F11v4及び15F11v6を除き、非バリエント抗体(約60%)とほぼ同様の活性を示した。

20

【0502】

HCC1534細胞におけるMICB*005シェディング阻害

干渉プレートの予想よりも大きいばらつきのために、完全カットオフは、阻害カットオフよりも高かった。全ての1D5バリエントは(易感染性であり得る1D5v28を除き)、そのアッセイの予想よりも大きいばらつきに起因する可能性が高い、いくつかの分散、及び変動する負のシグナル(Ab)干渉の程度とともに、非バリエント抗体(約60%)よりも約10%低い、いくつかの阻害活性(約40~50%)を示した(表19)。一般に、13A9バリエントは、おそらく易感染性であった13A9v1を除き、非バリエント13A9とほぼ同等の顕著な阻害を示した。15F11バリエントは、活性をマスキングしたであろう顕著な正のsMIC干渉を示した潜在的に易感染性の試料15F11v1、ならびに15F11v4及び15F11v6を除き、非バリエント抗体及び1D5(約40%)とほぼ同様の活性を示した。

30

表19: 干渉による阻害及び低減パーセント

クローン	細胞株	Fc	濃度 (mg/ml)	モノマー%	HCC1534 (MICA*004)		MEL-JUSO (MICA*008)		HCC1534 (MICA*005)	
					阻害%	干渉による低減%	阻害%	干渉による低減%	阻害%	干渉による低減%
13A9	293	Hu IgG1	0.45	67.52	21%	0%	-7%	-33%	61%	28%
15F11	293	Hu IgG1	1.06	96.2	54%	13%	50%	-8%	43%	16%
1D5v1	293	Hu IgG1	0.92	96.59	54%	5%	52%	-20%	41%	3%
1D5v2	293	Hu IgG1	0.83	96.62	^38%	^15%	^33%	^7%	^26%	^15%
1D5v3	293	Hu IgG1	0.69	95.07	56%	6%	50%	-16%	38%	ND
1D5v4	293	Hu IgG1	0.57	95.39	46%	1%	43%	-22%	34%	15%
1D5v5	293	Hu IgG1	0.26	95.56	39%	-39%	36%	-92%	32%	-5%
1D5v6	293	Hu IgG1	0.22	93.48	47%	-8%	51%	-47%	37%	4%
1D5v7	293	Hu IgG1	0.31	92.59	48%	-2%	51%	-33%	42%	9%
1D5v8	293	Hu IgG1	0.88	91.42	42%	0%	52%	-22%	35%	20%
1D5v9	293	Hu IgG1	0.96	98.35	53%	7%	49%	-8%	41%	9%
1D5v10	293	Hu IgG1	1.67	96.58	62%	7%	58%	NA	43%	17%
1D5v11	293	Hu IgG1	0.83	96.63	52%	1%	56%	-14%	36%	8%
1D5v12	293	Hu IgG1	0.51	96.59	50%	-5%	44%	-18%	27%	1%
1D5v13	293	Hu IgG1	0.49	95.48	49%	-4%	51%	-17%	43%	1%
1D5v14	293	Hu IgG1	0.46	96.07	^49%	^8%	^63%	^17%	^43%	^11%
1D5v14	293	Hu IgG1	0.46	96.07	^^55%	^^7%	^^58%	^^3%	^^31%	^^23%
1D5v15	293	Hu IgG1	1.29	96.16	^45%	^14%	^48%	^13%	^39%	^13%
1D5v16	293	Hu IgG1	0.81	94.66	50%	-2%	51%	-20%	51%	24%

10

20

30

クローン	細胞株	Fc	濃度 (mg/ ml)	モノマ ー%	HCC1534 (MICA*004)		MEL-JUSO (MICA*008)		HCC1534 (MICA*005)	
					阻害%	干渉による 低減%	阻害%	干渉による 低減%	阻害%	干渉による 低減%
1D5v17	293	Hu IgG1	2.02	98.79	52%	12%	68%	2%	50%	21%
1D5v18	293	Hu IgG1	0.83	99.74	47%	6%	64%	-23%	41%	22%
1D5v19	293	Hu IgG1	0.04	98.81	44%	4%	57%	-27%	40%	34%
1D5v20	293	Hu IgG1	0.92	95.58	46%	6%	56%	-20%	39%	28%
1D5v21	293	Hu IgG1	2.38	98.89	55%	16%	62%	13%	25%	28%
1D5v22	293	Hu IgG1	1.77	97.68	46%	7%	57%	10%	34%	***
1D5v23	293	Hu IgG1	0.76	94.35	50%	13%	63%	-7%	38%	31%
1D5v24	293	Hu IgG1	2.48	89.01	50%	20%	65%	17%	43%	28%
1D5v25	293	Hu IgG1	0.78	94.04	46%	8%	62%	-15%	28%	30%
1D5v26	293	Hu IgG1	0.79	92.31	37%	0%	50%	-19%	42%	33%
1D5v27	293	Hu IgG1	4.1	ND	53%	11%	69%	3%	-8%	13%
1D5v28	293	Hu IgG1	4.9	ND	^3%	^2%	^0%	^9%	^36%	^30%
1D5v29	293	Hu IgG1	2.4	ND	40%	12%	57%	-18%	-8%	23%
13A9v1	293	Hu IgG1	3.08	97.25	^12%	ND	^10%	ND	^43%	^36%
13A9v2	293	Hu IgG1	1.65	90.96	10%	0%	12%	-7%	60%	33%
13A9v3	293	Hu IgG1	0.83	99.51	25%	1%	2%	-19%	42%	0%
13A9v4	293	Hu IgG1	0.2	99.12	-29%	-85%	-31%	-199%	63%	35%
13A9v5	293	Hu IgG1	1.41	91.8	9%	3%	4%	0%	63%	37%
13A9v6	293	Hu IgG1	1.62	99.25	16%	4%	8%	-4%	6%	16%
15F11v1	293	Hu IgG1	2.18	98.07	^3%	^3%	^4%	^7%	^43%	^26%
15F11v2	293	Hu IgG1	1.74	95.51	43%	7%	62%	-15%	35%	20%
15F11v3	293	Hu IgG1	3.97	99.42	39%	13%	50%	0%	-49%	ND
15F11v4	293	Hu IgG1	0.18	98.47	-34%	-91%	-19%	-383%	44%	9%
15F11v5	293	Hu IgG1	2.18	96.59	46%	10%	62%	-6%	-35%	- 126%
15F11v6	293	Hu IgG1	0.2	98.55	-14%	-91%	-8%	-300%	59%	33%
1D5	293	Hu IgG1	2.65	96.96	52%	25%	69%	6%	49%	22%

10

20

30

40

クローン	細胞株	Fc	濃度 (mg/ml)	モノマ ー%	HCC1534 (MICA*004)		MEL-JUSO (MICA*008)		HCC1534 (MICA*005)	
					阻害%	干渉による低減%	阻害%	干渉による低減%	阻害%	干渉による低減%
6E1	293	Hu IgG1	0.8	98.65	34%	13%	31%	-9%	58%	34%
1D5	CHO	m IgG2a	6.3	ND	59%	34%	74%	18%	76%	38%
13A9	CHO	m IgG2a	6	ND	34%	32%	29%	9%	60%	24%
15F11	CHO	m IgG2a	4	ND	60%	28%	69%	9%	57%	18%
6E1	CHO	m IgG2a	4.3	ND	40%	20%	36%	9%	47%	13%

10

注記：N D＝未決定。^＝再ラン中の試料のうち、前回ランから装填されたロボット正規化試料であり、正しい抗体希釈、誤った抗体希釈、または抗体が添加されていないものを指し得る。^^＝低い体積のために意図された濃度よりもわずかに低く希釈した。灰色で示されるものは、1 D 5 v 1 4 について収集された第 2 のデータ点である。

表 2 0：阻害及び干渉カットオフ値。

20

	完全カットオフ HCC1534 MICA*004	完全カットオフ HCC1534 MICB*005
阻害平均 (3 プレート)	20%	21%
干渉平均 (3 プレート)	19%	32%

注記：完全カットオフは、非処置試料を下回る 3 つの標準偏差以内の阻害として定義された。

【0503】

前述の発明は、明確な理解のために例証及び例によっていくらか詳細に記載されているが、説明及び例は、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。本明細書で引用される全ての特許及び科学文献の開示は、参照によりそれらの全体が明示的に組み込まれる。

30

配列

超可変領域配列

Ab	HVR—H1	HVR H2	HVR H3	HVR L1	HVR L2	HVR L3
3C9. 10	GSGVN (配列番号 1)	MIWGDGNTDY NSALKS (配列番号 2)	GAYYGKRWYF DV (配列番号 3)	SASQGISNYL N (配列番号 4)	YTSSLHS (配列番号 5)	QQYSKLPPT (配列番号 6)
7D4. 6	SDYAWN (配列番号 17)	YINYS GTTN NPSLKS (配列番号 18)	YRYDGAWFPY (配列番号 19)	RASGNIHNYL A (配列番号 20)	NAIMLAD (配列番号 21)	QHFWSFPL T (配列番号 22)
6F8. 7	NDYYWN (配列番号 33)	FISFGGSNNY NPSLKN (配列番号 34)	YDGRGAWFAY (配列番号 35)	RASGNIHNYL A (配列番号 36)	DAITLAD (配列番号 37)	QHFWSFPLT (配列番号 38)
32D2	TFGMN (配列番号 49)	YINSGSNTIY YADTVKG (配列番号 50)	WEPVTGGFSY (配列番号 51)	TASSSISSSY LH (配列番号 52)	TTSNLAS (配列番号 53)	HQHHRSPFT (配列番号 54)
3E11	KYNIY (配列番号 65)	YIDPYTG GTI SNQKFTG (配列番号 66)	PGSYWYFGV (配列番号 67)	RSSQSIVYTN GNTNLE (配列番号 68)	KVSNRFS (配列番号 69)	FQASYVPFT (配列番号 70)
9C9. 5. 6	GQGVN (配列番号 81)	MIWGDGSTDY NSALKS (配列番号 82)	GAHYGKRWYF DV (配列番号 83)	SASQNINNYL N (配列番号 84)	YTSSLPS (配列番号 85)	QQYSKLPPT (配列番号 86)
1E6. 1. 3	GSGVN (配列番号 97)	MIWGDGNTDY NSALKS (配列番号 98)	GAHYGKRWYF DV (配列番号 99)	SASQGINNYL N (配列番号 100)	YTSTLPS (配列番号 101)	QQYSKLPPT (配列番号 102)
7A3. 1. 9	GSGVN (配列番号 113)	MIWGDGNTDY NSALKS (配列番号 114)	GAHYGKRWYF DV (配列番号 115)	SASQGINNYL N (配列番号 116)	YTSSLPS (配列番号 117)	QQYSKLPPT (配列番号 118)
6E12. 5	DYYMY (配列番号 129)	TISDGITYTY YSDSVRG (配列番号 130)	GGGSTARGAL DF (配列番号 131)	HASQNIHVWL S (配列番号 132)	GASHLHT (配列番号 133)	LQQSYPLT (配列番号 134)

10

20

30

40

20G11	TFGIH (配列番号 145)	YISYDSRTIY YADTVKG (配列番号 146)	WAYEGGVNYF DN (配列番号 147)	TATSGVSSSY LH (配列番号 148)	SSSNLAS (配列番号 149)	HQFHRSPLT (配列番号 150)
6E1.1.12	DNYIS (配列番号 161)	WIYAGTGGSS YNQKFRD (配列番号 162)	HDYYGTSGAW FAY (配列番号 163)	RSSQHIVHSN ENTYLE (配列番号 164)	KVSNRFS (配列番号 165)	FQGSHVPWT (配列番号 166)
2E5.2.3	DNYIS (配列番号 177)	WIYAGTGGTS YNQKFTA (配列番号 178)	HDYYGTSGAW FAY (配列番号 179)	RSSQNIVHIN GNTYLE (配列番号 180)	KVSNRFS (配列番号 181)	FQGSHVPWT (配列番号 182)

フレームワーク配列

軽鎖フレームワーク配列

Ab	FR-L1	FR-L2	FR-L3	FR-L4
3C9 . 10	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISC (配列番号 7)	WYQQKPDGTVKLLIY (配列番号 8)	GVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEPEDIATYYC (配列番号 9)	FGGGTKVEIK (配列番号 10)
7D4 . 6	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC (配列番号 23)	WYQQKQGKSPQLLVY (配列番号 24)	GVPSRFSASGSGTQYS LKINSLQPEDFGSYYC (配列番号 25)	FGAGTKVEIK (配列番号 26)
6F8 . 7	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC (配列番号 39)	WYQQKQGKSPQLLVY (配列番号 40)	GVPSRFSGSGSGTQYS LKINSLQPEDFGNYC (配列番号 41)	FGAGTKVEIK (配列番号 42)
32D2	QIVLTQSPAFKSSSLGERVTMTC (配列番号 55)	WYQQKPGSSPKLWIY (配列番号 56)	GVPARFSGSGSGTSYS LTISTMEAEDAATYYC (配列番号 57)	FGSGTKVEIK (配列番号 58)
3E11	DILMTQTPLSLPVSLGDQASISC (配列番号 71)	WYLQKPGQSPKLLIY (配列番号 72)	GVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDLGVYYC (配列番号 73)	FGSGTKVEIK (配列番号 74)
9C9 . 5 . 6	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISC (配列番号 87)	WYQQKPHGTVKLLIY (配列番号 88)	GVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEPEDIASYC (配列番号 89)	FGGGTKVEIK (配列番号 90)
1E6 . 1 . 3	DIQMTQTTFSLASLGDRVTISC (配列番号 103)	WYQRPDGTGTVKLLIY (配列番号 104)	GVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEPEDIASYC (配列番号 105)	FGGGTKVEIK (配列番号 106)
7A3 . 1 . 9	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISC (配列番号 119)	WYQQKPDGTVKLLIY (配列番号 120)	GVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEPEDIATYYC (配列番号 121)	FGGGTKVEIK (配列番号 122)
6E12 . 5	DIQMNQSPSSLSASLGDITITC (配列番号 135)	WYQQKPGNIPKLLIY (配列番号 136)	GVPSRFSGRSGTGFT LTISSLQPEDIATYYC (配列番号 137)	FGSGTKVEIK (配列番号 138)
20G11	QIVLTQSPAISASLGERVTMTC (配列番号 151)	WYQQKPGSSPKLWIY (配列番号 152)	GVPARFSGSGSGTSYS LTIGSMEAEDAATYYC (配列番号 153)	FGTGTKVEIK (配列番号 154)
6E1 . 1 . 12	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISC (配列番号 167)	WYLQKPGQSPKLLIY (配列番号 168)	GVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDLGVYYC (配列番号 169)	FGGGTKVEIK (配列番号 170)
2E5 . 2 . 3	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASLSC (配列番号 183)	WYLQKPGQSPKLLIY (配列番号 184)	GVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDLGVYYC (配列番号 185)	FGGGTKVEIK (配列番号 186)

10

20

30

40

重鎖フレームワーク配列

Ab	FR—H1	FR—H2	FR—H3	FR—H4
3C9. 10	QVQLKESGPGLVAPSQSLSI TCTVSGFSLT (配列番号 11)	WVRQPPGKGLEWLG (配列番号 12)	RLSISKDNSKSQIFLKM NSLQTDDTARYYCAR (配列番号 13)	WGAGTTVTVSS (配列番号 14)
7D4. 6	DVQLQESGPGLVKPSQSLSL TCTVTGYSIT (配列番号 27)	WIRQFPRNKLEWMG (配列番号 28)	RISITRDTSKNQFFLQL ISVTTEDTATYYCSY (配列番号 29)	WGQGTLLTVSA (配列番号 30)
6F8. 7	DVQLQSGGPGLVKPSQSLSL TCSVTGYSIT (配列番号 43)	WIRQFPGNKLEWMG (配列番号 44)	RISITRDTSKNQFFLKL SSVTTEDTATYYCAR (配列番号 45)	WAQGTLLTVSA (配列番号 46)
32D2	DVHLVESGGGLVQPGGSRKL SCAASGFTFN (配列番号 59)	WVRQAPEKGLEWVA (配列番号 60)	RFTISRDNPKNTLFLQM TSLRSEDAMYYCTR (配列番号 61)	WGQGTLLTVSA (配列番号 62)
3E11	EIQLQQSGPELVKPGASVKV SCTASGYAFT (配列番号 75)	WVKQSHGKSLEWIG (配列番号 76)	RATLTVDKSSSTAYLHL NSLTSEDSAVYYCAR (配列番号 77)	WGAGTTVTVSS (配列番号 78)
9C9. 5. 6	QVQLKESGPGLVAPSQSLSI TCTVSGFSLN (配列番号 91)	WVRQPPGKGLEWLG (配列番号 92)	RLSISKDNSRSQVFLKM NSLQTDDTARYYCAR (配列番号 93)	WGAGTTVTVSS (配列番号 94)
1E6. 1. 3	QVQLKESGPGLVAPSQSLSI TCTVSGFSLT (配列番号 107)	WVRQPPGQGLEWLG (配列番号 108)	RLSISKDNSKSQVFLKM NSLQTDDTARYYCAR (配列番号 109)	WGAGTTVTVSS (配列番号 110)
7A3. 1. 9	QVQLKESGPGLVAPSQSLSI TCTVSGFALT (配列番号 123)	WVRQPPGKGLEWLG (配列番号 124)	RLSISKDNSKSQIFLKM NSLQTDDTARYYCAR (配列番号 125)	WGAGTTVTVSS (配列番号 126)
6E12 . 5	EVQLVESGGGLVKPGGSLKL SCAASGFTFS (配列番号 139)	WVRQTPEKRLEWVA (配列番号 140)	RFTISRDNALNTLYLQM SSLKSEDAMYYCSK (配列番号 141)	WGQGTSTVTVSS (配列番号 142)
20G1 1	DVQLVESGGGLVQPGGSRKL SCAASGFTFS (配列番号 155)	WVRQAPEKGLEWVA (配列番号 156)	RFTISRDNPKNTLFLQM TSLRSEDAMYYCAR (配列番号 157)	WGQGTLLTVSS (配列番号 158)
6E1. 1. 12	QGQMQQSGAELVKPGASVKL SCKTSGFTFS (配列番号 171)	WLKQKPGQSLEWIA (配列番号 172)	KAQLTVDTSSTAYMQL SSLTTEDSAIYYCAR (配列番号 173)	WGRGTLTVSA (配列番号 174)
2E5. 2. 3	QGQMQQSGAELVKPGASVKL SCKTSGFTFS (配列番号 187)	WLKQKPGQSLEWIA (配列番号 188)	KAQLTVDTSSTAYMQF SSLTTEDSAIYYCAR (配列番号 189)	WGQGTLLTVSA (配列番号 190)

10

20

30

40

可変ドメイン配列

Ab	VH	VL
3C9 . 10	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTGS GVNWVRQPPGKGLEWLGMIWGDGNTDYN SALK SRLSISKDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCA RGAYYGKRWYFDVWGAGTTVTVSS (配列番号 15)	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASQGISNY LNWYQQKPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSG SGSGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQQYSKLPP TFGGGTKVEIK (配列番号 16)
7D4. 6	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSD YAWNWRQFPRNKLEWMGYINYSGTTNYP SL KSRISITRDTSKNQFFLQLISVTTEDTATYYC SYRYDGAWFYWGQGLTVTVSA (配列番号 31)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNY LAWYQQKQKSPQLLVYNAIMLADGVPSRFSA SGSGTQYSLKINSLQPEDFGSYQCQHFWSFPL TFGAGTKVEIK (配列番号 32)
6F8. 7	DVQLQSGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITND YYWNWRQFPGNKLEWMGFISFGGSNNYNPSL KNRISITRDTSKNQFFLKLSSVTTEDTATYYC ARYDGRGAWFAYWAQGLTVTVSA (配列番号 47)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNY LAWYQQKQKSPQLLVYDAITLADGVPSRFSG SGSGTQYSLKINSLQPEDFGNYQCQHFWSFPL TFGAGTKVEIK (配列番号 48)
32D2	DVHLLVESGGGLVQPGGSRKLSAASGFTFNTF GMNWVRQAPEKGLEWVAYINSGSNTIYYADTV KGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSED TAMY YC TRWEPVTGGFSYWGQGLTVTVSA (配列番号 63)	QIVLTQSPAFKSSSLGERVTMTCTASSSISS YLHWYQQKPGSSPKLWIYTTSNLASGVPARFS GSGSGTSYSLTISTMEAEDAATYYCHQHHRSP FTFGSGTKVEIK (配列番号 64)
3E11	EIQLQQSGPELVKPGASVKV SCTASGYAFTKY NIYWVKQSHGKSLEWIGYIDPYTGGTISNQKF TGRATLTVDKSSSTAYLHLNSLTSEDSAVYYC ARPGSYWYFGVWGAGTTVTVSS (配列番号 79)	DILMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVYT NGNTNLEWYLQKPGQSPKLLIYKVS NRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQA SYVPFTFGSGTKVEIK (配列番号 80)
9C9 . 5. 6	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLNGQ GVNWVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYN SALK SRLSISKDNSRSQVFLKMNSLQTDDTARYYCA RGAHYGKRWYFDVWGAGTTVTVSS (配列番号 95)	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASQNINNY LNWYQQKPHGTVKLLIYYTSSLPSGVPSRFSG SGSGTDYSLTISNLEPEDIASYCQYQYSKLPP TFGGGTKVEIK (配列番号 96)
1E6 . 1. 3	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTGS GVNWVRQPPGQGLEWLGMIWGDGNTDYN SALK SRLSISKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTARYYCA RGAHYGKRWYFDVWGAGTTVTVSS (配列番号 111)	DIQMTQTTFSLSASLGDRVTISCSASQGINNY LNWYQQRPDGTVKLLIYYTSTLPSGVPSRFSG SGSGTDYSLTISNLEPEDIASYCQYQYSKLPP TFGGGTKVEIK (配列番号 112)
7A3 . 1. 9	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFALTGS GVNWVRQPPGKGLEWLGMIWGDGNTDYN SALK SRLSISKDNSKSQIFLKMNSLQTDDTARYYCA RGAHYGKRWYFDVWGAGTTVTVSS (配列番号 127)	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASQGINNY LNWYQQKPDGTVKLLIYYTSSLPSGVPSRFSG SGSGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQYQYSKLPP TFGGGTKVEIK (配列番号 128)

10

20

30

40

Ab	VH	VL
6E12. 5	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSDY YMYWVRQTPEKRLEWVATISDGITYTYYSDSV RGRFTISRDNALNTLYLQMSSLKSEDTAMYYC SKGGGSTARGALDFWGQGTSTVTVSS (配列番号 143)	DIQMNQSPSSLSASLGDTITITCHASQNIHVW LSWYQQKPGNIPKLLIYGASHLHTGVPSRFSG RSGTGFTLTISLQPEDATYYCLQGQSYPL TFGSGTKVEIK (配列番号 144)
6E1 . 1. 12	QQQMQQSGAELVKPGASVKLSCKTSGFTFSDN YISWLKQKPGQSLEWIAWIYAGTGGSSYNQKF RDKAQLTVDTSRTAYMQLSSLTTEDSAIYYC ARHDYYGTSGAWFAYWGRGTLTVSA (配列番号 159)	DVLMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQHIVHS NENTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQG SHVPWTFGGGTKVEIK (配列番号 160)
2E5 . 2. 3	QQQMQQSGAELVKPGASVKLSCKTSGFTFSDN YISWLKQKPGQSLEWIAWIYAGTGGTSYNQKF TAKAQLTVDTSSTAYMQFSSLTTEDSAIYYC ARHDYYGTSGAWFAYWQGTLTVSA (配列番号 175)	DVLMQTPLSLPVSLGDQASLSCRSSQNIVHI NGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQG SHVPWTFGGGTKVEIK (配列番号 176)
20G11	DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSAASGFTFSTF GIHWVRQAPEKGLEWVAYISYDSRTIYYADTV KGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYC ARWAYEGGVNYFDNWGQGTTLTVSS (配列番号 191)	QIVLTQSPAIMSASLGERVTMTCTATSGVSSS YLHWYQQKPGSSPKLWIYSSSNLASGVPARFS GSGSGTSYSLTIGSMEAEDAATYYCHQFHRSP LTFGTGTKVEIK (配列番号 192)

10

20

【 0 5 0 4 】

1 D 5、1 3 A 9、及び 1 5 F 1 1 のヒト化バリエーション、ならびにマウスキメラ 1 D 5、1 3 A 9、1 5 F 1 1、1 8 G 3、及び 1 2 H 1 0 の超可変領域配列、重鎖及び軽鎖フレームワーク配列、ならびに可変ドメイン配列を下記の表に示す（配列番号 2 0 9 ～配列番号 4 4 0）。

超可変領域配列

30

Ab	HVR—H1	HVR H2	HVR H3	HVR L1	HVR L2	HVR L3
1D5						
1D5v1						
1D5v2						
1D5v3						
1D5v4						
1D5v5						
1D5v6						
1D5v7						
1D5v8						
1D5v9						
1D5v10						
1D5v11						QQGSSLP
1D5v12	SQNIY	YIEPYNVVPY	SGSSNFDY	SASSSISSHYLH	RTSNLASG	LT
1D5v13	(配列番号	NPKFKG	(配列番号	(配列番号	(配列番号	(配列番号
1D5v14	209)	(配列番号	211)	212)	号 213)	番 号
1D5v15		210)				214)
1D5v16						
1D5v17						
1D5v18						
1D5v19						
1D5v20						
1D5v21						
1D5v22						
1D5v23						
1D5v24						
1D5v25						
1D5v26						
1D5v27	SQNIY	YIEPYNVVPAY	SGSSNFDY	SASSSISSHYLH	RTSNLASG	QQGSSLP
	(配列番号	NPKFKG	(配列番号	(配列番号	(配列番号	LT
	209)	(配列番号	211)	212)	号 213)	(配列番号
		215)				214)
1D5v28	SQNIY	YIEPYNVVPY	SGSSNFDY	SASSSISSHYLH	RTSNLASG	QQGSSLP
	(配列番号	NPKFKG	(配列番号	(配列番号	(配列番号	LT
	209)	(配列番号	211)	212)	号 213)	(配列番号
		216)				214)
1D5v29	SQNIY	YIEPYNVVPY	SGSSNFDY	SASSSISSHYLH	RTSNLASG	QQGSSLP
	(配列番号	NPKFKG	(配列番号	(配列番号	(配列番号	LT
	209)	(配列番号	211)	212)	号 213)	(配列

10

20

30

40

Ab	HVR-H1	HVR H2	HVR H3	HVR L1	HVR L2	HVR L3
		217)				番 号 214)
13A9 13A9v1 13A9v2 13A9v3 13A9v4 13A9v5 13A9v6	NYLIE (配列番号 218)	AINPGSGATNY NEKFKD (配列番号 219)	FLGNYFDN (配列番号 220)	RASGNIHSYLA (配列番号 221)	YAETLADG (配列番号 222)	QQFWTTP YT (配列番号 223)
15F11 15F11v1 15F11v2 15F11v3 15F11v4 15F11v5 15F11v6	SNNIY (配列番号 224)	YIDPYIGRIIY NQKFKD (配列番号 225)	SGERSNFDY (配列番号 226)	SASSSISSNYLH (配列番号 227)	RTSNLASG (配列番号 228)	QQGSLP LT (配列番号 229)
6E1. 1. 12	DNYIS (配列番号 230)	WIYAGTGGSSY NQKFRD (配列番号 231)	HDYYGTSGAWF AY (配列番号 232)	RSSQHIVHSNEN TYLE (配列番号 233)	KVSNRFS (配列番号 234)	FQGSHVP WT (配列番号 235)
18G3	GDYAWN (配列番号 236)	YIGYTGSTTY NPSLKS (配列番号 237)	WRNWAMDY (配 列番号 238)	RANQDISHYLN (配列番号 239)	YTSRIHSG (配列番号 240)	QQGNTTP TT (配列番号 241)
12H10	SNYAWN (配列番号 242)	YISSSGITKS NPSLKS (配列番号 243)	WSNWSFDV (配列番号 244)	RASQDIHNYFN (配列番号 245)	YTSRFHSG (配列番号 246)	QQGNSLP PT (配列番号 247)

10

20

30

40

フレームワーク配列

軽鎖フレームワーク配列

Ab	FR-L1	FR-L2	FR-L3	FR-L4
1D5	EIILTQSPTTMAASPGKIT ITC (配列番号 248)	WYQQKSGFSPKLLIY (配列番号 249)	VPARFSGSGSGTSYSL TIGTMEAEDVATYYC (配列番号 250)	FGAGTKVEIK (配列番号 251)
1D5v1 1D5v2 1D5v3 1D5v4	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVT ITC (配列番号 252)	WYQQKPDQSPKLLIY (配列番号 253)	VPSRFSGSGSGTDYTL TINSLEAEDAATYYC (配列番号 254)	FGQGTKVEIK (配列番号 255)
1D5v5 1D5v6 1D5v7 1D5v8	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVT ITC (配列番号 252)	WYQQKPDQSPKLLIK (配列番号 256)	VPSRFSGSGSGTDFTL TINSLEAEDAATYYC (配列番号 257)	FGQGTKVEIK (配列番号 255)
1D5v9 1D5v10 1D5v11 1D5v12	DIQLTQSPSSLSASVGDRVT ITC (配列番号 258)	WYQQKPGKSPKLLIY (配列番号 259)	VPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYC (配列番号 260)	FGQGTKVEIK (配列番号 255)
1D5v13 1D5v14 1D5v15 1D5v16	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITC (配列番号 261)	WYQQKPGKAPKLLIY (配列番号 262)	VPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYC (配列番号 263)	FGQGTKVEIK (配列番号 255)
1D5v17	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITC (配列番号 261)	WYQQKPGKSPKLLIY (配列番号 264)	VPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYC (配列番号 265)	FGQGTKVEIK (配列番号 255)
1D5v18	DIQLTQSPSSLSASVGDRVT ITC (配列番号 266)	WYQQKPGKSPKLLIY (配列番号 264)	VPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYC (配列番号 267)	FGQGTKVEIK (配列番号 255)
1D5v19 1D5v20 1D5v21 1D5v22 1D5v23 1D5v24 1D5v25 1D5v26 1D5v27 1D5v28 1D5v29	DIQLTQSPSSLSASVGDRVT ITC (配列番号 266)	WYQQKPGKSPKLLIY (配列番号 264)	VPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYC (配列番号 265)	FGQGTKVEIK (配列番号 255)
13A9	DIQMTQSPASLSASVGETVT ITC (配列番号 268)	WYQQKQGKSPQLLVY (配列番号 269)	VPSRFSGRSGGTQYSL KINSLQPEDFGSYFC (配列番号 270)	FGGGTKVEIK (配列番号 271)
13A9v1 13A9v2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITC (配列番号 272)	WYQQKPGKAPKLLIY (配列番号 273)	VPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYC	FGQGTKVEIK (配列番号

10

20

30

40

Ab	FR-L1	FR-L2	FR-L3	FR-L4
13A9v5			(配列番号 274)	255)
13A9v3 13A9v4 13A9v6	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITC (配列番号 272)	WYQQKPGKSPKLLVY (配列番号 275)	VPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYFC (配列番号 276)	FGQGTKVEIK (配列番号 255)
15F11	EIVLTQSPTAMAASPGEKIT ITC (配列番号 277)	WYQQKPGFSPKLLIY (配列番号 278)	VPSRFSGSGSGTSYSL TIGPMEAEDVATYYC (配列番号 279)	FGAGTKVEIK (配列番号 251)
15F11v1 15F11v2 15F11v5	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSC (配列番号 280)	WYQQKPGQAPRLLIY (配列番号 281)	IPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYC (配列番号 282)	FGQGTKVEIK (配列番号 255)
15F11v3 15F11v4 15F11v6	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSC (配列番号 280)	WYQQKPGQSPRLLIY (配列番号 283)	VPSRFSGSGSGTDYTL TISSLEPEDFAVYYC (配列番号 284)	FGQGTKVEIK (配列番号 255)
6E1. 1. 12	DVLTMTQTPSLPVSIGDQAS ISC (配列番号 285)	WYLQKPGQSPKLLIY (配列番号 286)	GVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDLGVYYC (配列番号 287)	FGGGTKVEIK (配列番号 271)
18G3	DIQMTQTPSSLSASLGDRVT ISC (配列番号 288)	WYQQKPDGAVKLLIY (配列番号 289)	VPSRFSGSGSGTDYSL TIANLEQEDVATYFC (配列番号 290)	FGGGTKVEIK (配列番号 271)
12H10	DIQMTQTPSSLSVSLGDRVT INC (配列番号 291)	WYQQKPDGTIKLLIY (配列番号 292)	VPSRFSGSGSGTDYSL TISNLEEEDIATYFC (配列番号 293)	FGGGTKLEIK (配列番号 294)

10

20

重鎖フレームワーク配列

30

Ab	FR—H1	FR—H2	FR—H3	FR—H4
1D5	EIQLQQSGPELVKPGASV KVSCKASGYAFT (配列 番号 295)	WVKQSHGKSLEWIG (配列番号 296)	KATLTVDKSSSSAYIHL NSLTSEDSAIYYCAR (配列番号 297)	WQQGTLTVSS (配列番号 298)
1D5v1 1D5v5 1D5v9 1D5v13	EIQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列 番号 299)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 300)	RATLTVDKSTSTAYMEL RSLRSDDTAVYYCAR (配列番号 301)	WQQGTLTVSS (配列番号 302)
1D5v2 1D5v6 1D5v10 1D5v14	EVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列 番号 303)	WVRQAPGQGLEWMG (配列番号 304)	RVTMTTDTSTSTAYMEL RSLRSDDTAVYYCAR (配列番号 305)	WQQGTLTVSS (配列番号 302)
1D5v3 1D5v7 1D5v11 1D5v15 1D5v17 1D5v18 1D5v27 1D5v28 1D5v29	EIQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列 番号 299)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 300)	RATLTVDKSTSTAYLEL SSLRSED TAVYYCAR (配列番号 306)	WQQGTLTVSS (配列番号 302)
1D5v4 1D5v8 1D5v12 1D5v16	EVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列 番号 303)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 300)	RVTITRDTSTSTAYLEL SSLRSED TAVYYCAR (配列番号 307)	WQQGTLTVSS (配列番号 302)
1D5v19	EVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列 番号 303)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 300)	RATLTVDKSTSTAYLEL SSLRSED TAVYYCAR (配列番号 306)	WQQGTLTVSS (配列番号 302)
1D5v20	EIQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列 番号 299)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 300)	RVTLTVDKSTSTAYLEL SSLRSED TAVYYCAR (配列番号 308)	WQQGTLTVSS (配列番号 302)
1D5v21	EIQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列 番号 299)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 300)	RATITVDKSTSTAYLEL SSLRSED TAVYYCAR (配列番号 309)	WQQGTLTVSS (配列番号 302)
1D5v22	EIQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列 番号 299)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 300)	RATLTRDKSTSTAYLEL SSLRSED TAVYYCAR (配列番号 310)	WQQGTLTVSS (配列番号 302)
1D5v23	EIQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列 番号 299)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 300)	RATLTVDKSTSTAYLEL SSLRSED TAVYYCAR (配列番号 311)	WQQGTLTVSS (配列番号 302)
1D5v24	EIQLVQSGAEVKKPGASV	WVRQAPGQGLEWIG	RVTITVDKSTSTAYLEL	WQQGTLTVSS

10

20

30

40

Ab	FR—H1	FR—H2	FR—H3	FR—H4
	KVSCKASGYAFT (配列番号 299)	(配列番号 300)	SSLRSED TAVYYCAR (配列番号 312)	(配列番号 302)
1D5v25	EVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列番号 303)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 300)	RVTITVDTSTSTAYLEL SSLRSED TAVYYCAR (配列番号 313)	WGQGLTVTVSS (配列番号 302)
1D5v26	EVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列番号 303)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 300)	RVTITRDKSTSTAYLEL SSLRSED TAVYYCAR (配列番号 314)	WGQGLTVTVSS (配列番号 302)
13A9	QVQLQQSGAELVRPGTSV KVSCKASGYAFT (配列番号 315)	WVKQRPQGLEWIG (配列番号 316)	KARLTADKSSNTAYLQF SSLTSDSAVYFCAR (配列番号 317)	WGQGATLTVSS (配列番号 318)
13A9v1 13A9v3	EVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列番号 319)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 320)	RVTITADTSTSTAYLEL SSLRSED TAVYYCAR (配列番号 321)	WGQGLTVTVSS (配列番号 302)
13A9v2 13A9v4	EVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列番号 319)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 320)	RATLTADKSTNTAYLEL SSLRSED TAVYFCAR (配列番号 322)	WGQGLTVTVSS (配列番号 302)
13A9v5 13A9v6	EVQLVQSGAEVKKPGSSV KVSCKASGYAFT (配列番号 323)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 320)	RATLTADKSTNTAYMEL SSLRSED TAVYFCAR (配列番号 324)	WGQGLTVTVSS (配列番号 302)
15F11	EIQLQQSGPELVKPGASV RVSCKPSGYAFT (配列番号 325)	WVKQSRKSLWIG (配列番号 326)	KATLTVDKSSSTAYMHL NSLTSEDSAVYYCSR (配列番号 327)	WGQGTTLTVSS (配列番号 328)
15F11v1 15F11v3	EVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYAFT (配列番号 329)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 320)	RVTITADTSTSTAYLEL SSLRSED TAVYYCSR (配列番号 330)	WGQGLTVTVSS (配列番号 302)
15F11v2 15F11v4	EIQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKPSGYAFT (配列番号 331)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 320)	RATLTVDKSTSTAYLEL SSLRSED TAVYYCSR (配列番号 332)	WGQGLTVTVSS (配列番号 302)
15F11v51 5F11v6	EIQLVQSGAEVKKPGSSV KVSCKPSGYAFT (配列番号 333)	WVRQAPGQGLEWIG (配列番号 320)	RATLTVDKSTSTAYMEL SSLRSED TAVYYCSR (配列番号 334)	WGQGLTVTVSS (配列番号 302)
6E1. 1. 12	QGQMQQSGAELVKPGASV KLSCKTSGFTFS (配列番号 335)	WLKQKPGQSLEWIA (配列番号 336)	KAQLTVDTSRTAYMQL SSLTTEDSAIYYCAR (配列番号 337)	WGRGTLTVSA (配列番号 338)
18G3	VQLQESGPGLVKPSQSL LTCNVTGYSIT (配列番号 339)	WIRQFPGNKLEWIG (配列番号 340)	RVSITRDTSKNQFFLQL NSVTPEDTATYYCAR (配列番号 341)	WGLGTSVTVSS (配列番号 342)
12H10	DVQLQESGPGLVKPSQPL SLTCTVTGYSIT (配列番号 343)	WIRQFPGDKLEWMG (配列番号 344)	RISITRDTSKNQFFLQL NSLTTEDTATYYCSR (配列番号 345)	WGAGTTVTVSS (配列番号 346)

10

20

30

40

Ab	VH	VL
1D5	EIQLQQSGPELVKPGASVKVSCASGYAFT SQNIYWVKQSHGKSLEWIGYIEPYNVVPY NPKFKGKATLTVDKSSSSAYIHLNSLTSED SAIYYCARSGSSNFDYWGQGTTLTVSS (配列番号 347)	EIILTSPTTMAASPGEKITITCSASSSISSHY LHWYQQKSGFSPKLLIYRTSNLASGVP ARFSGSGSGTSYSLTIGTMEAEDVATYYCQQGS SLPLTFGAGTKVEIK (配列番号 348)
1D5v1	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVVPY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYMELRSLRSD TAVYYCARSGSSNFDYWGQGTTLTVSS (配列番号 349)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPDQSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTINSLEAEDAATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 350)
1D5v2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWMGYIEPYNVVPY NPKFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD TAVYYCARSGSSNFDYWGQGTTLTVSS (配列番号 351)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPDQSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTINSLEAEDAATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 352)
1D5v3	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVVPY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGQGTTLTVSS (配列番号 353)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPDQSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTINSLEAEDAATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 354)
1D5v4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVVPY NPKFKGRVTITRDTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGQGTTLTVSS (配列番号 355)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPDQSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTINSLEAEDAATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 356)
1D5v5	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVVPY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYMELRSLRSD TAVYYCARSGSSNFDYWGQGTTLTVSS (配列番号 357)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPDQSPKLLIKRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 358)
1D5v6	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWMGYIEPYNVVPY NPKFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD TAVYYCARSGSSNFDYWGQGTTLTVSS (配列番号 359)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPDQSPKLLIKRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 360)
1D5v7	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVVPY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGQGTTLTVSS (配列番号 361)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPDQSPKLLIKRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 362)

10

20

30

40

Ab	VH	VL
1D5v8	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRVTITRDTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGGTLTVSS (配列番号 363)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPDQSPKLLIKRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 364)
1D5v9	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYMELRSLRSD TAVYYCARSGSSNFDYWGGTLTVSS (配列番号 365)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLPEDFATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 366)
1D5v10	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWMGYIEPYNVPMY NPKFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD TAVYYCARSGSSNFDYWGGTLTVSS (配列番号 367)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLPEDFATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 368)
1D5v11	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGGTLTVSS (配列番号 369)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLPEDFATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 370)
1D5v12	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRVTITRDTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGGTLTVSS (配列番号 371)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLPEDFATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 372)
1D5v13	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYMELRSLRSD TAVYYCARSGSSNFDYWGGTLTVSS (配列番号 373)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKAPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 374)
1D5v14	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWMGYIEPYNVPMY NPKFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD TAVYYCARSGSSNFDYWGGTLTVSS (配列番号 375)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKAPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 376)
1D5v15	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGGTLTVSS (配列番号 377)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKAPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 378)

10

20

30

40

Ab	VH	VL
1D5v16	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGGGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRVTITRDSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGGGTLVTVSS (配列番号 379)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKAPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GGGTKVEIK (配列番号 380)
1D5v17	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGGGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGGGTLVTVSS (配列番号 381)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GGGTKVEIK (配列番号 382)
1D5v18	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGGGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGGGTLVTVSS (配列番号 383)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GGGTKVEIK (配列番号 384)
1D5v19	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGGGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGGGTLVTVSS (配列番号 385)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GGGTKVEIK (配列番号 386)
1D5v20	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGGGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRVTLTVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGGGTLVTVSS (配列番号 387)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GGGTKVEIK (配列番号 388)
1D5v21	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGGGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRATITVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGGGTLVTVSS (配列番号 389)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GGGTKVEIK (配列番号 390)
1D5v22	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGGGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRATLTRDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGGGTLVTVSS (配列番号 391)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GGGTKVEIK (配列番号 392)
1D5v23	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGGGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRATLTVDTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGGGTLVTVSS (配列番号 393)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GGGTKVEIK (配列番号 394)

10

20

30

40

Ab	VH	VL
1D5v24	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRVTITVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 395)	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 396)
1D5v25	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRVTITVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 397)	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 398)
1D5v26	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVPMY NPKFKGRVTITRDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 399)	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 400)
1D5v27	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVVPAY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 401)	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 402)
1D5v28	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVVPY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 403)	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 404)
1D5v29	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SQNIYWVRQAPGQGLEWIGYIEPYNVVPY NPKFKGRATLTVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARSGSSNFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 405)	DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSISSHY LHWYQQKPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGSSLPLTF GQGTKVEIK (配列番号 406)
13A9	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYAFT NYLIEWVKQRPQGQLEWIGAINPGSGATNY NEKFKDKARLTADKSSNTAYLQFSSLTSDD SAVYFCARFLGNYFDNWGQGATLLTVSS (配列番号 407)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHSYL AWYQQKQKSPQLLVYYAETLADGVPSRFSGRG SGTQYSLKINSLQPEDFGSYFCQQFWTTPYTFG GGTKVEIK (配列番号 408)
13A9v1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT NYLIEWVRQAPGQGLEWIGAINPGSGATNY NEKFKDRVTITADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARFLGNYFDNWGQGATLLTVSS (配列番号 409)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASGNIHSYL AWYQQKPGKAPKLLIYYAETLADGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFWTTPYTFG QGTKVEIK (配列番号 410)

10

20

30

40

Ab	VH	VL
13A9v2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT NYLIEWVRQAPGQGLEWIGAINPGSGATNY NEKFKDRATLTADKSTNTAYLELSSLRSED TAVYFCARFLGNYFDNWGQGTLLTVSS (配列番号 411)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASGNIHSYL AWYQQKPGKAPKLLIYYAETLADGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFWTTPYTFG QGTKVEIK (配列番号 412)
13A9v3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT NYLIEWVRQAPGQGLEWIGAINPGSGATNY NEKFKDRVTITADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCARFLGNYFDNWGQGTLLTVSS (配列番号 413)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASGNIHSYL AWYQQKPGKSPKLLVYYAETLADGVPSRFSGSG SGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQFWTTPYTFG QGTKVEIK (配列番号 414)
13A9v4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT NYLIEWVRQAPGQGLEWIGAINPGSGATNY NEKFKDRATLTADKSTNTAYLELSSLRSED TAVYFCARFLGNYFDNWGQGTLLTVSS (配列番号 415)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASGNIHSYL AWYQQKPGKSPKLLVYYAETLADGVPSRFSGSG SGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQFWTTPYTFG QGTKVEIK (配列番号 416)
13A9v5	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFT NYLIEWVRQAPGQGLEWIGAINPGSGATNY NEKFKDRATLTADKSTNTAYMELSSLRSED TAVYFCARFLGNYFDNWGQGTLLTVSS (配列番号 417)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASGNIHSYL AWYQQKPGKAPKLLIYYAETLADGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFWTTPYTFG QGTKVEIK (配列番号 418)
13A9v6	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFT NYLIEWVRQAPGQGLEWIGAINPGSGATNY NEKFKDRATLTADKSTNTAYMELSSLRSED TAVYFCARFLGNYFDNWGQGTLLTVSS (配列番号 419)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASGNIHSYL AWYQQKPGKSPKLLVYYAETLADGVPSRFSGSG SGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQFWTTPYTFG QGTKVEIK (配列番号 420)
15F11	EIQLQQSGPELVKPGASVRVSKPSGYAFT SNNIYWVKQSRKSLWIGYIDPYIGRIIY NQQFKDKATLTVDKSSSTAYMHLNSLTSED SAVYYCSRSGERSNFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 421)	EIVLTQSPTAMAASPGEKITITCSASSSISSNY LHWYQQKPGFSPKLLIYRTSNLASGVP ARFSGSGSGTSYSLTIGPMEAEDVATYYCQQGG SLPLTFGAGTKVEIK (配列番号 422)
15F11v1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SNNIYWVRQAPGQGLEWIGYIDPYIGRIIY NQQFKDRVTITADTSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCSRSGERSNFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 423)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSISSNY LHWYQQKPGQAPRLLIYRTSNLASGIP ARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQGG SLPLTFGQGTKVEIK (配列番号 424)
15F11v2	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKPSGYAFT SNNIYWVRQAPGQGLEWIGYIDPYIGRIIY NQQFKDRATLTVDKSTSTAYLELSSLRSED TAVYYCSRSGERSNFDYWGQGTLLTVSS (配列番号 425)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSISSNY LHWYQQKPGQAPRLLIYRTSNLASGIP ARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQGG SLPLTFGQGTKVEIK (配列番号 426)

10

20

30

40

Ab	VH	VL
15F11v3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFT SNNIYWVRQAPGGGLEWIGYIDPYIGRIIY NQQFKDRVITITADTSTSTAYLESSLRSED TAVYYCSRSGERSNFDYWGGGTLTVTVSS (配列番号 427)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSISNY LHWYQQKPGQSPRLLIYRTSNLASGVPARFSGS GSGTDYTLTISSELEPEDFAVYYCQQGGSPLTF GGGTKVEIK (配列番号 428)
15F11v4	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKPSGYAFT SNNIYWVRQAPGGGLEWIGYIDPYIGRIIY NQQFKDRATLTVDKSTSTAYLESSLRSED TAVYYCSRSGERSNFDYWGGGTLTVTVSS (配列番号 429)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSISNY LHWYQQKPGQSPRLLIYRTSNLASGVPARFSGS GSGTDYTLTISSELEPEDFAVYYCQQGGSPLTF GGGTKVEIK (配列番号 430)
15F11v5	EIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKPSGYAFT SNNIYWVRQAPGGGLEWIGYIDPYIGRIIY NQQFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCSRSGERSNFDYWGGGTLTVTVSS (配列番号 431)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSISNY LHWYQQKPGQAPRLLIYRTSNLASGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQGG SLPLTFGGGTKVEIK (配列番号 432)
15F11v6	EIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKPSGYAFT SNNIYWVRQAPGGGLEWIGYIDPYIGRIIY NQQFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCSRSGERSNFDYWGGGTLTVTVSS (配列番号 433)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSISNY LHWYQQKPGQSPRLLIYRTSNLASGVPARFSGS GSGTDYTLTISSELEPEDFAVYYCQQGGSPLTF GGGTKVEIK (配列番号 434)
6E1. 1. 12	QQQMQQSGAELVKPGASVKLSCKTSGFTFS DNYISWLKQKPGQSLEWIAWIYAGTGGSSY NQKFRDKAQLTVDTSRTAYMQLSSLTTED SAIYYCARHDYYGTSGAWFAYWGRGTLTV SA (配列番号 435)	DVLTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQHIVHSN ENTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVS NRFSGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHV PWTFGGGTKVEIK (配列番号 436)
18G3	VQLQESGPGLVKPSQSLSLTCNVTGYSITG DYAWNWIWIRQPGNKLEWIGYIGYTGSTTYN PSLKSRSVITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDT ATYYCARWRNWAMDYWG LGTSVTVSS (配列番号 437)	DIQMTQTPSSLSASLGDRVTISCRANQDISHYL NWYQQKPDGAVKLLIYYTSRIHSGVPSRFSGSG SGTDYSLTIANLEQEDVATYFCQQGNTPTTFG GGTKVEIK (配列番号 438)
12H10	DVQLQESGPGLVKPSQPLSLTCTVTGYSIT SNYAWNWIWIRQPGDKLEWMGYISSGITS NPSLKSRSISITRDTSKNQFFLQLNSLTED TATYYCSRWSNWSFDVWGAGTTVTVSS (配 列番号 439)	DIQMTQTPSSLSVSLGDRVTINCRASQDIHNYF NWYQQKPDGTIKLLIYYTSRFHSGVPSRFSGSG SGTDYSLTISNLEEEDIATYFCQQGNSLPPTFG GGTKLEIK (配列番号 440)

10

20

30

40

配列番号 193～配列番号 208

配列番号 193

MICA*008 (シグナル配列を含む)

MGLGPVFLLLAGIFPFAPPGAAAEPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLAEVHLDGQPFLRYDRQ
KCKRAKPQGQWAEDVLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHE
DNSTRSSQHFFYYDGELFLSQNLETEEWTPQSSRAQTLAMNVRNFKEDAMKTKTHYHAMH
ADCLQELRRYLESGVVLRRTPPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWQRQDGVSL
HDTQQWGDVLPDGNNGTYQTWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHW
QTFHVSVAAGCCYFCYYYFLCPLL

実施例における構成体の配列

配列番号 194

>MICA008. muI g G 2 a (a3ドメイン太字)

10

GSTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWQRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGN
GTYQTWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGNSRAQVTDKKIEPRGPTIKPCPPC
KCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQT
HREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPP
EEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKK
NWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

配列番号 195

20

>MICA008. His (a3ドメイン太字)

GSTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWQRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGN
GTYQTWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGNSHHHHHHHH

配列番号 196

>MICA002. His (a3ドメイン太字)

GSTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWNITLSWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDG
N GTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGNSHHHHHHHH

配列番号 197

30

>MICA004. His (a3ドメイン太字)

GSVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNITLTSWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGN
G TYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGNSHHHHHHHH

配列番号 198

>MICB005. His (a3ドメイン太字)

GSTVPPMVNVTCSEVSEGNITVTCRASSFYPRNITLTSWRQDGVSLSHNTQQWGDVLPDG
N GTYQTWVATRIRQGEEQRFTCYMEHSGNHGTHPVPSGNSHHHHHHHH

配列番号 199

40

>MICA. 008. a3. T204-S297. mI g G 2 a. 野生型

TVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWQRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGN
GTYQTWVATRICRGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPS

配列番号 200

>MICA. 008. a3. T204-S297. E215N. G243N. H248N
. R279N. N298のC末端挿入. G299. S300. mI g G 2 a. G l y c o
4 (超グリコシル化)

TVPPMVNVTRSNASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWQRQDNVSLSN^{NDT}QQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQN^{FTC}YMEHSGNHSTHPVPS^{NGS}

配列番号 201

>MICA. 008. a3. R202-S297. R202N mlgG2a. Glyc
o11

NRTTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWQRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGT
YQTWVATRICRGEEQR^{FTC}YMEHSGNHSTHPVPS

配列番号 202

>MICA. 008. a3. T204-S297. E215N. mlgG2a. Glyc
o12

TVPPMVNVTRSNASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWQRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQR^{FTC}YMEHSGNHSTHPVPS

配列番号 203

>MICA. 008. a3. T204-S297. I236T. mlgG2a. Glyc
o13

TVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNI^{TL}LTWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQR^{FTC}YMEHSGNHSTHPVPS

配列番号 204

>MICA. 008. a3. T204-S297. G243N. mlgG2a. Glyc
o14

TVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWQRQDNVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQR^{FTC}YMEHSGNHSTHPVPS

配列番号 205

>MICA. 008. a3. T204-S297. H248N. mlgG2a. Glyc
o15

TVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWQRQDGVSLSN^{NDT}QQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQR^{FTC}YMEHSGNHSTHPVPS

配列番号 206

>MICA. 008. a3. T204-S297. R279N. mlgG2a. Glyc
o16

TVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWQRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQN^{FTC}YMEHSGNHSTHPVPS

配列番号 207

>MICA. 008. a3. T204-S297. N298のC末端挿入. G299. S
300. mlgG2a. Glyc o17

TVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASSFYPRNIILTWQRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQ
TWVATRICRGEEQR^{FTC}YMEHSGNHSTHPVPS^{NGS}

配列番号 208

>MILL1-MICAキメラ. マウス I g G 2 a F c 融合

10

20

30

40

GSTVPPMVTVTSRNYPVGRVTLTCRASSPYPRNITLVWLQDGKPVQQKTFRSGDVLDPDGN
GTYQQTWVSIRVLPQGEPQFSCNLRHGNHSIMQTA VGNSRAQVTDKKIEPRGPTIKPCPPC
KCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTA
QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQ
VYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDS DGSYFMY
SKLRVEKKNWVERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTKSF SRTPGK

【図 1 A】

3 C 9. 1 0 超可変領域

Kabat 定義に従う CDR 配列には下線が引いてある

軽鎖可変領域 (配列番号 1 6)

Kabat 定義
3C9.10 DIOMTOTTSLASLGRVTISCSAGGISNLYLNWYOKPDG
Kabat 定義
3C9.10 TVKLLIYTSLSLHSGVPSRFSGGGTDYSLTISNLEEDIA
Kabat 定義
3C9.10 TYCYOQYSKLPTFGGGTKVEIK
重鎖可変領域 (配列番号 1 5)
Kabat 定義
3C9.10 QVOLKESGPLVAPSOISITCTVSGFSLTSSGVNWWVRQPPG
Kabat 定義
3C9.10 KGLEWLGMIWGDGNTDYNALKRSLISKDNKSKQIFLKMS
Kabat 定義
3C9.10 LQDDTARYCARGAYGKRWFDDVWGAGTTTVSS

【図 1 B】

9 C 9. 5. 6 超可変領域

軽鎖可変領域 (配列番号 6)

Kabat 定義
9C9.5.6 DIOMTOTTSLASLGRVTISCSAGGISNLYLNWYOKPDG
Kabat 定義
9C9.5.6 TVKLLIYTSLSLHSGVPSRFSGGGTDYSLTISNLEEDIA
Kabat 定義
9C9.5.6 SYCYOQYSKLPTFGGGTKVEIK
重鎖可変領域 (配列番号 5)
Kabat 定義
9C9.5.6 QVOLKESGPLVAPSOISITCTVSGFSLTSSGVNWWVRQPPG
Kabat 定義
9C9.5.6 KGLEWLGMIWGDGNTDYNALKRSLISKDNKSKQIFLKMS
Kabat 定義
9C9.5.6 LQDDTARYCARGAYGKRWFDDVWGAGTTTVSS

位置	HVR L1 SASGGINVN (配列番号 1)	HVR L2 YTSLSHS (配列番号 2)	HVR L3 QQSKLPPT (配列番号 3)	HVR L4 GGIN (配列番号 4)	HVR L5 MIMGNTDYSALKS (配列番号 5)	HVR L6 GATYGRWYDV (配列番号 6)
----	---------------------------------	-------------------------------	--------------------------------	----------------------------	-------------------------------------	----------------------------------

【☒ 1 C】

1 F 6. 1. 3 超可変領域

種節可変領域 (配列番号 1 1 2)

1E6.1.3 DIQMTGTTTSLSASLGRVTTSC
COR L1 - 1
COR L1 - Kunit

1E6.1.3 TVKLLIYTSLS
COR L2 - 1
COR L2 - Kunit

1E6.1.3 SYCCOYSKLPTFGG
COR L3 - 1
COR L3 - Kunit

重節可変領域 (配列番号 1 1 1)

1E6.1.3 QVQLSESGPLVAPSSLS
COR L1 - 1
COR L1 - Kunit

1E6.1.3 QGLEWLMWGGN
COR L2 - 1
COR L2 - Kunit

1E6.1.3 LQTDATARYCGARGAHYGRWYEDVWG
COR L3 - 1
COR L3 - Kunit

位置	HVR L1	HVR L2	HVR L3	HVR H1	HVR H2	HVR H3
1E6.1.3	SASGINNVLN	YTSLS	QQYSKLPT	GSQVN	MIWGGNTDYNLS	GAHYGRWYEDV
	(配列番号 1 0 0)	(配列番号 1 0 1)	(配列番号 1 0 2)	(配列番号 1 0 3)	(配列番号 1 0 4)	(配列番号 1 0 5)

【☒ 1 D】

7 A 3. 1. 9 超可変領域

種節可変領域 (配列番号 1 2 8)

7A3.1.9 DIQMTGTTTSLSASLGRVTTSC
COR L1 - 1
COR L1 - Kunit

7A3.1.9 TVKLLIYTSLS
COR L2 - 1
COR L2 - Kunit

7A3.1.9 TYCCOYSKLPTFGG
COR L3 - 1
COR L3 - Kunit

重節可変領域 (配列番号 1 2 7)

7A3.1.9 QVQLSESGPLVAPSSLS
COR L1 - 1
COR L1 - Kunit

7A3.1.9 QGLEWLMWGGN
COR L2 - 1
COR L2 - Kunit

7A3.1.9 LQTDATARYCGARGAHYGRWYEDVWG
COR L3 - 1
COR L3 - Kunit

位置	HVR L1	HVR L2	HVR L3	HVR H1	HVR H2	HVR H3
7A3.1.9	SASGINNVLN	YTSLS	QQYSKLPT	GSQVN	MIWGGNTDYNLS	GAHYGRWYEDV
	(配列番号 1 0 0)	(配列番号 1 0 1)	(配列番号 1 0 2)	(配列番号 1 0 3)	(配列番号 1 0 4)	(配列番号 1 0 5)

【☒ 1 E】

6 E 1. 2. 5 超可変領域

種節可変領域 (配列番号 1 4 4)

6E12.5 DIQMTGTTTSLSASLGRVTTSC
COR L1 - 1
COR L1 - Kunit

6E12.5 TVKLLIYTSLS
COR L2 - 1
COR L2 - Kunit

6E12.5 SYCCOYSKLPTFGG
COR L3 - 1
COR L3 - Kunit

重節可変領域 (配列番号 1 4 3)

6E12.5 QVQLSESGPLVAPSSLS
COR L1 - 1
COR L1 - Kunit

6E12.5 QGLEWLMWGGN
COR L2 - 1
COR L2 - Kunit

6E12.5 LQTDATARYCGARGAHYGRWYEDVWG
COR L3 - 1
COR L3 - Kunit

位置	HVR L1	HVR L2	HVR L3	HVR H1	HVR H2	HVR H3
6E12.5	HASGINHWLS	GASHHT	LOGQSYLT	DYMW	TSDGITYTSVSRG	GGGSTARGLDF
	(配列番号 1 3 2)	(配列番号 1 3 3)	(配列番号 1 3 4)	(配列番号 1 3 5)	(配列番号 1 3 6)	(配列番号 1 3 7)

【☒ 1 F】

6 E 1. 1. 1 2 超可変領域

種節可変領域 (配列番号 1 6 0)

6E11.1.2 DVLMQTPLSLPVSLGQAS
COR L1 - 1
COR L1 - Kunit

6E11.1.2 QKPGQSPKLLIKV
COR L2 - 1
COR L2 - Kunit

6E11.1.2 AEDLVYCFQGSHPWT
COR L3 - 1
COR L3 - Kunit

重節可変領域 (配列番号 1 5 0)

6E11.1.2 QVQLSESGPLVAPSSLS
COR L1 - 1
COR L1 - Kunit

6E11.1.2 QGLEWLMWGGN
COR L2 - 1
COR L2 - Kunit

6E11.1.2 LQTDATARYCGARGAHYGRWYEDVWG
COR L3 - 1
COR L3 - Kunit

位置	HVR L1	HVR L2	HVR L3	HVR H1	HVR H2	HVR H3
6E11.1.2	RSCCHVHNTYLE	KYSNRS	FGGSHPWT	DWIS	WYAGTGGSSNKRFD	HDYGTSGAWFAY
	(配列番号 1 4 1)	(配列番号 1 4 2)	(配列番号 1 4 3)	(配列番号 1 4 4)	(配列番号 1 4 5)	(配列番号 1 4 6)

【☒ 1 G】

7 D+4, 6 超可変領域

軽鎖可変領域 (配列番号 3-2)

2046 DIQMTOSPASLSASVGEVTITCRASGNIHNYLAWYQKQG

7046 SPQLLYVNAIADGVPRKFSASGSGTQYSLKINSLEDPS

7046 SYCDHFWSFPLTFAGGKVEIK

重鎖可変領域 (配列番号 3-1)

7046 DVQLQESGGLVKPSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIQFP

7046 RNKLEWMGYINSGTINYPSPKLSISITRDTSKNQFLQI

7046 SVTIEDTAYYSYRYGAWFPPVWQQTLLTVSA

【☒ 1 H】

2 E+5, 2, 3 超可変領域

軽鎖可変領域 (配列番号 1-6)

2E5.23 DVLMTQTPLSLPVSLODASLSCRSOINIVHINONTYLEYL

2E5.23 QPQGSPLRIYVSNRISGVPRNLSGSGSDTLKISRVE

2E5.23 AEDLGVIYCFQSGSHVPWTFGGTKVEIK

重鎖可変領域 (配列番号 1-3)

2E5.23 GQMQQSGAELVKPGASKLSCKTSGFTFSDNYLSWLKQKP

2E5.23 QSLWIAWIVAGTGGTSYQKFTAKALTVDTSSSTAYMQFS

2E5.23 SLTTEDSAIYYCARHDYVYGTSGAWFAYWQGGTLLTVSA

【☒ 1 I】

2 O G 1 1 超可変領域

軽鎖可変領域 (配列番号 1-9-2)

20G11 QIVLTOSPAMASLGRVMTCTATSGVSSSYLHWYQKPG

20G11 SSPKLWISSSNLASQPARFSOSSGTSYSLTIGSMEADA

20G11 AYYCHGFHSPLTFQCTKVEIK

重鎖可変領域 (配列番号 1-9-1)

20G11 DVLVESGGGLVQGGSRKLSCAASGFTFTFGIHWVRGAPE

20G11 KGLEWVAYSYSRTIYYADTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMT

20G11 SLRSEDTAMCYCARWAYEGGVNYFDNWWGGTLLTVSS

【☒ 1 J】

3 2 D 2 超可変領域

軽鎖可変領域 (配列番号 6-4)

32D2 QIVLTOSPAPKSSSLGERVMTCTASSISSSYLHWYQKPG

32D2 SSPALWIYISNLAGVPARFSGSGGYSYSLTISTMEAEADA

32D2 ATTYCHGRHSPLTFSGGTKVEIK

重鎖可変領域 (配列番号 6-3)

32D2 DVHLVESGGGLVQGGSRKLSCAASGFTFTFGNWWVRGAPE

32D2 KGLEWVAYSNSNTIYYADTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMT

32D2 SLRSEDTAMCYCTRWEPTVGGSYWGQGTLLTVSA

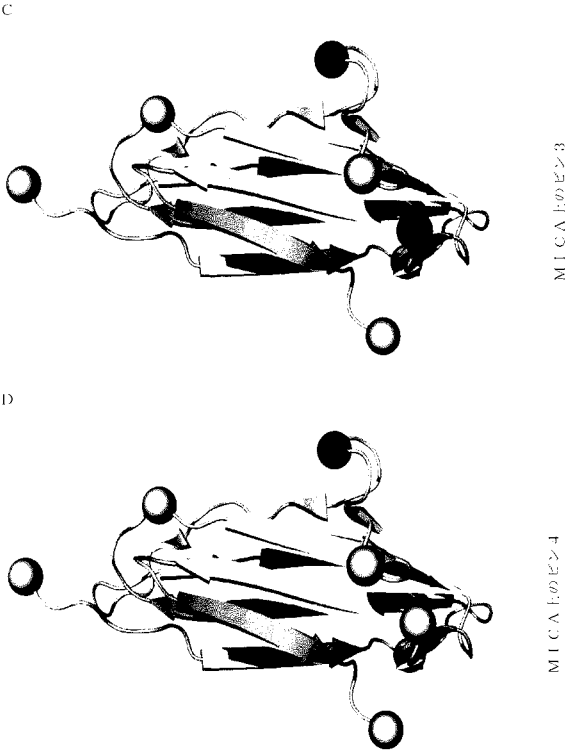
位置	HVR L1	HVR L2	HVR L3	HVR H1	HVR H2	HVR H3
32D2	TASSSSSSSYLH (配列番号 6-2)	TTSKLAS (配列番号 6-3)	HOHRSPLT (配列番号 6-4)	TFQMN (配列番号 6-5)	YINSGTIVADTVK (配列番号 6-6)	WEPTVGGSY (配列番号 6-7)

位置	HVR L1	HVR L2	HVR L3	HVR H1	HVR H2	HVR H3
2E5.23	RSSGNVINGTYLE (配列番号 1-4-6)	KSNRKS (配列番号 1-8-1)	FQGSHPWT (配列番号 1-8-2)	DNVYS (配列番号 1-7-2)	WIYAGTGSYNQKFTA (配列番号 1-7-8)	HOYGTGSWAFY (配列番号 1-7-9)

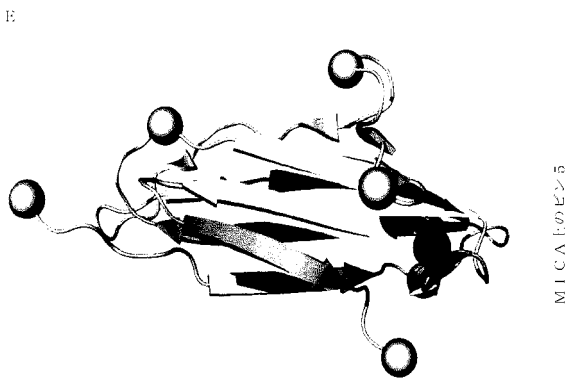
位置	HVR L1	HVR L2	HVR L3	HVR H1	HVR H2	HVR H3
7046	TATSGVSSSYLH (配列番号 1-9-3)	SSSNLAS (配列番号 1-9-4)	HOHRSPLT (配列番号 1-9-5)	TFGIH (配列番号 1-9-6)	YISYDSRTIYADTVK (配列番号 1-9-7)	WAYEGGVNFDN (配列番号 1-9-8)

位置	HVR L1	HVR L2	HVR L3	HVR H1	HVR H2	HVR H3
7046	YISYDSRTIYADTVK (配列番号 2-0-1)	NAIMLAD (配列番号 2-0-2)	OHFWSPLT (配列番号 2-0-3)	SDYAWN (配列番号 1-2-1)	YINSGTINYPSPKS (配列番号 1-8-3)	YRYDGAWFYY (配列番号 1-9-1)

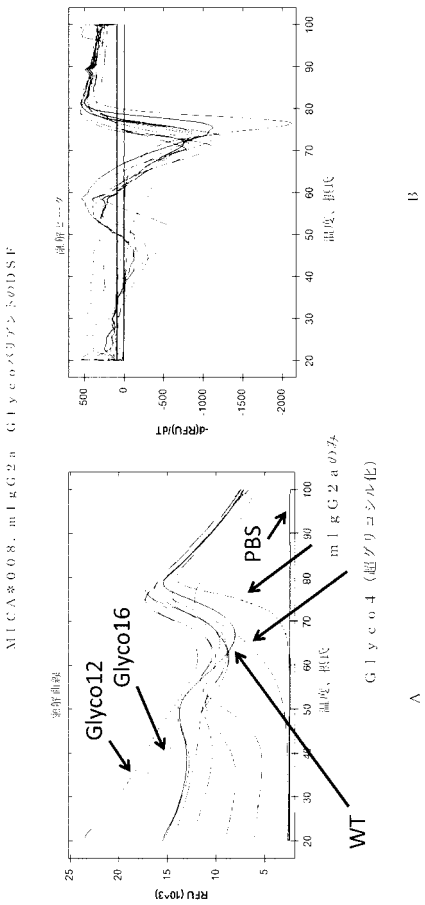
【図 3 - 2】



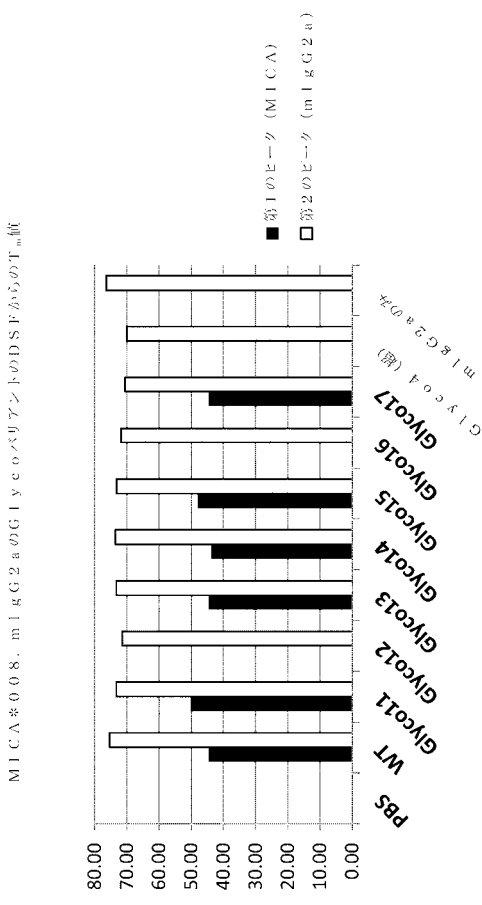
【図 3 - 3】



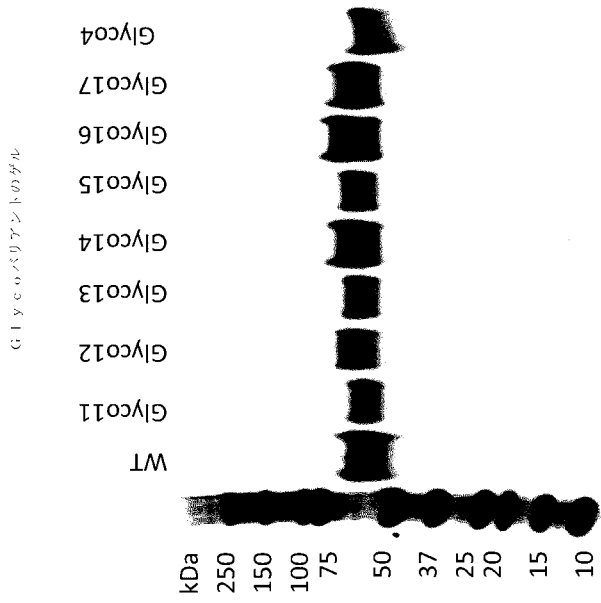
【図 4】



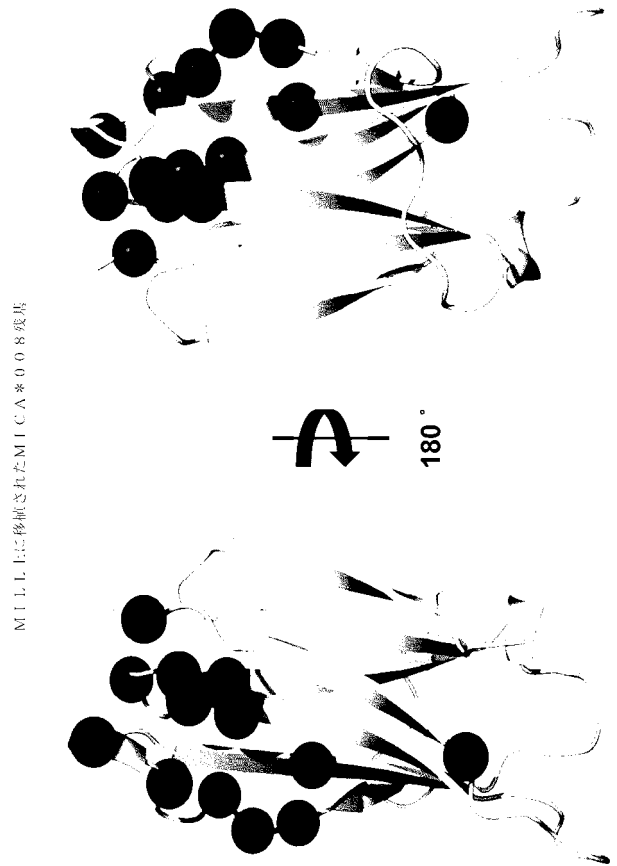
【図 5】



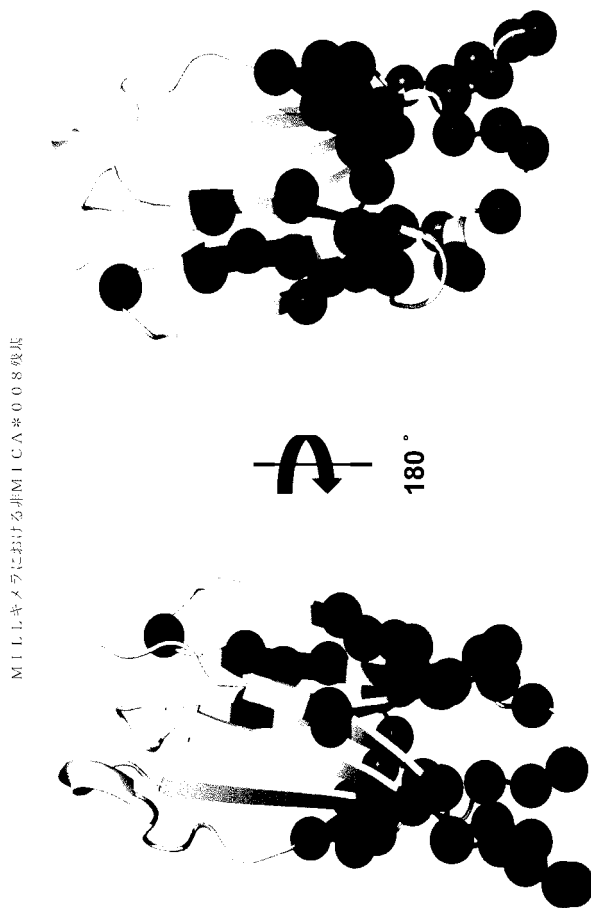
【図 6】



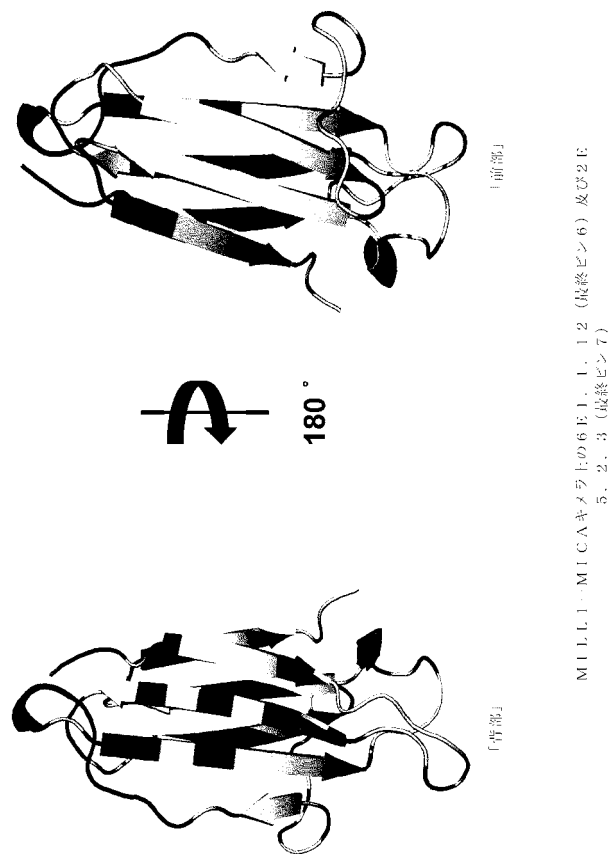
【図 7 A】



【図 7 B】



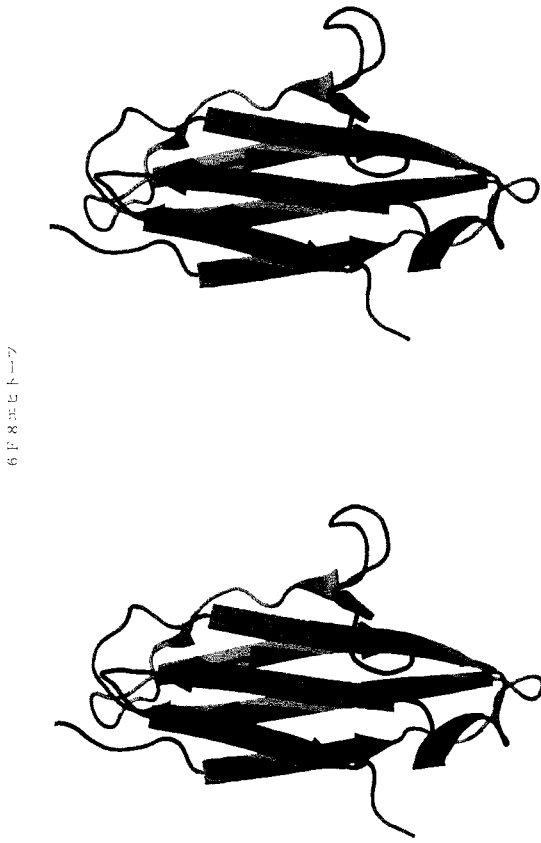
【図 8】



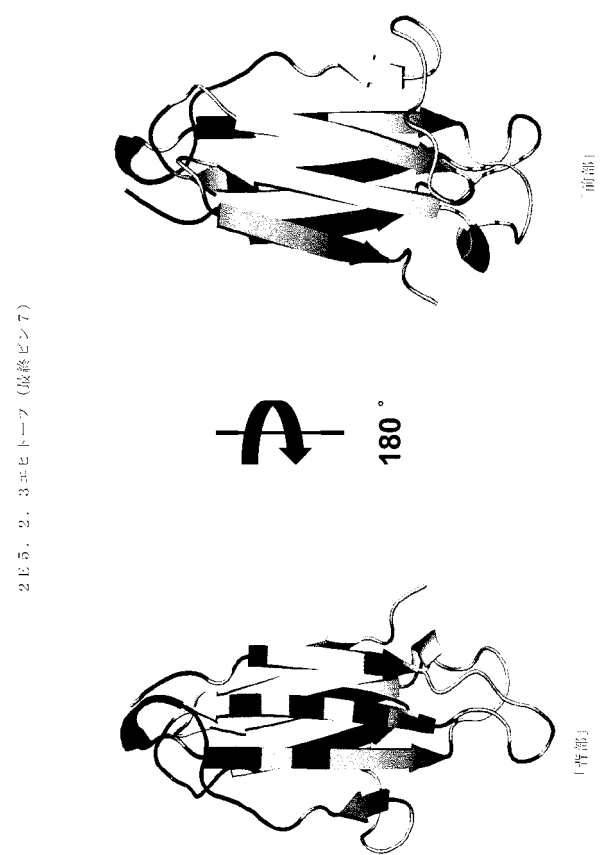
【図 9】

	6F8	7D4	2E5,2,3	1D5	電 / 圧、%
WT	1	1	1	1	91.57
I236A	1.4	1.2	0.9	0.01	92.49
T238A	0.1	0.1	1.3	0.4	96
R240A	4.5	1499	1	15500	93.8
Q241A	1.1	0.4	1.1	9830	97.6
V244A	5.5	8.6	1	10400	97.6
S245A	1.2	1.6	1	13	93.96
S247A	0.9	0.8	1.1	0.2	94.87
H248A	0.6	0.6	1	16	92.05
D249A	0.8	0.7	1	3.5	86.64
T250A	0.5	0.6	1.2	8.8	91.61
R274A	1	0.9	1.1	3	94
G275A	4.6	3.1	1	0.03	98.9
E276A	4.3	0.7	1.2	22	86.14
E277A	2.7	1.3	1.1	1.9	81.58
Q278A	0.5	4.9	1	0.7	92.32
R279A	4.5	5.1	0.8	3950	95.2
Y283A	1.7	3.2	0.2	6260	92.7
E285A	3.9	7.9	0.9	1060	83.78
S287A	1.1	1.3	1	4.9	90.34
G288A	1	0.8	0.6	1	95.3
N289A	1.2	3.5	1.1	0.2	89.74
H290A	8.4	8.8	0.8	14400	90.37
S291A	2.7	2.7	1.1	1.1	83.21
T292A	1.7	2.1	1.3	3040	80.56
P294A	0.9	1	1	1	88.16
P296A	1	0.7	0.8	1.9	92.3
S297A	1	1.1	1.2	0.05	89.24

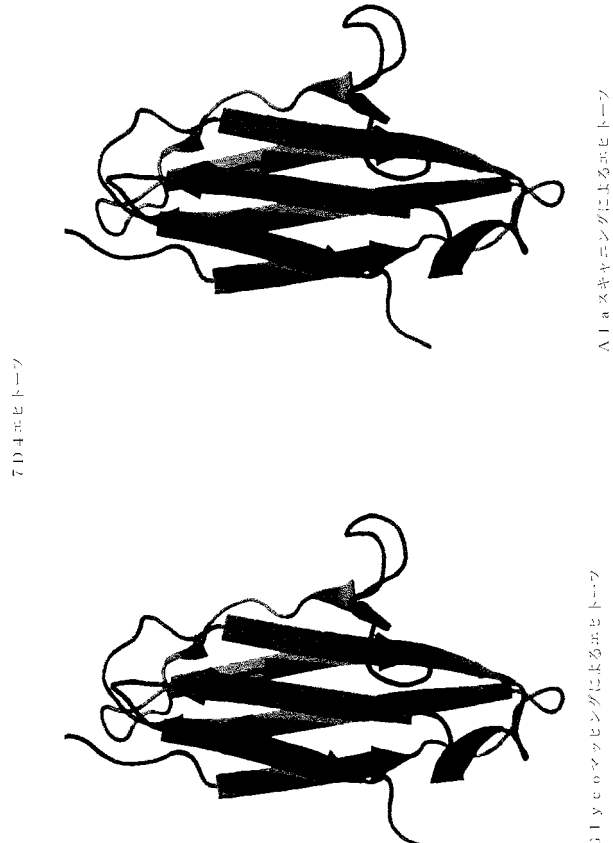
【図 1 1 A】



【図 1 0】



【図 1 1 B】



【图 1 2】

配列特定因子の概要 (抗MHC-A抗体配列の配列番号)

Ab	HVR-H1	HVR-H2	HVR-H3	HVR-L1	HVR-L2	HVR-L3	FR-L1	FR-L2	FR-L3	FR-L4	FR-H1	FR-H2	FR-H3	FR-H4	UH	VL
3C9.10	1.	2.	3	4.	5	6	7	8	9	10	11.	12	13	14	15	16
704.6	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
68.7	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
3202	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64
3E11	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
9C9.5.6	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96
1E6.1.3	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112
7A3.1.9	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128
6E12.5	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144
20G11	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160
6E1.1.12	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176
2E5.2.3	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192

【図 1 3 A】

附：表

HCC1524 (MCA004)								
1D5 ug/mL > 13A9 ug/mL V	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	±s
10	52%	53%	55%	55%	57%	57%	59%	56%
2.5	54%	57%	57%	53%	50%	53%	51%	47%
0.625	60%	58%	59%	57%	52%	42%	39%	34%
0.15625	58%	62%	62%	59%	49%	36%	31%	14%
0.0390625	60%	60%	62%	59%	50%	30%	15%	20%
0.009765625	56%	66%	64%	63%	50%	32%	12%	14%
0.002441406	55%	54%	61%	61%	50%	34%	16%	7%
±s	58%	61%	62%	63%	50%	36%	15%	-5%
1D5 ug/mL > 6E1 ug/mL V	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	±s
10	72%	72%	75%	72%	68%	62%	63%	50%
2.5	68%	72%	73%	68%	64%	57%	54%	43%
0.625	66%	70%	69%	64%	59%	52%	40%	36%
0.15625	63%	65%	68%	66%	50%	45%	23%	25%
0.0390625	61%	61%	63%	61%	47%	25%	19%	10%
0.009765625	63%	61%	60%	58%	42%	23%	9%	4%
0.002441406	59%	59%	58%	55%	40%	19%	-4%	-9%
±s	58%	56%	56%	48%	40%	13%	-5%	-17%
13A9 ug/mL > 6E1 ug/mL V	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	±s
10	66%	61%	59%	57%	55%	53%	49%	50%
2.5	62%	60%	58%	53%	50%	51%	52%	59%
0.625	61%	58%	51%	54%	50%	41%	42%	39%
0.15625	62%	53%	46%	36%	37%	29%	31%	23%
0.0390625	54%	51%	43%	35%	31%	22%	20%	15%
0.009765625	57%	52%	40%	32%	24%	15%	12%	11%
0.002441406	66%	54%	38%	30%	20%	17%	-1%	-4%
±s	52%	47%	27%	26%	21%	14%	6%	-4%

【 図 1 3 B 】

MEL-JUSO (MICA*208)									
1D5 ug/mL>	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441		
13A9 ug/mL V	10	65%	62%	55%	51%	45%	44%	38%	
2.5	70%	70%	70%	66%	55%	48%	46%	39%	
0.625	69%	73%	73%	73%	62%	45%	40%	27%	
0.15625	72%	76%	73%	70%	60%	39%	28%	19%	
0.0390625	70%	74%	79%	75%	67%	41%	24%	10%	
0.009766625	72%	75%	78%	74%	65%	45%	26%	11%	
0.002441406	72%	78%	79%	75%	65%	45%	26%	8%	
$\downarrow$	72%	77%	76%	76%	71%	48%	28%	11%	
1D5 ug/mL>	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441		
6E1 ug/mL V	10	81%	82%	84%	82%	75%	64%	57%	49%
2.5	79%	81%	82%	79%	71%	59%	52%	44%	
0.625	76%	79%	80%	77%	68%	52%	45%	36%	
0.15625	76%	78%	78%	75%	67%	42%	31%	22%	
0.0390625	70%	77%	72%	71%	57%	36%	19%	8%	
0.009766625	72%	74%	74%	71%	54%	30%	12%	6%	
0.002441406	72%	73%	73%	70%	52%	25%	6%	4%	
$\downarrow$	70%	72%	68%	64%	44%	17%	-1%	-21%	
13A9 ug/mL>	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441		
6E1 ug/mL V	10	40%	29%	27%	32%	31%	32%	32%	29%
2.5	37%	36%	31%	37%	38%	36%	40%	35%	
0.625	40%	41%	34%	33%	28%	31%	30%	29%	
0.15625	39%	39%	29%	22%	17%	23%	24%	24%	
0.0390625	37%	42%	27%	24%	13%	9%	14%	13%	
0.009766625	40%	36%	26%	11%	12%	16%	15%	13%	
0.002441406	41%	38%	23%	14%	13%	19%	12%	10%	
$\downarrow$	35%	38%	25%	17%	18%	19%	15%	16%	

【図 1 3 C】

3.16

HC1634 (MICB-005)									
1D5 ug/mL > 13A9 ug/mL V		10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	λ_{c}
10	53%	59%	66%	73%	73%	74%	75%	75%	
2.5	47%	57%	63%	69%	70%	74%	76%	77%	
0.625	53%	53%	56%	61%	65%	68%	70%	69%	
0.15625	52%	53%	52%	50%	51%	53%	56%	54%	
0.0390625	52%	53%	52%	48%	40%	33%	39%	39%	
0.009765625	52%	53%	55%	48%	38%	31%	31%	27%	
0.002441406	52%	57%	53%	48%	38%	32%	25%	13%	
λ_{c}	48%	51%	51%	48%	40%	29%	15%	7%	
1D5 ug/mL > 8E7 ug/mL V		10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	λ_{c}
10	78%	77%	78%	78%	71%	67%	63%	57%	
2.5	76%	77%	78%	73%	70%	64%	60%	52%	
0.625	72%	75%	74%	71%	65%	60%	54%	46%	
0.15625	68%	69%	71%	67%	57%	43%	43%	35%	
0.0390625	60%	60%	60%	58%	39%	33%	26%	15%	
0.009765625	56%	57%	54%	48%	34%	21%	11%	-1%	
0.002441406	56%	51%	52%	48%	36%	17%	3%	-11%	
λ_{c}	53%	51%	52%	43%	25%	7%	-9%	-15%	
13A9 ug/mL > 8E7 ug/mL V		10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	λ_{c}
10	76%	70%	68%	65%	61%	51%	43%	42%	
2.5	75%	73%	71%	65%	64%	58%	50%	48%	
0.625	78%	76%	71%	68%	63%	56%	51%	42%	
0.15625	73%	75%	69%	58%	53%	41%	40%	32%	
0.0390625	73%	73%	66%	56%	44%	34%	25%	23%	
0.009765625	74%	75%	67%	53%	41%	29%	31%	10%	
0.002441406	75%	74%	68%	56%	38%	25%	19%	2%	
λ_{c}	72%	74%	65%	54%	35%	27%	9%	2%	

【図 14 A】

Rab17 定義に従う CDR 配列には下線が引いてある
軽鎖可変領域

Rab17 番号	変異番号	変異配列
105	105v1	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQASH
105v1	105v2	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v2	105v3	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v3	105v4	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v4	105v5	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v5	105v6	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v6	105v7	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v7	105v8	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v8	105v9	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v9	105v10	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v10	105v11	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v11	105v12	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v12	105v13	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v13	105v14	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v14	105v15	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v15	105v16	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v16	105v17	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v17	105v18	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v18	105v19	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v19	105v20	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v20	105v21	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v21	105v22	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v22	105v23	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v23	105v24	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v24	105v25	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v25	105v26	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v26	105v27	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v27	105v28	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v28	105v29	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
105v29	1349	QVQLQQSGAEVLRPGTSVKVSKASGYAFTSNYLLIE.WVWQRP
1349	1349v1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNYLLIE.WVWQAP
1349v1	1349v2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNYLLIE.WVWQAP
1349v2	1349v3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNYLLIE.WVWQAP
1349v3	1349v4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNYLLIE.WVWQAP
1349v4	1349v5	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNYLLIE.WVWQAP
1349v5	1349v6	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNYLLIE.WVWQAP
1349v6	15F11	ELQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQASH
15F11	15F11v1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
15F11v1	15F11v2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
15F11v2	15F11v3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
15F11v3	15F11v4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
15F11v4	15F11v5	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
15F11v5	15F11v6	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSNQIY.WVWQAP
15F11v6	6E11.12	QCQMQQSGAEVLRPGASVKLSCKTCTVTSYLLIE.WVWQAP
6E11.12	18G3	VQLQESGPGVLRPGASVKLSCKTCTVTSYLLIE.WVWQAP
18G3	12H10	DVQLQESGPGVLRPGASVKLSCKTCTVTSYLLIE.WVWQAP

【図 14 B】

Rab17 番号	変異番号	変異配列
105	105v1	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v1	105v2	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v2	105v3	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v3	105v4	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v4	105v5	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v5	105v6	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v6	105v7	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v7	105v8	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v8	105v9	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v9	105v10	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v10	105v11	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v11	105v12	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v12	105v13	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v13	105v14	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v14	105v15	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v15	105v16	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v16	105v17	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v17	105v18	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v18	105v19	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v19	105v20	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v20	105v21	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v21	105v22	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v22	105v23	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v23	105v24	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v24	105v25	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v25	105v26	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v26	105v27	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v27	105v28	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v28	105v29	GKSLWIGYIEPYNNVPMY.NPKFKGKATLTVDKSTSTAYME
105v29	1349	NEKFKDRAVLTADKSTSTAYME
1349	1349v1	NEKFKDRAVLTADKSTSTAYME
1349v1	1349v2	NEKFKDRAVLTADKSTSTAYME
1349v2	1349v3	NEKFKDRAVLTADKSTSTAYME
1349v3	1349v4	NEKFKDRAVLTADKSTSTAYME
1349v4	1349v5	NEKFKDRAVLTADKSTSTAYME
1349v5	1349v6	NEKFKDRAVLTADKSTSTAYME
1349v6	15F11	RKSLWIGYIDPYIGRIIY.NQOQKDRATLTVDKSTSTAYME
15F11	15F11v1	GKSLWIGYIDPYIGRIIY.NQOQKDRATLTVDKSTSTAYME
15F11v1	15F11v2	GKSLWIGYIDPYIGRIIY.NQOQKDRATLTVDKSTSTAYME
15F11v2	15F11v3	GKSLWIGYIDPYIGRIIY.NQOQKDRATLTVDKSTSTAYME
15F11v3	15F11v4	GKSLWIGYIDPYIGRIIY.NQOQKDRATLTVDKSTSTAYME
15F11v4	15F11v5	GKSLWIGYIDPYIGRIIY.NQOQKDRATLTVDKSTSTAYME
15F11v5	15F11v6	GKSLWIGYIDPYIGRIIY.NQOQKDRATLTVDKSTSTAYME
15F11v6	6E11.12	GKSLWIAWYAGTGGSSY.NPKFKDRAVLTADKSTSTAYME
6E11.12	18G3	GKSLWIAWYAGTGGSSY.NPKFKDRAVLTADKSTSTAYME
18G3	12H10	GKSLWIAWYAGTGGSSY.NPKFKDRAVLTADKSTSTAYME

【図 14 C】

Rab17 番号	変異番号	変異配列
105	105v1	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v1	105v2	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v2	105v3	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v3	105v4	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v4	105v5	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v5	105v6	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v6	105v7	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v7	105v8	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v8	105v9	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v9	105v10	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v10	105v11	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v11	105v12	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v12	105v13	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v13	105v14	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v14	105v15	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v15	105v16	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v16	105v17	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v17	105v18	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v18	105v19	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v19	105v20	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v20	105v21	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v21	105v22	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v22	105v23	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v23	105v24	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v24	105v25	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v25	105v26	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v26	105v27	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v27	105v28	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v28	105v29	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
105v29	1349	FSSLTSEDATVYYCARFGLGNYF.DNWQGGTLVTVSS
1349	1349v1	LSLSLTSEDATVYYCARFGLGNYF.DNWQGGTLVTVSS
1349v1	1349v2	LSLSLTSEDATVYYCARFGLGNYF.DNWQGGTLVTVSS
1349v2	1349v3	LSLSLTSEDATVYYCARFGLGNYF.DNWQGGTLVTVSS
1349v3	1349v4	LSLSLTSEDATVYYCARFGLGNYF.DNWQGGTLVTVSS
1349v4	1349v5	LSLSLTSEDATVYYCARFGLGNYF.DNWQGGTLVTVSS
1349v5	1349v6	LSLSLTSEDATVYYCARFGLGNYF.DNWQGGTLVTVSS
1349v6	15F11	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
15F11	15F11v1	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
15F11v1	15F11v2	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
15F11v2	15F11v3	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
15F11v3	15F11v4	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
15F11v4	15F11v5	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
15F11v5	15F11v6	LSLSLTSEDATVYYCARSGGSNF.DYWGQGTTLVTVSS
15F11v6	6E11.12	LSLSLTSEDATVYYCARHYYGSGAWFAYWGGLTVTVSS
6E11.12	18G3	LSVTPEDATVYYCARWRNWG.DYWGGLTVTVSS
18G3	12H10	LSLSLTSEDATVYYCARHYYGSGAWFAYWGGLTVTVSS

【図 14 D】

Rab17 定義に従う CDR 配列には下線が引いてある

Rab17 番号	変異番号	変異配列
105	105v1	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v1	105v2	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v2	105v3	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v3	105v4	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v4	105v5	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v5	105v6	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v6	105v7	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v7	105v8	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v8	105v9	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v9	105v10	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v10	105v11	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v11	105v12	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v12	105v13	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v13	105v14	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v14	105v15	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v15	105v16	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v16	105v17	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v17	105v18	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v18	105v19	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v19	105v20	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v20	105v21	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v21	105v22	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v22	105v23	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v23	105v24	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v24	105v25	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v25	105v26	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v26	105v27	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v27	105v28	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v28	105v29	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
105v29	1349	DIQMTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
1349	1349v1	DIQMTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
1349v1	1349v2	DIQMTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
1349v2	1349v3	DIQMTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
1349v3	1349v4	DIQMTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
1349v4	1349v5	DIQMTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
1349v5	1349v6	DIQMTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
1349v6	15F11	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
15F11	15F11v1	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
15F11v1	15F11v2	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
15F11v2	15F11v3	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
15F11v3	15F11v4	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
15F11v4	15F11v5	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
15F11v5	15F11v6	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
15F11v6	6E11.12	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
6E11.12	18G3	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ
18G3	12H10	ELVLTQSPPTMAASPGKVTITCSASSS.ISSHYLHWYQ

【図 1 4 F】

[illegible]

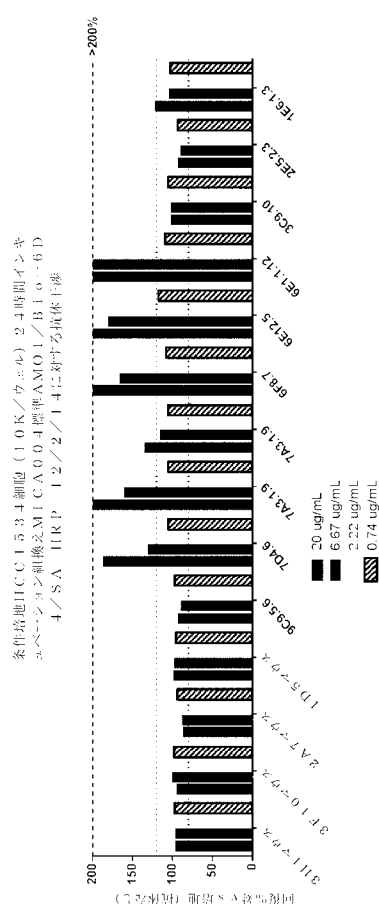
CDR L3 - Kabat

CDR L3 - Chothia

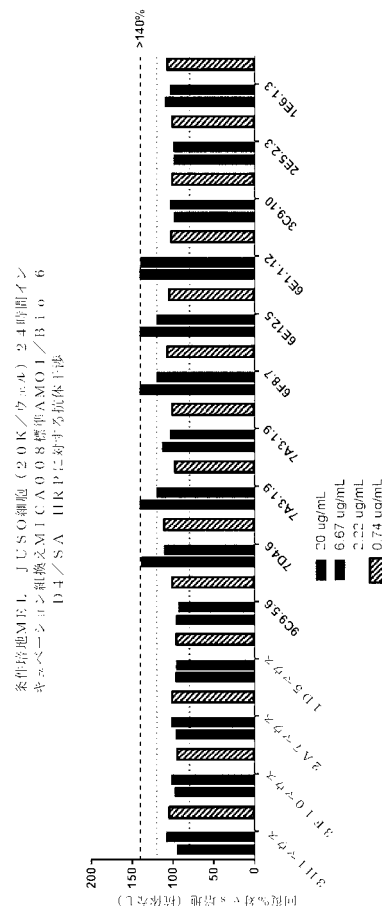
Kabat 位置

20303040506070809010011012013014015016017018019020021022023024025026027028029030031032033034035036037038039040041042043044045046047048049050051052053054055056057058059060061062063064065066067068069070071072073074075076077078079080081082083084085086087088089090091092093094095096097098099010001010102010301040105010601070108010901100111011201130114011501160117011801190120012101220123012401250126012701280129013001310132013301340135013601370138013901400141014201430144014501460147014801490150015101520153015401550156015701580159016001610162016301640165016601670168016901700171017201730174017501760177017801790180018101820183018401850186018701880189019001910192019301940195019601970198019902000201020202030204020502060207020802090210021102120213021402150216021702180219022002210222022302240225022602270228022902300231023202330234023502360237023802390240024102420243024402450246024702480249025002510252025302540255025602570258025902600261026202630264026502660267026802690270027102720273027402750276027702780279028002810282028302840285028602870288028902900291029202930294029502960297029802990300030103020303030403050306030703080309031003110312031303140315031603170318031903200321032203230324032503260327032803290330033103320333033403350336033703380339034003410342034303440345034603470348034903500351035203530354035503560357035803590360036103620363036403650366036703680369037003710372037303740375037603770378037903800381038203830384038503860387038803890390039103920393039403950396039703980399040004010402040304040405040604070408040904100411041204130414041504160417041804190420042104220423042404250426042704280429043004310432043304340435043604370438043904400441044204430444044504460447044804490450045104520453045404550456045704580459046004610462046304640465046604670468046904700471047204730474047504760477047804790480048104820483048404850486048704880489049004910492049304940495049604970498049905000501050205030504050505060507050805090510051105120513051405150516051705180519052005210522052305240525052605270528052905300531053205330534053505360537053805390540054105420543054405450546054705480549055005510552055305540555055605570558055905600561056205630564056505660567056805690570057105720573057405750576057705780579058005810582058305840585058605870588058905900591059205930594059505960597059805990600060106020603060406050606060706080609061006110612061306140615061606170618061906200621062206230624062506260627062806290630063106320633063406350636063706380639064006410642064306440645064606470648064906500651065206530654065506560657065806590660066106620663066406650666066706680669067006710672067306740675067606770678067906800681068206830684068506860687068806890690069106920693069406950696069706980699070007010702070307040705070607070708070907100711071207130714071507160717071807190720072107220723072407250726072707280729073007310732073307340735073607370738073907400741074207430744074507460747074807490750075107520753075407550756075707580759076007610762076307640765076607670768076907700771077207730774077507760777077807790780078107820783078407850786078707880789079007910792079307940795079607970798079908000801080208030804080508060807080808090810081108120813081408150816081708180819082008210822082308240825082608270828082908300831083208330834083508360837083808390840084108420843084408450846084708480849085008510852085308540855085608570858085908600861086208630864086508660867086808690870087108720873087408750876087708780879088008810882088308840885088608870888088908900891089208930894089508960897089808990900090109020903090409050906090709080909091009110912091309140915091609170918091909200921092209230924092509260927092809290930093109320933093409350936093709380939094009410942094309440945094609470948094909500951095209530954095509560957095809590960096109620963096409650966096709680969097009710972097309740975097609770978097909800981098209830984098509860987098809890990099109920993099409950996099709980999010000100101002010030100401005010060100701008010090101001011010120101301014010150101601017010180101901020010210102201023010240102501026010270102801029010300103101032010330103401035010360103701038010390104001041010420104301044010450104601047010480104901050010510105201053010540105501056010570105801059010600106101062010630106401065010660106701068010690107001071010720107301074010750107601077010780107901080010810108201083010840108501086010870108801089010900109101092010930109401095010960109701098010990110001101011020110301104011050110601107011080110901110011110111201113011140111501116011170111801119011200112101122011230112401125011260112701128011290113001131011320113301134011350113601137011380113901140011410114201143011440114501146011470114801149011500115101152011530115401155011560115701158011590116001161011620116301164011650116601167011680116901170011710117201173011740117501176011770117801179011800118101182011830118401185011860118701188011890119001191011920119301194011950119601197011980119901200012010120201203012040120501206012070120801209012100121101212012130121401215012160121701218012190122001221012220122301224012250122601227012280122901230012310123201233012340123501236012370123801239012400124101242012430124401245012460124701248012490125001251012520125301254012550125601257012580125901260012610126201263012640126501266012670126801269012700127101272012730127401275012760127701278012790128001281012820128301284012850128601287012880128901290012910129201293012940129501296012970129801299013000130101302013030130401305013060130701308013090131001311013120131301314013150131601317013180131901320013210132201323013240132501326013270132801329013300133101332013330133401335013360133701338013390134001341013420134301344013450134601347013480134901350013510135201353013540135501356013570135801359013600136101362013630136401365013660136701368013690137001371013720137301374013750137601377013780137901380013810138201383013840138501386013870138801389013900139101392013930139401395013960139701398013990140001401014020140301404014050140601407014080140901410014110141201413014140141501416014170141801419014200142101422014230142401425014260142701428014290143001431014320143301434014350143601437014380143901440014410144201443014440144501446014470144801449014500145101452014530145401455014560145701458014590146001461014620146301464014650146601467014680146901470014710147201473014740147501476014770147801479014800148101482014830148401485014860148701488014890149001491014920149301494014950149601497014980149901500015010150201503015040150501506015070150801509015100151101512015130151401515015160151701518015190152001521015220152301524015250152601527015280152901530015310153201533015340153501536015370153801539015400154101542015430154401545015460154701548015490155001551015520155301554015550155601557015580155901560015610156201563015640156501566015670156801569015700157101572015730157401575015760157701578015790158001581015820158301584015850158601587015880158901590015910159201593015940159501596015970159801599016000160101602016030160401605016060160701608016090161001611016120161301614016150161601617016180161901620016210162201623016240162501626016270162801629016300163101632016330163401635016360163701638016390164001641016420164301644016450164601647016480164901650016510165201653016540165501656016570165801659016600166101662016630166401665016660166701668016690167001671016720167301674016750167601677016780167901680016810168201683016840168501686016870168801689016900169101692016930169401695016960169701698016990170001701017020170301704017050170601707017080170901710017110171201713017140171501716017170171801719017200172101722017230172401725017260172701728017290173001731017320173301734017350173601737017380173901740017410174201743017440174501746017470174801749017500175101752017530175401755017560175701758017590176001761017620176301764017650176601767017680176901770017710177201773017740177501776017770177801779017800178101782017830178401785017860178701788017890179001791017920179301794017950179601797017980179901800018010180201803018040180501806018070180801809018100181101812018130181401815018160181701818018190182001821018220182301824018250182601827018280182901830018310183201833018340183501836018370183801839018400184101842018430184401845018460184701848018490185001851018520185301854018550185601857018580185901860018610186201863018640186501866018670186801869018700187101872018730187401875018760187701878018790188001881018820188301884018850188601887018880188901890018910189201893018940189501896018970189801899019000190101902019030190401905019060190701908019090191001911019120191301914019150191601917019180191901920019210192201923019240192501926019270192801929019300193101932019330193401935019360193701938019390194001941019420194301944019450194601947019480194901950019510195201953019540195501956019570195801959019600196101962019630196401965019660196701968019690197001971019720197301974019750197601977019780197901980019810198201983019840198501986019870198801989019900199101992019930199401995019960199701998019990200002001020020200302004020050200602007020080200902010020110201202013020140201502016020170201802019020200202102022020230202402025020260202702028020290203002031020320203302034020350203602037020380203902040020410204202043020440204502046020470204802049020500205102052020530205402055020560205702058020590206002061020620206302064020650206602067020680206902070020710207202073020740207502076020770207802079020800208102082020830208402085020860208702088020890209002091020920209302094020950209602097020980209902100021010210202103021040210502106021070210802109021100211102112021130211402115021160211702118021190212002121021220212302124021250212602127021280212902130021310213202133021340213502136021370213802139021400214102142021430214402145021460214702148021490215002151021520215302154021550215602157021580215902160021610216202163021640216502166021670216802169021700217102172021730217402175021760217702178021790218002181021820218302184021850218602187021880218902190021910219202193021940219502196021970219802199022000220102202022030220402205022060220702208022090221002211022120221302214022150221602217022180221902220022210222202223022240222502226022270222802229022300223102232022330223402235022360223702238022390224002241022420224302244022450224602247022480224902250022510225202253022540225502256022570225802259022600226102262022630226402265022660226702268022690227002271022720227302274022750227602277022780227902280022810228202283022840228502286022870228802289022900229102292022930229402295022960229702298022990230002301023020230302304023050230602307023080230902310023110231202313023140231502316023170231802319023200232102322023230232402325023260232702328023290233002331023320233302334023350233602337023380233902340023410234202343023440234502346023470234802349023500235102352023530235402355023560235702358023590236002361023620236302364023650236602367023680236902370023710237202373023740237502376023770237802379023800238102382023830238402385023860238702388023890239002391023920239302394023950239602397023980239902400024010240202403024040240502406024070240802409024100241102412024130241402415024160241702418024190242002421024220242302424024250242602427024280242902430024310243202433024340243502436024370243802439024400244102442024430244402445024460244702448024490245002451024520245302454024550245602457024580245902460024610246202463024640246502466024670246802469024700247102472024730247402475024760247702478024790248002481024820248302484024850248602487024880248902490024910249202493024940249502496024970249802499025000250102502025030250402505025060250702508025090251002511025120251302514025150251602517025180251902520025210252202523025240252502526025270252802529025300253102532025330253402535025360253702538025390254002541025420254302544025450254602547025480254902550025510255202553025540255502556025570255802559025600256102562025630256402565025660256702568025690257002571025720257302574025750257602577025780257902580025810258202583025840258502586025870258802589025900259102592025930259402595025960259702598025990260002601026020260302604026050260602607026080260902610026110261202613026140261502616026170261802619026200262102622026230262402625026260262702628026290263002631026320263302634026350263602637026380263902640026410264202643026440264502646026470264802649026500265102652026530265402655026560265702658026590266002661026620266302664026650266602667026680266902670026710267202673026740267502676026770267802679026800268102682026830268402685026860268702688026890269

【図 1 5 A】



【図 1 5 B】



【図 1 6 A】

HCC1534 (MICA*004) (AMO1/8C5)									
1D5 ug/mL> 13A9 ug/mL V	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	変異	
10	27%	28%	33%	33%	31%	27%	22%	23%	
2.5	26%	31%	34%	36%	33%	31%	28%	23%	
0.625	18%	30%	30%	33%	36%	30%	26%	22%	
0.15625	27%	29%	34%	37%	34%	28%	27%	25%	
0.0390625	31%	33%	36%	34%	32%	23%	19%	14%	
0.009766625	22%	28%	31%	34%	29%	25%	23%	14%	
0.002441406	21%	29%	30%	34%	32%	30%	18%	13%	
変異	22%	27%	31%	32%	29%	28%	17%	9%	
1D5 ug/mL> 6E1 ug/mL V	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	変異	
10	34%	36%	45%	42%	38%	31%	26%	13%	
2.5	32%	33%	36%	37%	33%	31%	21%	14%	
0.625	25%	35%	31%	34%	25%	22%	6%	0%	
0.15625	23%	24%	29%	30%	24%	15%	12%	0%	
0.0390625	23%	17%	19%	20%	18%	14%	6%	-7%	
0.009766625	10%	17%	16%	15%	3%	-8%	-8%	-8%	
0.002441406	12%	21%	17%	24%	13%	8%	-4%	-4%	
変異	9%	15%	14%	12%	7%	6%	-12%	-13%	
13A9 ug/mL> 6E1 ug/mL V	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	変異	
10	34%	39%	30%	30%	26%	16%	13%	22%	
2.5	31%	35%	42%	33%	21%	18%	29%	19%	
0.625	27%	35%	29%	27%	24%	19%	20%	13%	
0.15625	24%	20%	28%	19%	19%	13%	10%	14%	
0.0390625	18%	21%	25%	24%	17%	14%	12%	11%	
0.009766625	17%	30%	21%	25%	21%	17%	16%	8%	
0.002441406	11%	20%	18%	24%	22%	27%	15%	12%	
変異	19%	20%	23%	19%	17%	13%	10%	7%	

【図 1 6 B】

MEL-JUSO (MICA*008) (AMO1/8C5)									
1D5 ug/mL> 13A9 ug/mL V	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	変異	
10	-8%	-1%	4%	4%	15%	17%	12%	20%	
2.5	2%	-3%	14%	10%	11%	20%	24%	15%	
0.625	-2%	9%	11%	8%	15%	20%	20%	14%	
0.15625	4%	3%	18%	15%	9%	8%	15%	12%	
0.0390625	0%	7%	8%	11%	14%	11%	15%	10%	
0.009766625	5%	-2%	8%	13%	15%	16%	14%	10%	
0.002441406	-1%	-0%	7%	7%	16%	21%	12%	11%	
変異	14%	-1%	8%	7%	13%	14%	14%	6%	
1D5 ug/mL> 6E1 ug/mL V	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	変異	
10	11%	-7%	14%	13%	15%	12%	8%	8%	
2.5	13%	-3%	6%	14%	15%	19%	16%	9%	
0.625	7%	-2%	15%	14%	16%	17%	20%	6%	
0.15625	14%	5%	11%	12%	8%	7%	11%	1%	
0.0390625	14%	9%	3%	13%	8%	5%	3%	6%	
0.009766625	-2%	9%	1%	3%	19%	6%	1%	6%	
0.002441406	-10%	-4%	20%	22%	28%	11%	10%	9%	
変異	12%	32%	7%	4%	4%	9%	-10%	-6%	
13A9 ug/mL> 6E1 ug/mL V	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	変異	
10	13%	-3%	15%	7%	5%	9%	8%	6%	
2.5	6%	3%	7%	4%	9%	15%	13%	7%	
0.625	13%	12%	10%	16%	21%	19%	13%	9%	
0.15625	4%	11%	10%	19%	13%	16%	10%	11%	
0.0390625	6%	18%	17%	25%	22%	15%	7%	13%	
0.009766625	2%	9%	17%	21%	20%	21%	20%	13%	
0.002441406	1%	15%	20%	24%	24%	24%	15%	11%	
変異	11%	14%	17%	19%	20%	23%	14%	8%	

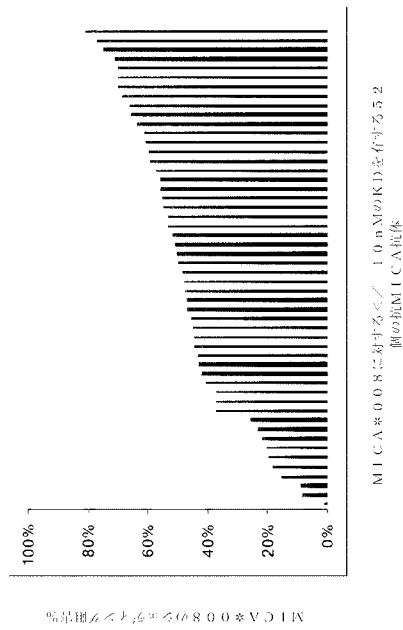
【図 1 6 C】

HCC1534 (MICA*005) (236511/7E3)									
1D5 ug/mL> 13A9 ug/mL V	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	変異	
10	18%	28%	18%	33%	35%	38%	31%	36%	
2.5	20%	18%	34%	32%	36%	41%	46%	28%	
0.625	13%	30%	25%	35%	38%	33%	46%	36%	
0.15625	26%	25%	33%	35%	33%	33%	37%	41%	
0.0390625	31%	33%	32%	26%	34%	28%	36%	35%	
0.009766625	29%	30%	18%	34%	32%	39%	32%	23%	
0.002441406	15%	31%	35%	31%	27%	31%	25%	22%	
変異	25%	28%	33%	34%	31%	25%	24%	15%	
1D5 ug/mL> 6E1 ug/mL V	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	変異	
10	41%	38%	29%	49%	43%	33%	31%	24%	
2.5	44%	43%	40%	43%	44%	41%	29%	14%	
0.625	39%	43%	39%	42%	43%	24%	35%	25%	
0.15625	35%	37%	36%	36%	30%	15%	17%	5%	
0.0390625	31%	31%	12%	36%	14%	12%	4%	7%	
0.009766625	28%	17%	27%	27%	27%	13%	-1%	-2%	
0.002441406	8%	20%	24%	24%	30%	13%	8%	-2%	
変異	14%	16%	17%	5%	11%	1%	-8%	-14%	
13A9 ug/mL> 6E1 ug/mL V	10	2.5	0.625	0.15625	0.039063	0.009766	0.002441	変異	
10	31%	31%	31%	37%	36%	27%	25%	28%	
2.5	32%	23%	26%	32%	33%	36%	32%	22%	
0.625	29%	28%	28%	28%	30%	26%	32%	20%	
0.15625	24%	25%	30%	30%	30%	24%	22%	19%	
0.0390625	27%	31%	31%	26%	31%	19%	22%	10%	
0.009766625	18%	23%	28%	33%	29%	26%	19%	13%	
0.002441406	23%	26%	27%	28%	29%	17%	15%	8%	
変異	21%	28%	30%	33%	31%	23%	15%	8%	

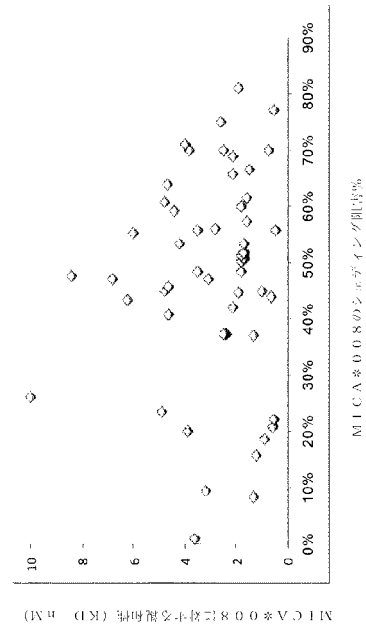
【図 1 7】

クロマトID	MICA*008 kD (nM)	クロマトID	MICA*008 kD (nM)
12H10	1.9	HZ.18B6	1.7
18G3	2.6	HZ.19E8	0.89
1D5	0.5	HZ.19H3	3.6
1G3	0.75	HZ.20B2	4.8
20G11	3.8	HZ.2C11	1.7
2E5.2.3	1.8	HZ.2D10	1
32D2	4	HZ.2H4	0.47
3E11	2.5	HZ.2H7	1.7
6E1.1.12	6.8	HZ.3B1	1.6
6F8.7	8.4	HZ.3B10	0.52
7D4.6	10	HZ.3B4	2.1
HZ.10A2	4.7	HZ.3C9	3.9
HZ.10B4	4.6	HZ.3E8	1.8
HZ.10G11	0.57	HZ.3F2	2.5
HZ.10G12	6	HZ.3F7	1.8
HZ.11H3	4.2	HZ.3G4	1.9
HZ.12G2	1.2	HZ.3H5	1.8
HZ.13A9	3.1	HZ.4H6	2.4
HZ.13G6	0.62	HZ.5C5	3.5
HZ.14C1	4.9	HZ.6A11	2.8
HZ.15D2	1.6	HZ.6A7	1.3
HZ.15E12	1.5	HZ.6G2	2.1
HZ.15F11	2.1	HZ.7A6	4.6
HZ.15G6	1.3	HZ.7A9	4.4
HZ.16E2	3.2	HZ.7G11	3.5
HZ.16F11	4.8	HZ.9H10	6.2

【図 18 A】



【図 18 B】

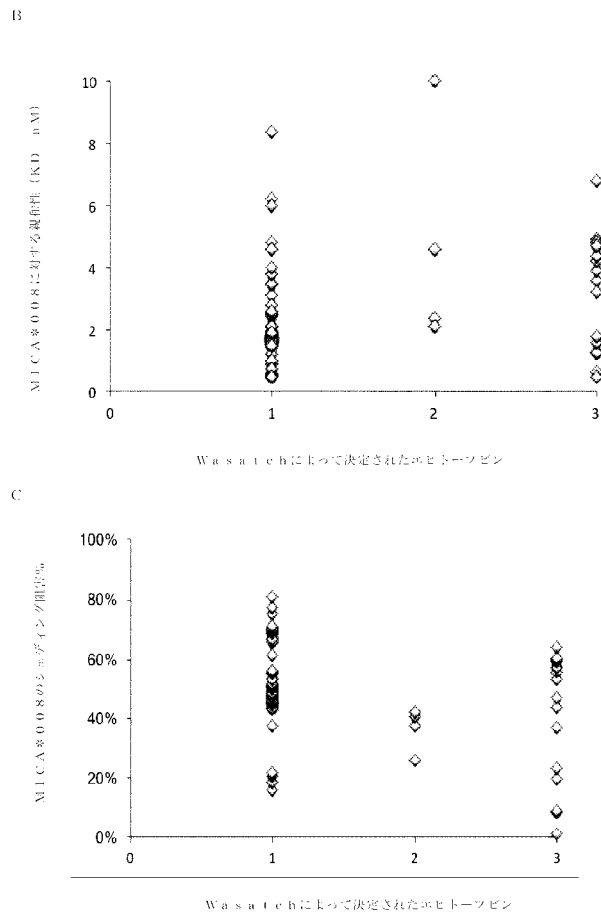


【図 19 - 1】

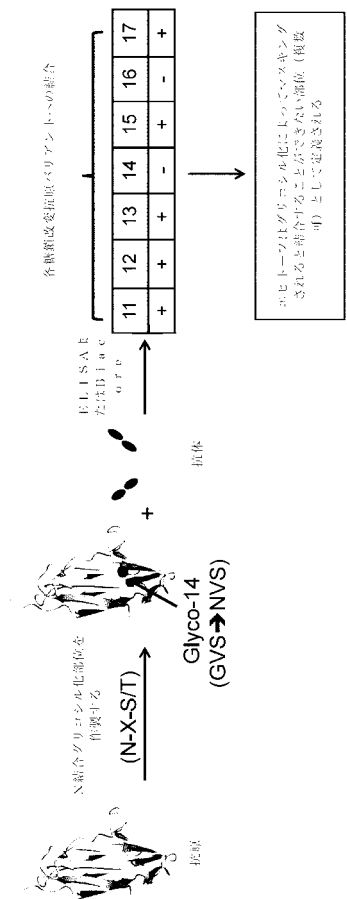
A

クローン (ID)	シグナル強度 (%)	反応性	シグナル強度 (%)
12H10			
18G3			
1D5			
1G3			
20G11			
32D2			
3E11			
6F8.7			
HZ.10G11			
HZ.10G12			
HZ.12G2			
HZ.13A9			
HZ.15F12			
HZ.15F11			
HZ.18B6			
HZ.19E8			
HZ.20B2			
HZ.2C11			
HZ.2D10			
HZ.2H7			
HZ.3B1			
HZ.3B10			
HZ.3E8			
HZ.3F2			
HZ.3F7			
HZ.3G4			
HZ.3H5			
HZ.5C5			
HZ.6A11			
HZ.6G2			
HZ.7A5			
HZ.7G11			
HZ.9H10			
7D4.6			
HZ.10B4			
HZ.3B4			
HZ.4H6			
2E5.2.3			
6E11.1.12			
HZ.10A2			
HZ.11H3			
HZ.13G6			
HZ.14C1			
HZ.15D2			
HZ.15G6			
HZ.16E2			
HZ.16F11			
HZ.19H3			
HZ.2H4			
HZ.3C9			
HZ.6A7			
HZ.7A9			

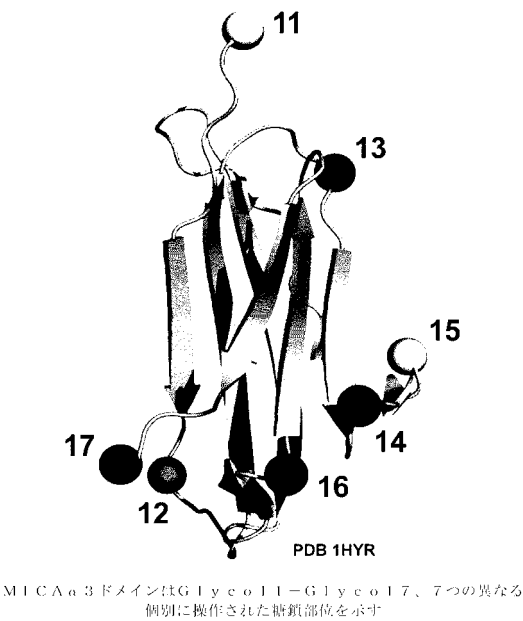
【図 19 - 2】



【図 20】



【図 21 A】



【図 21 B】

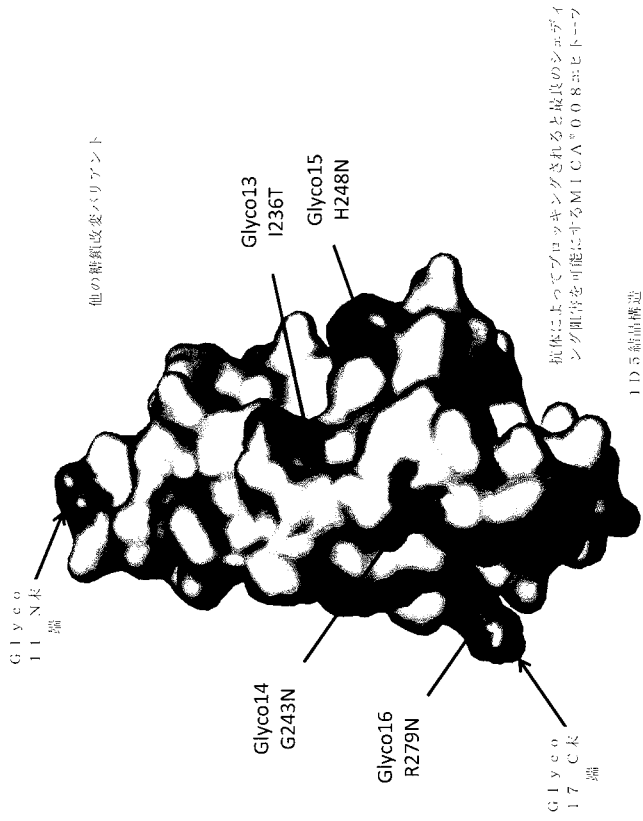
	試料							トリプシンヘプチド
	WT	11	12	13	14	15	17	
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	50% (試料 1.1)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.2)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.3)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.4)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.5)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.6)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.7)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.8)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.9)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.10)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.11)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.12)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.13)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.14)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.15)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.16)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.17)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.18)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.19)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.20)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.21)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.22)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.23)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.24)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.25)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.26)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.27)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.28)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.29)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.30)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.31)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.32)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.33)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.34)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.35)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.36)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.37)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.38)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.39)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.40)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.41)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.42)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.43)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.44)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.45)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.46)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.47)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.48)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.49)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.50)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.51)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.52)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.53)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.54)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.55)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.56)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.57)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.58)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.59)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.60)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.61)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.62)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.63)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.64)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.65)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.66)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.67)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.68)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.69)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.70)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.71)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.72)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.73)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.74)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.75)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.76)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.77)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.78)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.79)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.80)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.81)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.82)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.83)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.84)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.85)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.86)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.87)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.88)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.89)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.90)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.91)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.92)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.93)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.94)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.95)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.96)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.97)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.98)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.99)
WT	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	N/C	70% (試料 1.100)

【図 21 C】

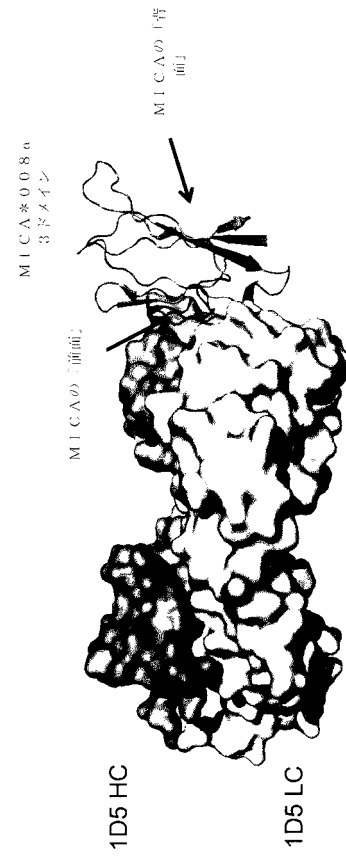
	MICA*008の糖鎖変異ペリアントでのELISA											各ペンの抗体 #	>70%シグナル/配位
	ペン 1	ペン 2	ペン 3	ペン 4	ペン 5	ペン 6	ペン 7	ペン 8	ペン 9	ペン 10	ペン 11		
11												1	
12												21	4
13												2	
14												1	
15												17	1
16												34	2
17												4	
18												5	
19												7	
20												3	
21												1	

N/C: カバレッジなし
■: Glyco-ペリアント部位

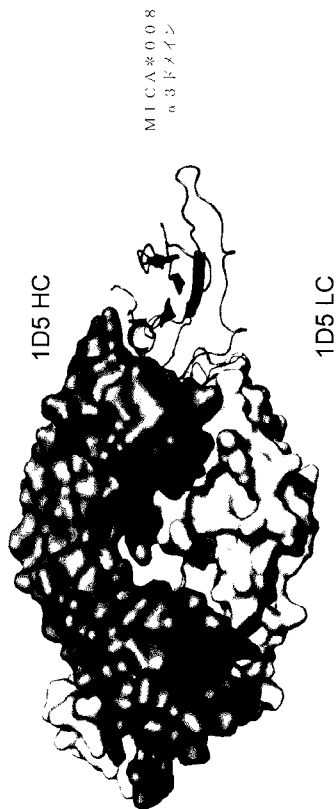
【図 2 1 D】



【図 2 2 A】



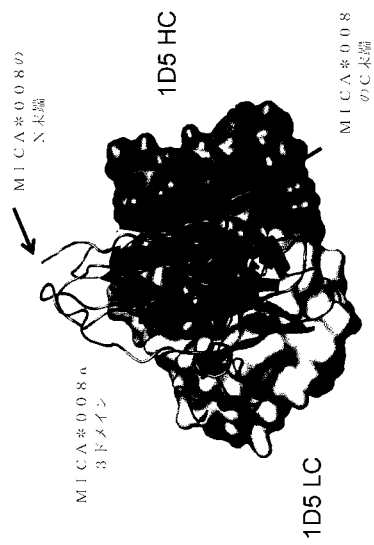
【図 2 2 B】



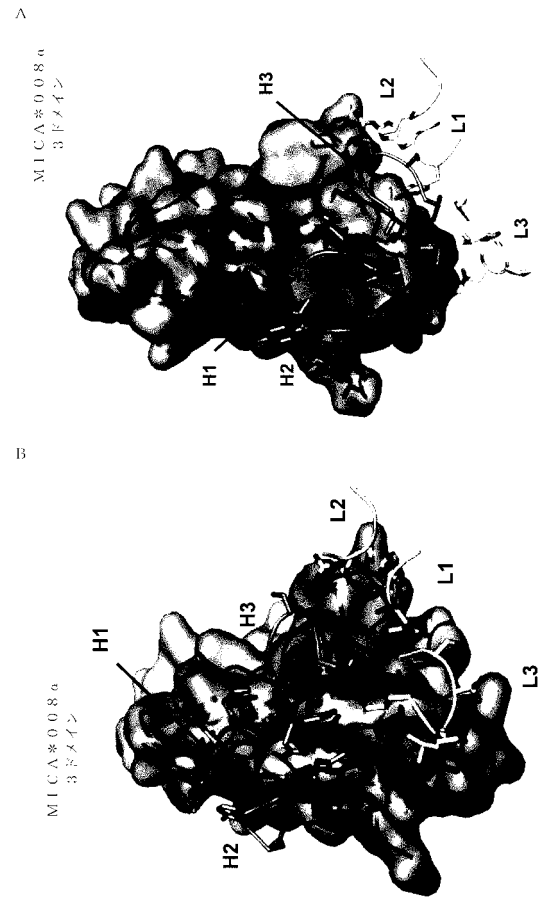
【図 2 2 C】



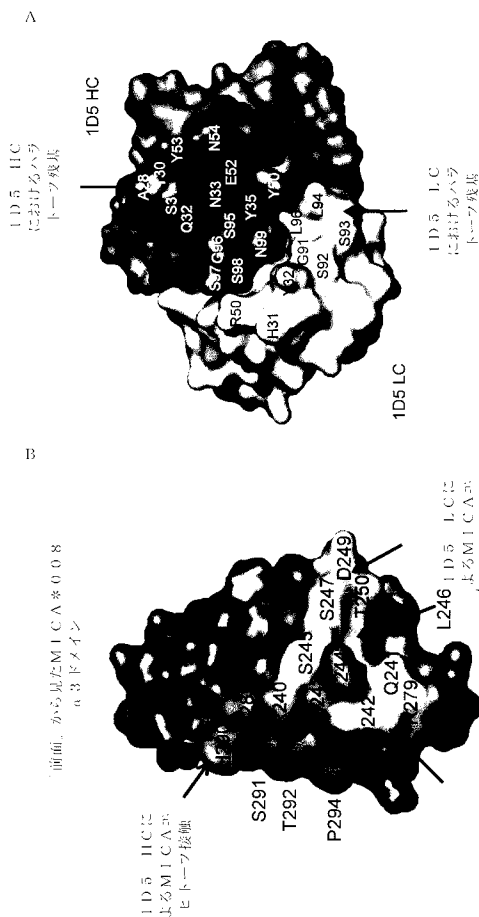
【図 2 2 D】



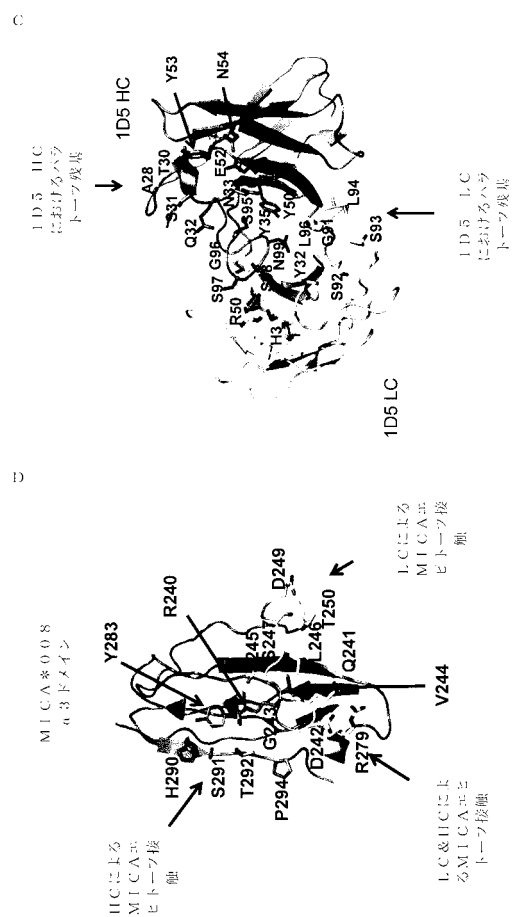
【図 2 3】



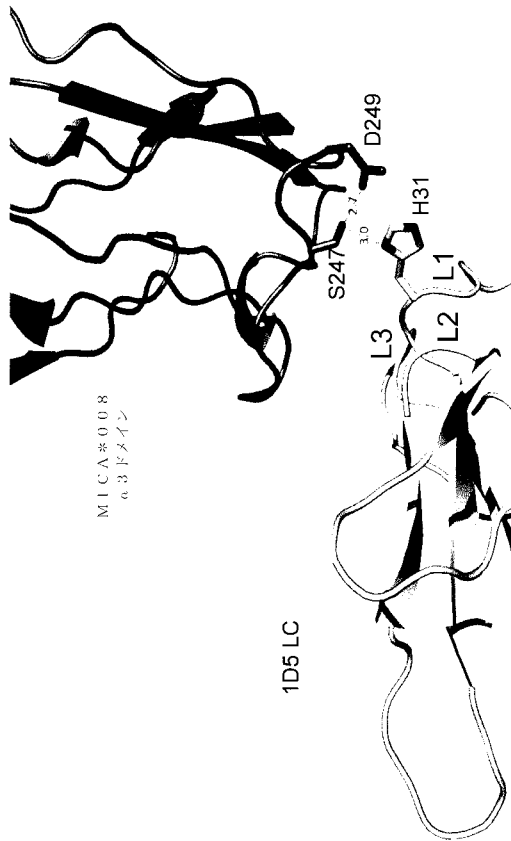
【図 2 4 - 1】



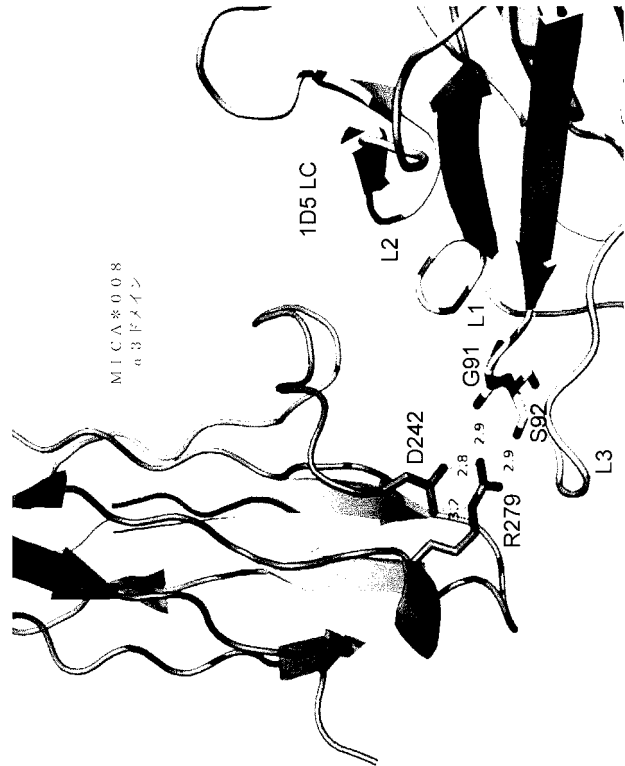
【図 2 4 - 2】



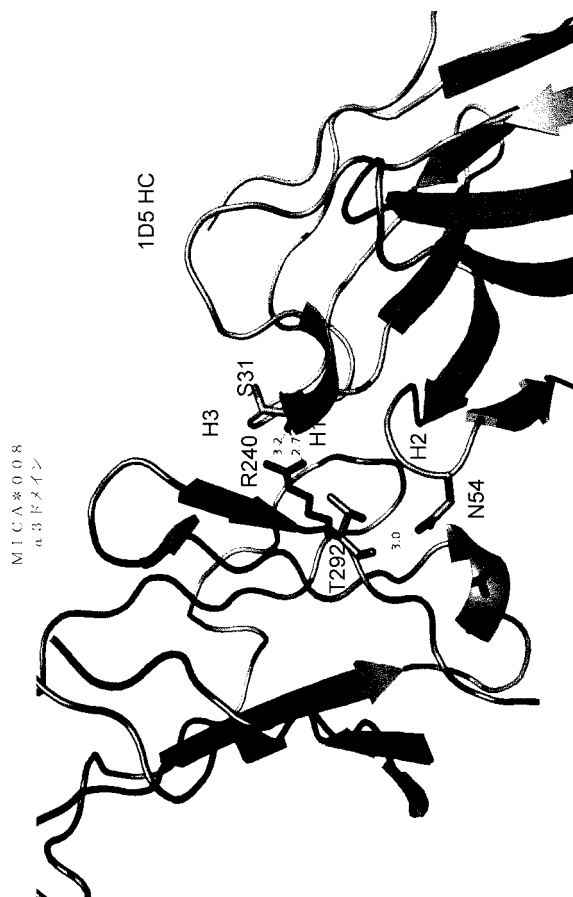
【図 25 A】



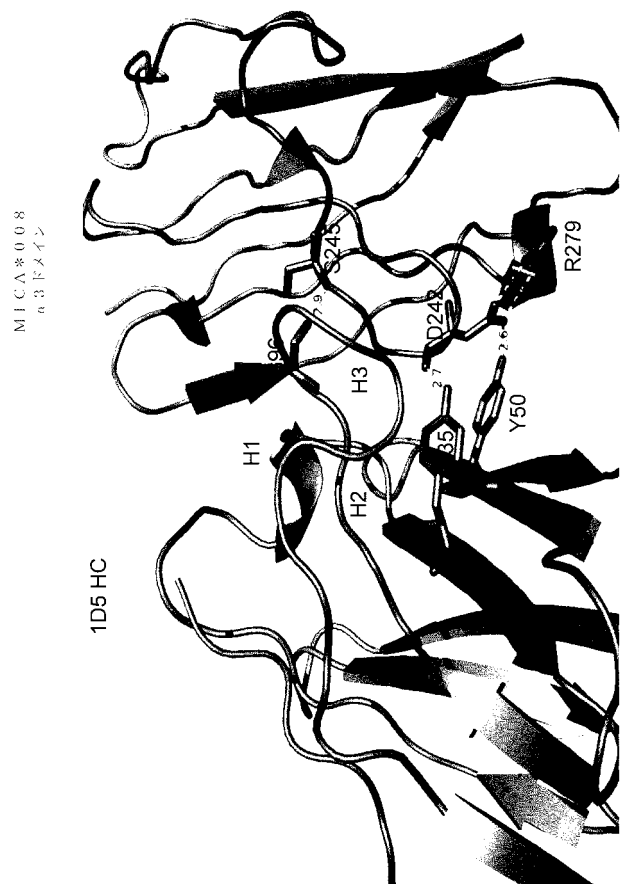
【図 25 B】



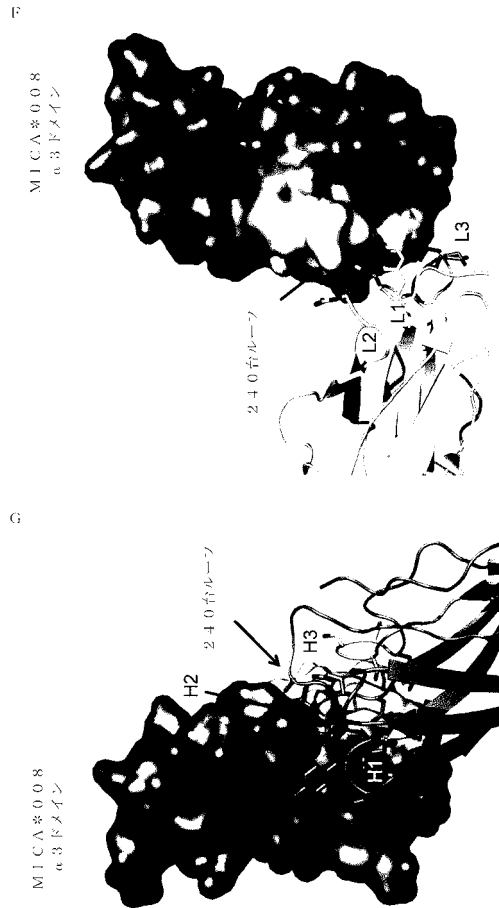
【図 25 C】



【図 25 D】



【図 27-4】



【図 28 B】



【図 28 A】



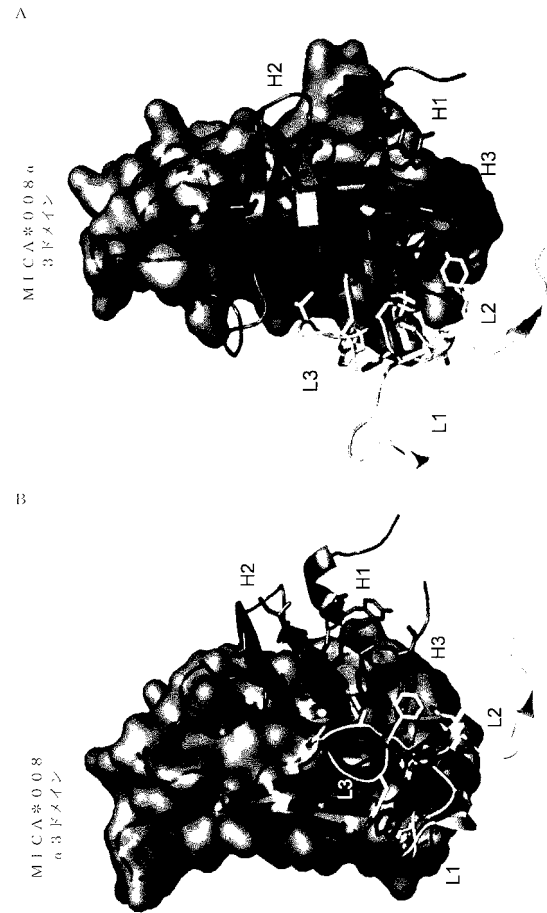
【図 28 C】



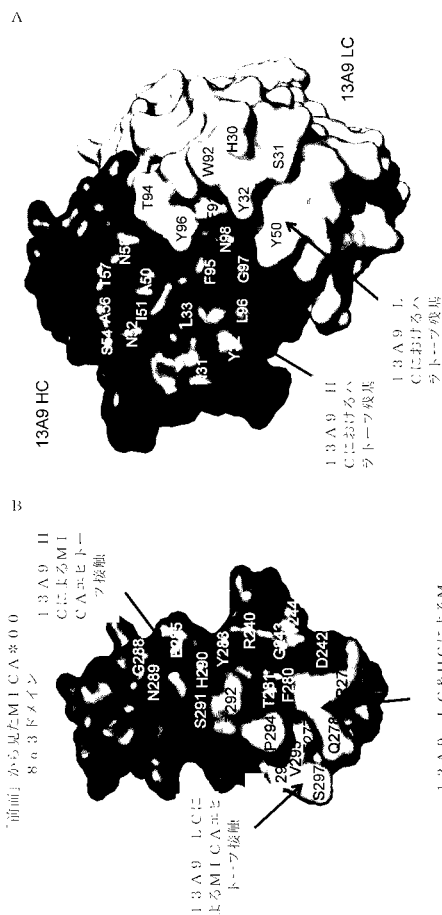
【図 28 D】



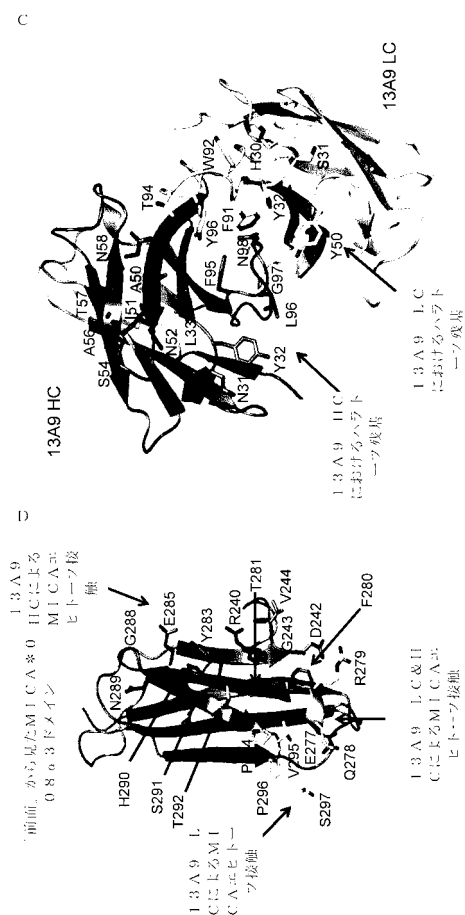
【図 29】



【図 30 - 1】



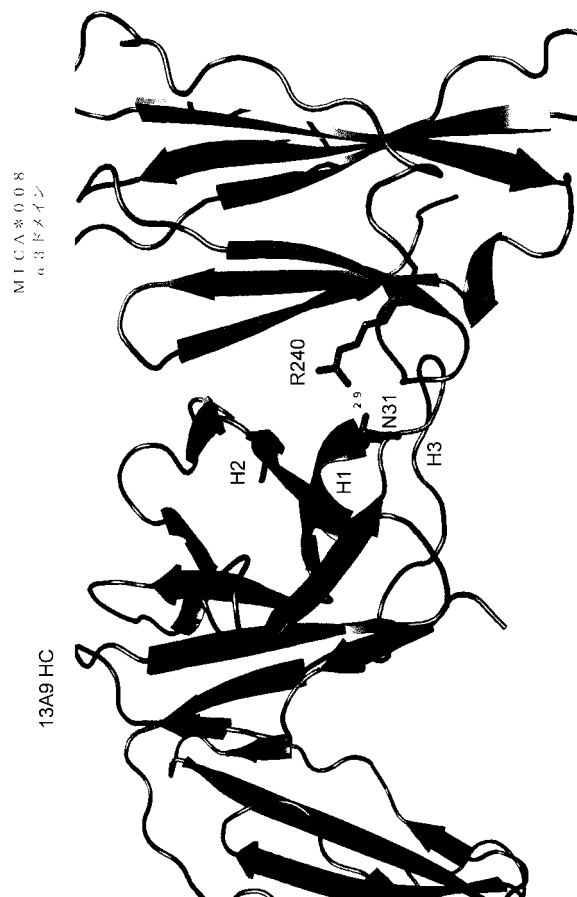
【図 30 - 2】



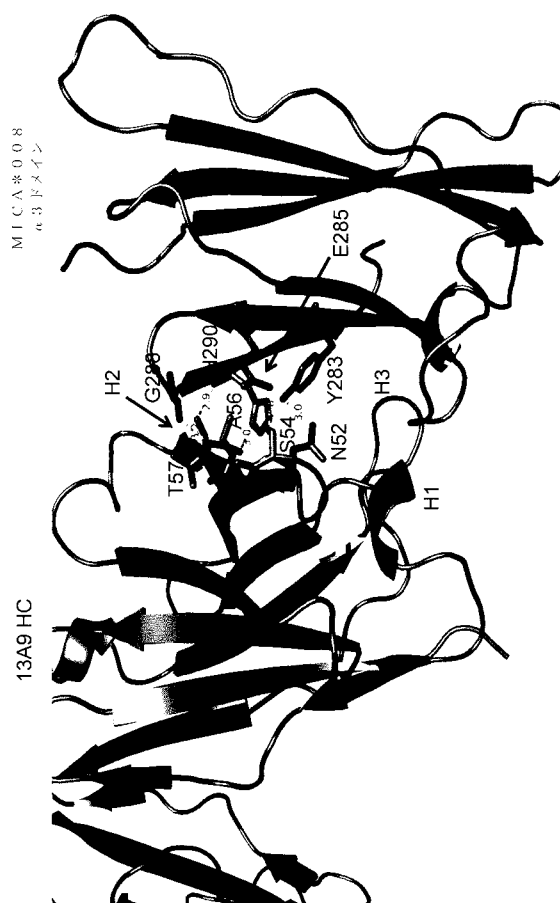
【図 3 1 A】



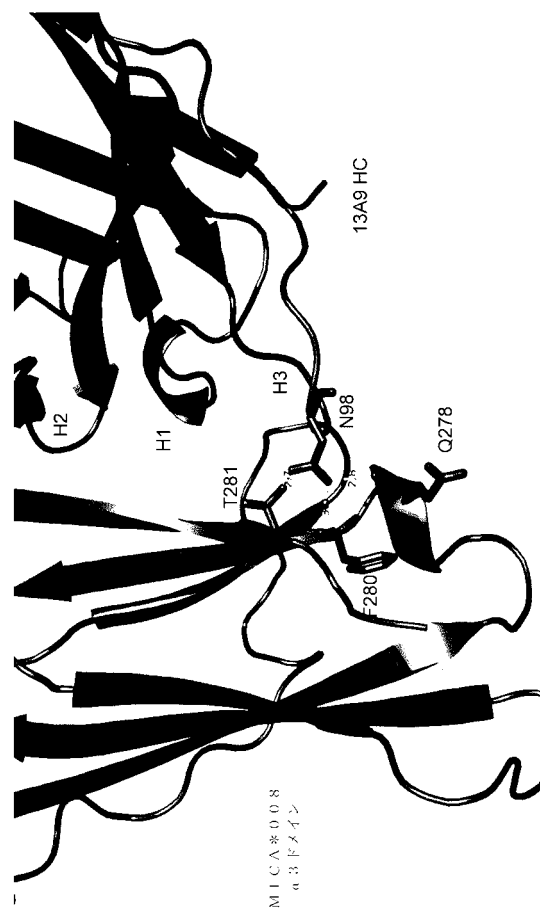
【図 3 1 B】



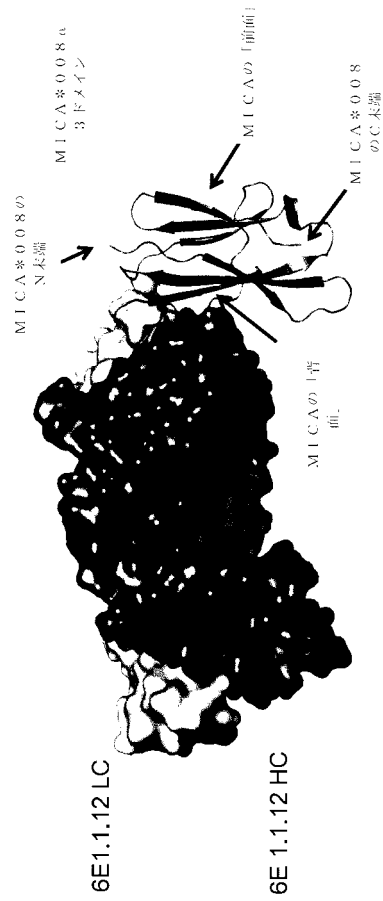
【図 3 1 C】



【図 3 1 D】



【図 3 4 A】



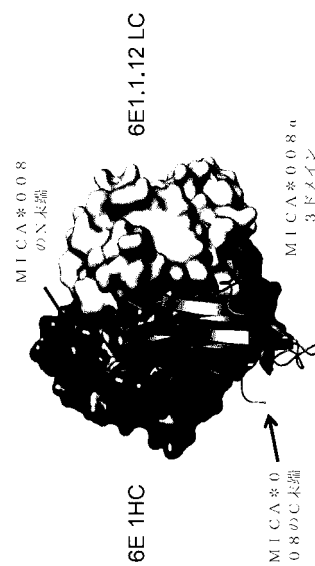
【図 3 4 B】



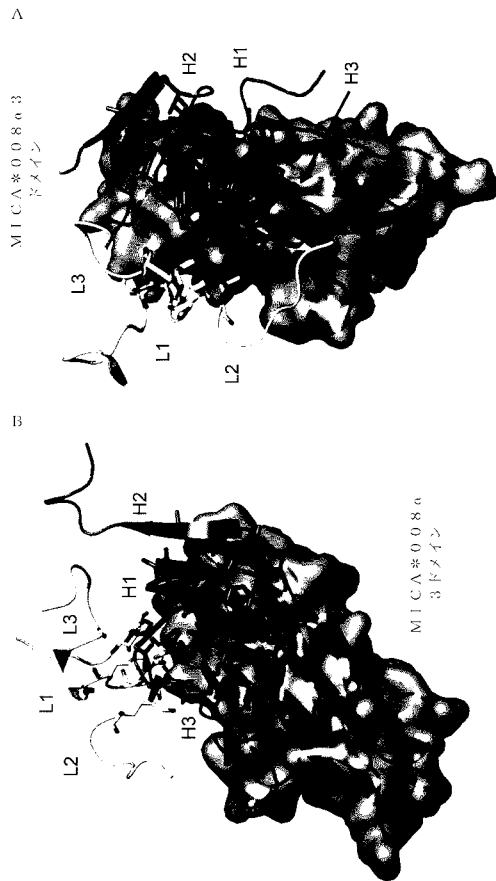
【図 3 4 C】



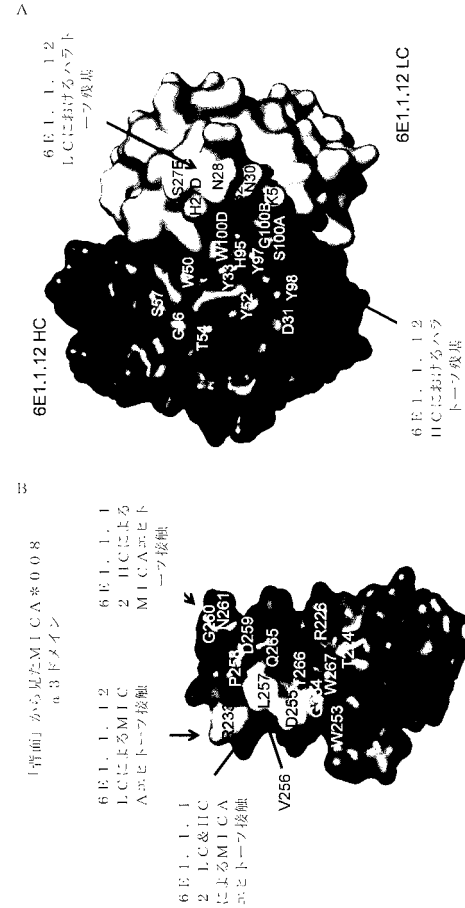
【図 3 4 D】



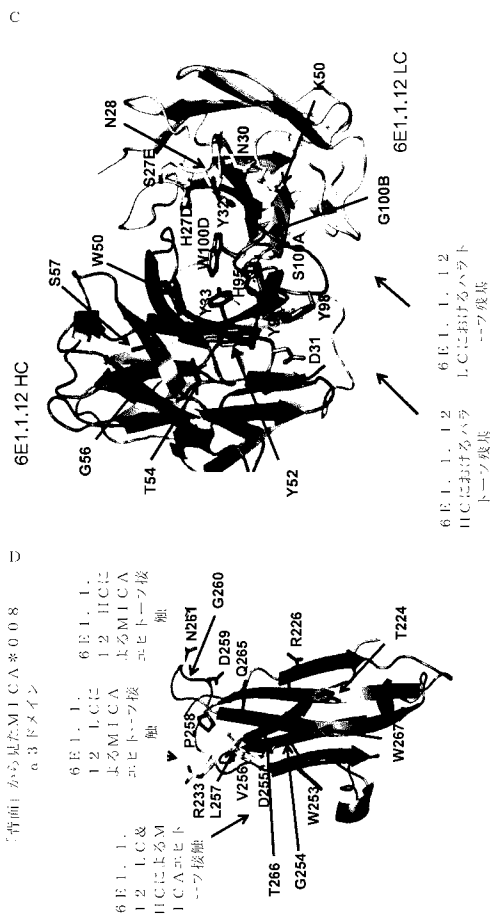
【図 35】



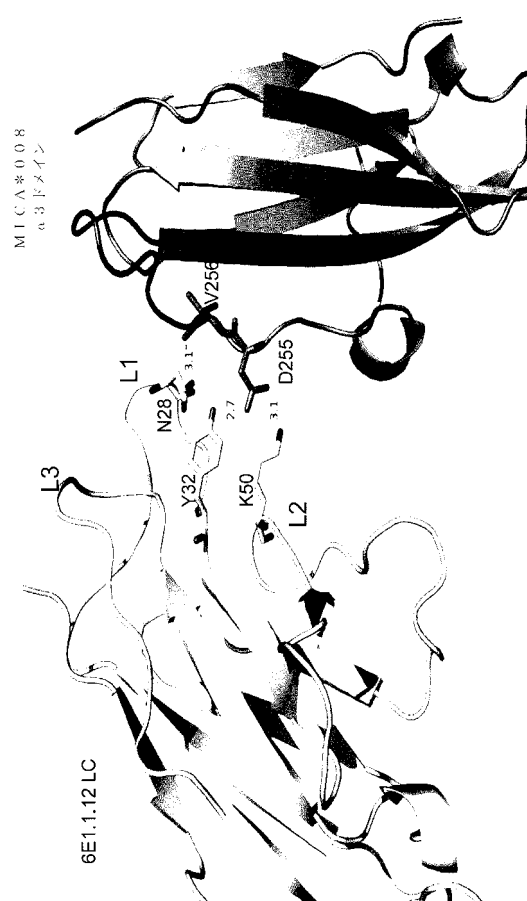
【図 36-1】



【図 36-2】



【図 37A】



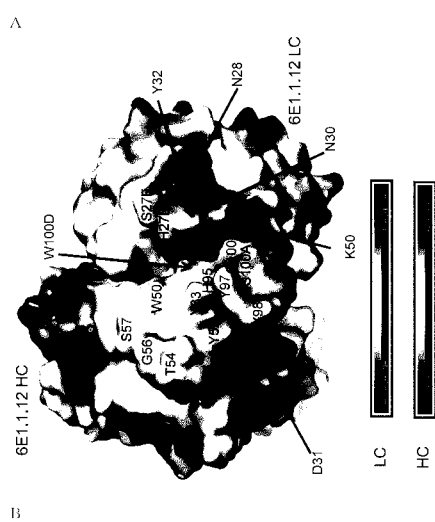
【図 37 B】



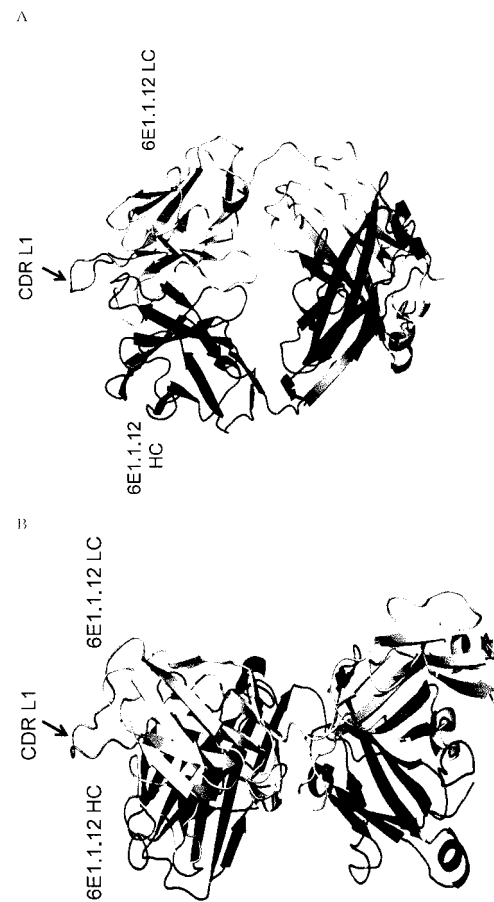
【図 37 C】



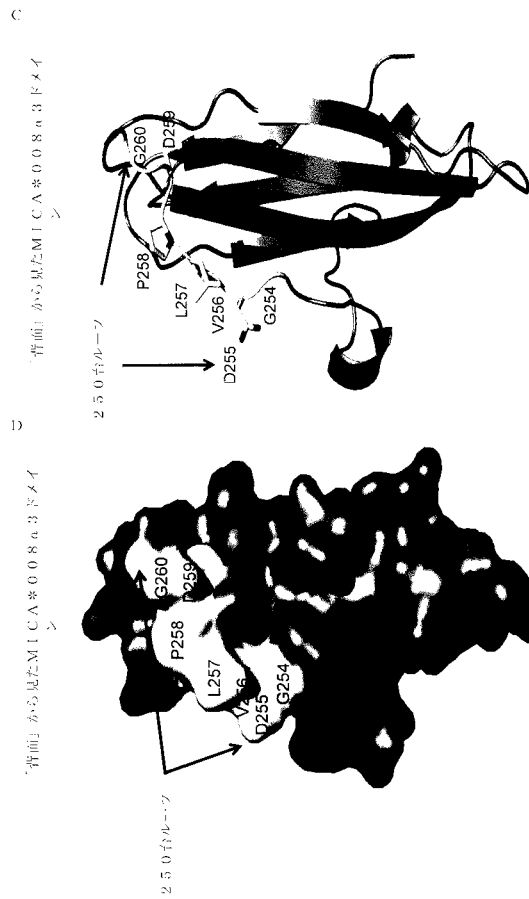
【図 38】



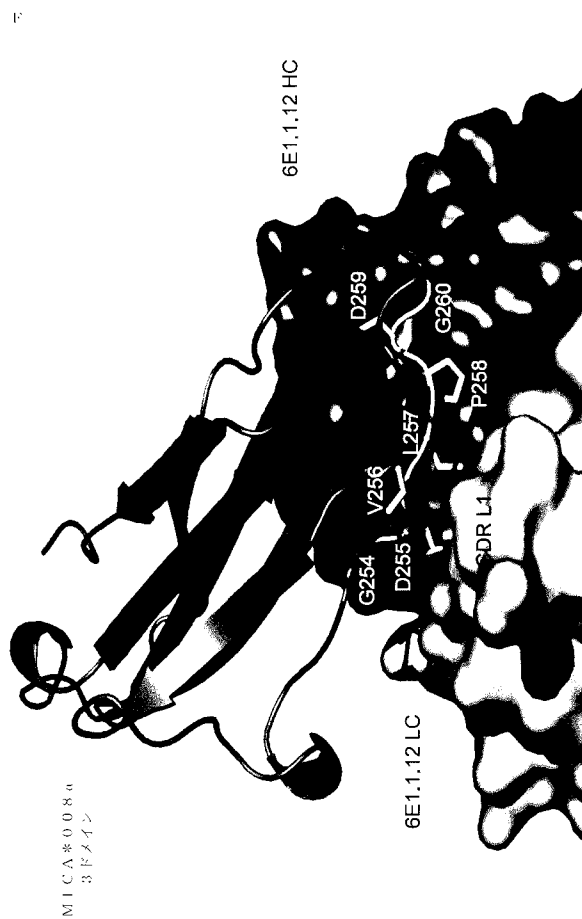
【図 39 - 1】



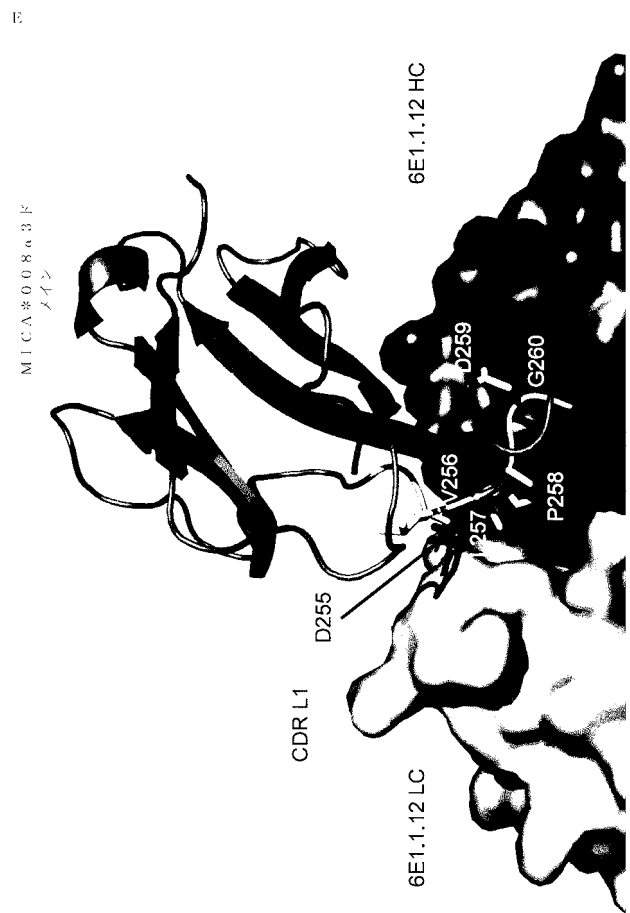
【図 39-2】



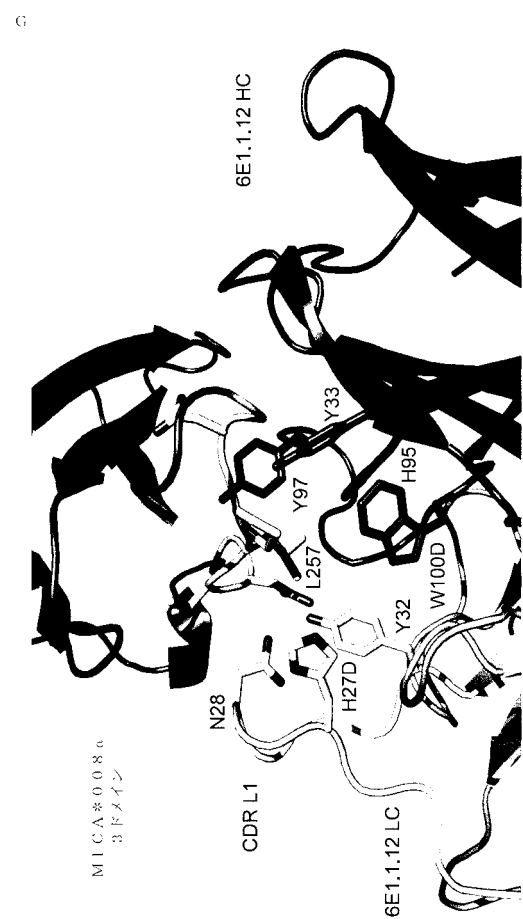
【図 39-4】



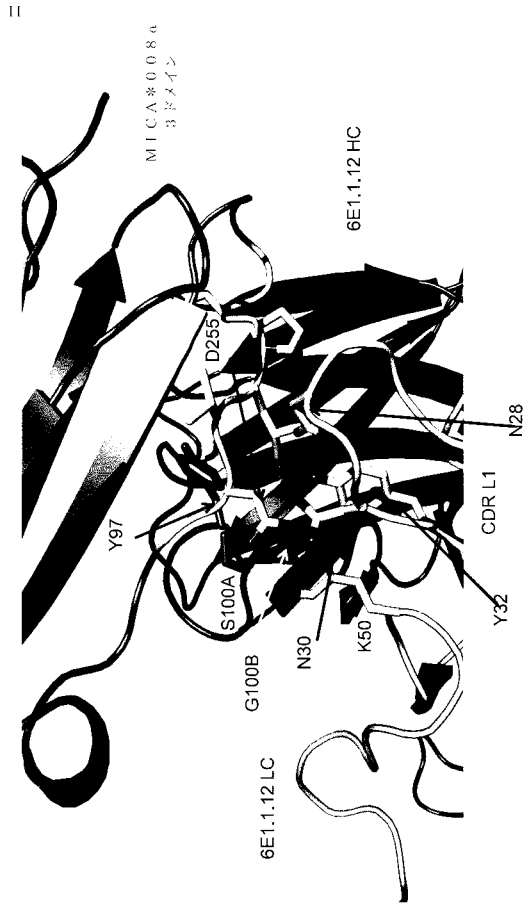
【図 39-3】



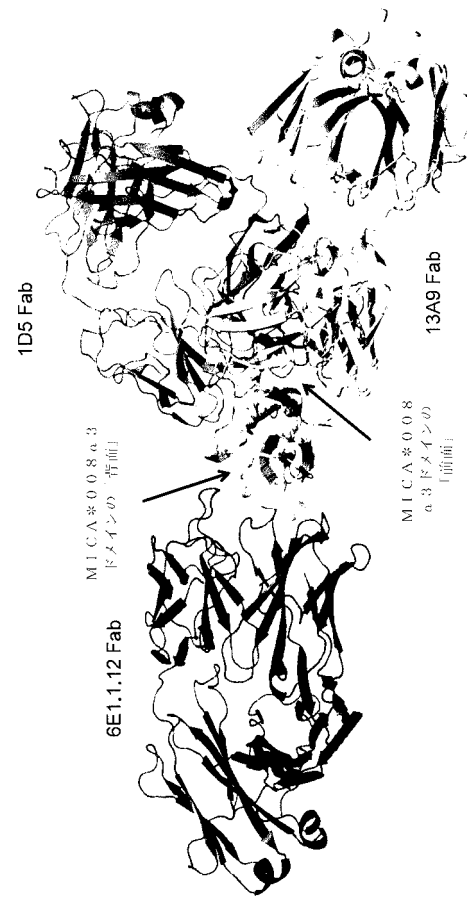
【図 39-5】



【図 39-6】



【図 40 A】



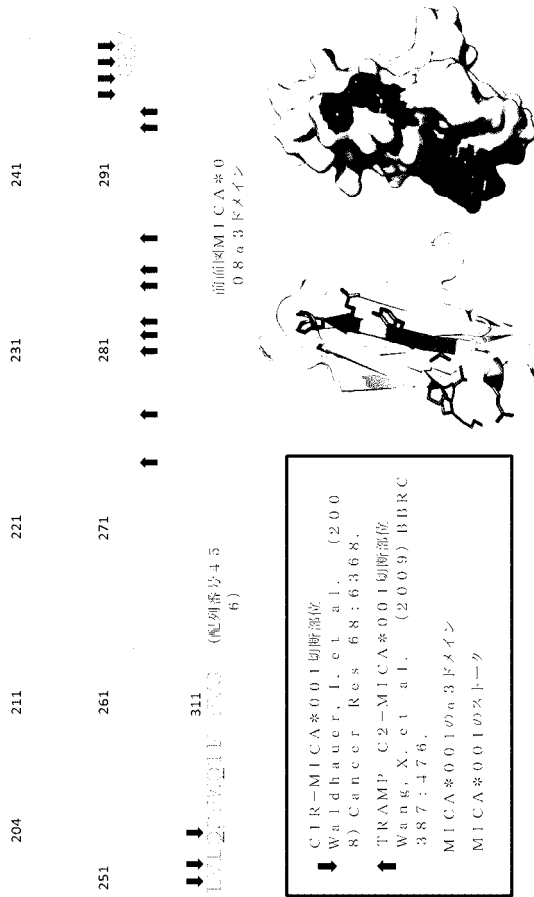
【図 40 B】



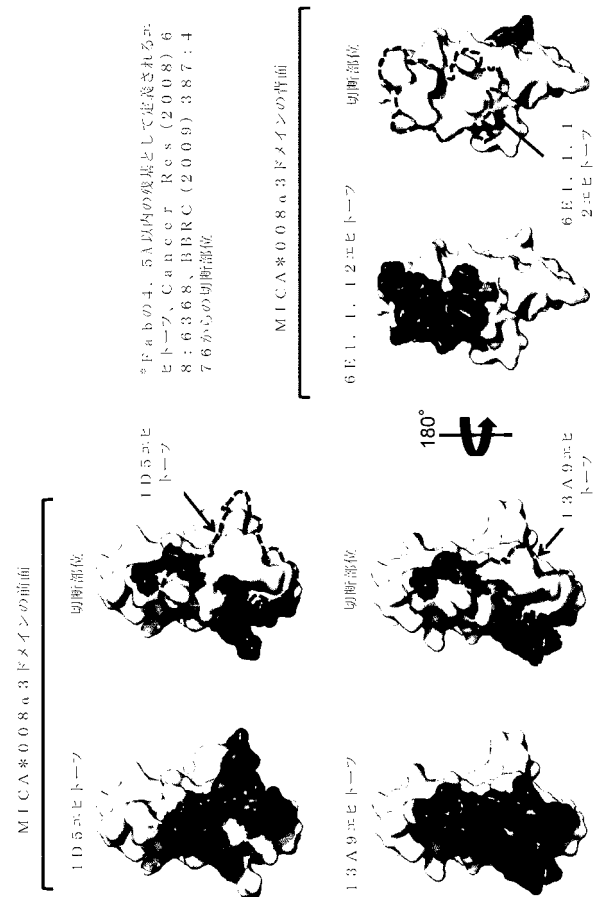
【図 40 C】



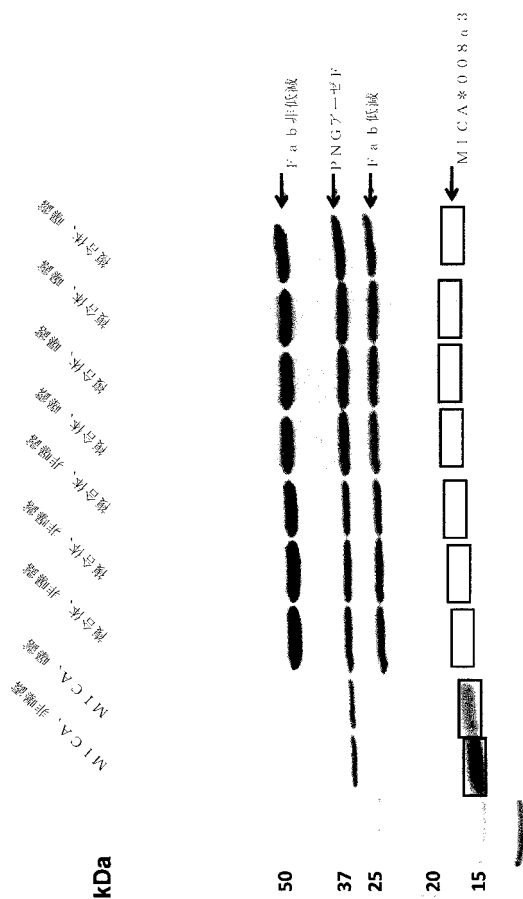
【 図 4 1 A 】



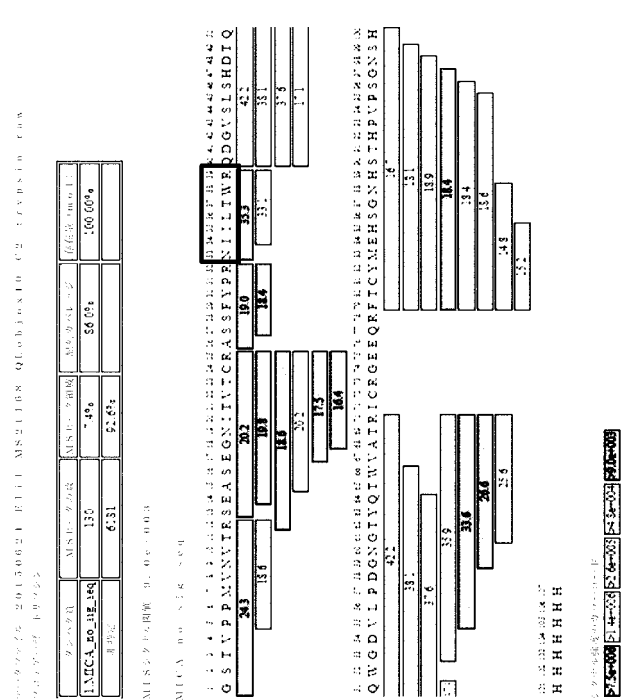
【图 4 1 B】



【図 4 2】

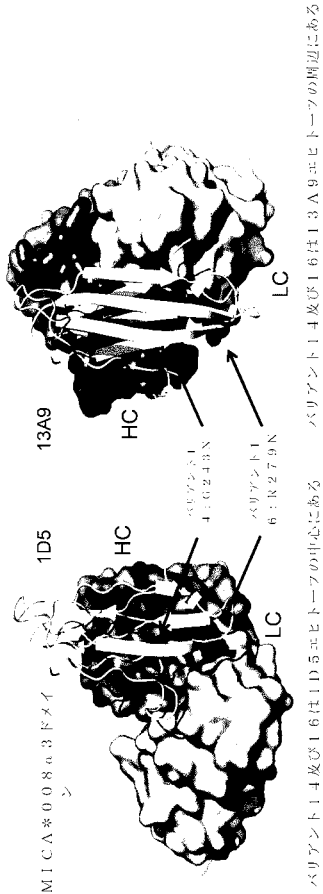


【図 4 3 A】

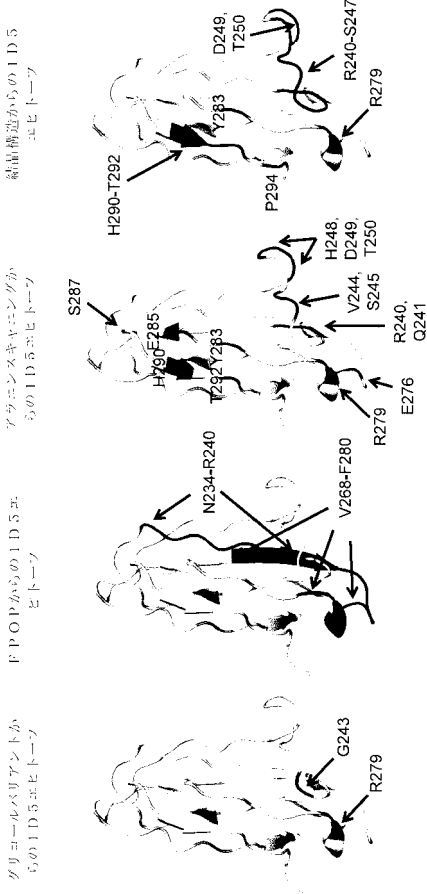


【図 4 6 B】

7つの糖鎖13A9バリエーション							
mAb	11	12	13	14	15	16	17
1D5	+	+	+	-	+	-	+
13A9	+	+	+	+/	+	+/	+

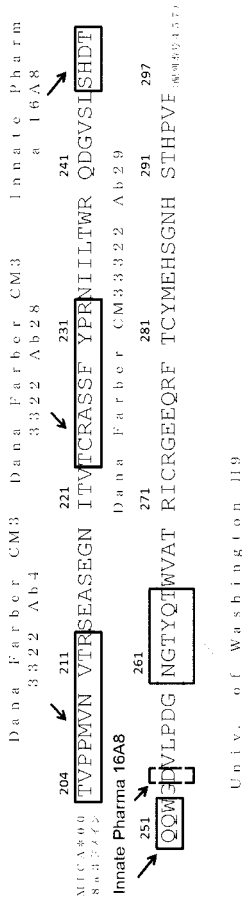


【図 4 6 C】

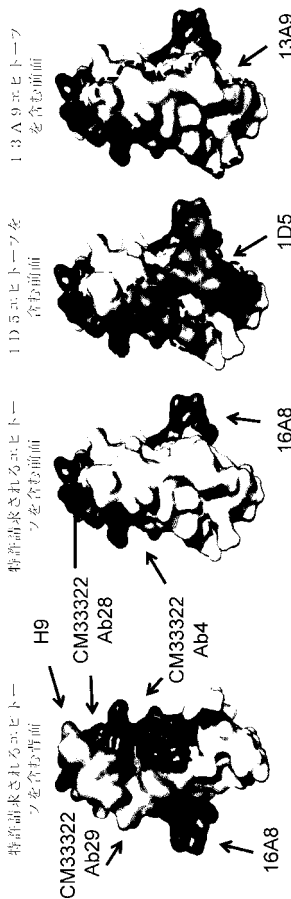


変異体D242A、G243A、L246A、T281A、I293Aへの結合は、添って折り畳まれたMICA*008タンパク質によって評価することができなかった

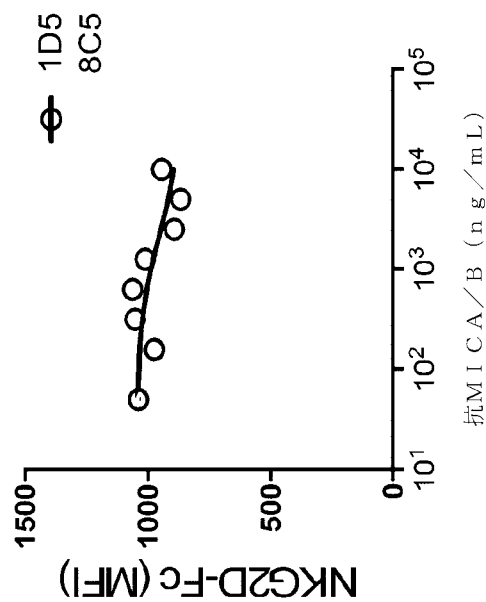
【図 4 7 A】



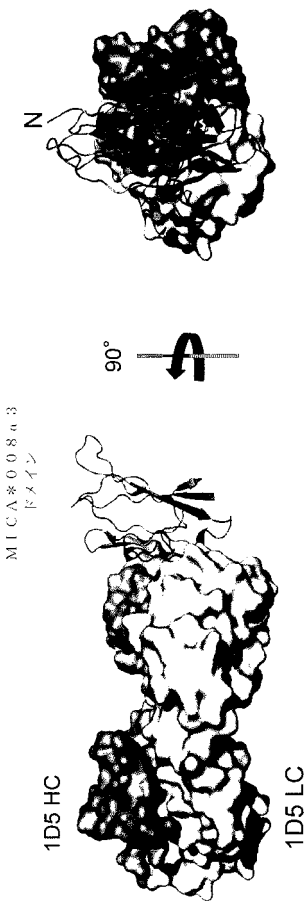
【図 4 7 B】



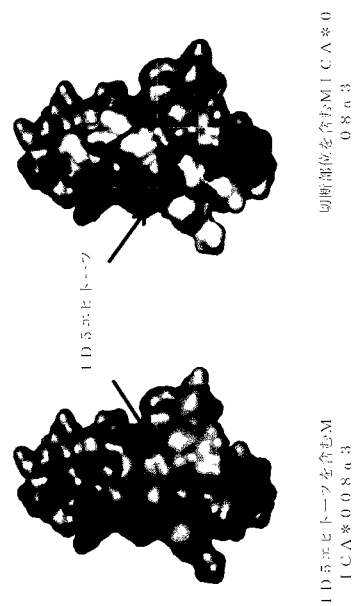
【図 4 8】



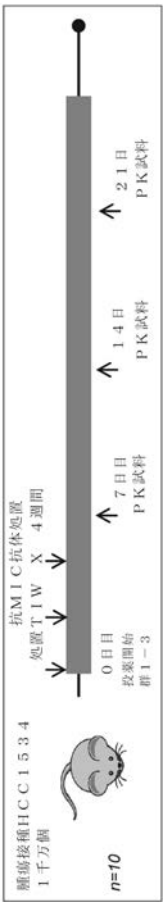
【図 4 9 A】



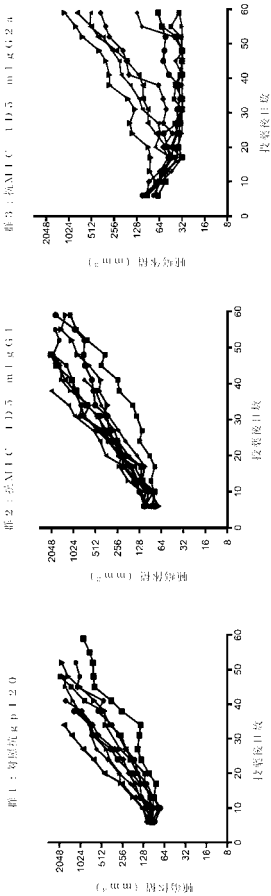
【図 4 9 B】



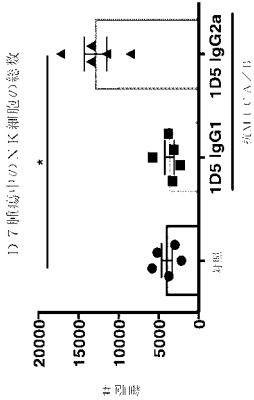
【図 5 0 A】



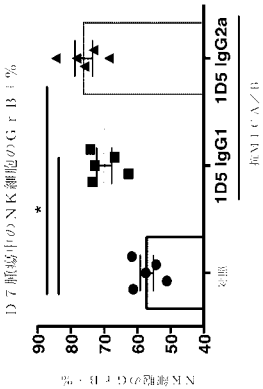
【図 5 0 B】



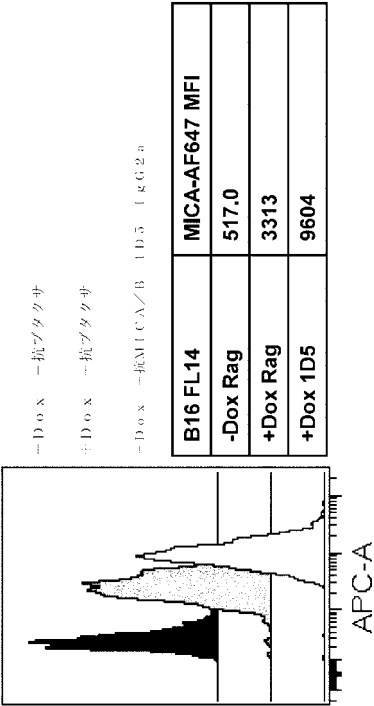
【図 5 0 C】



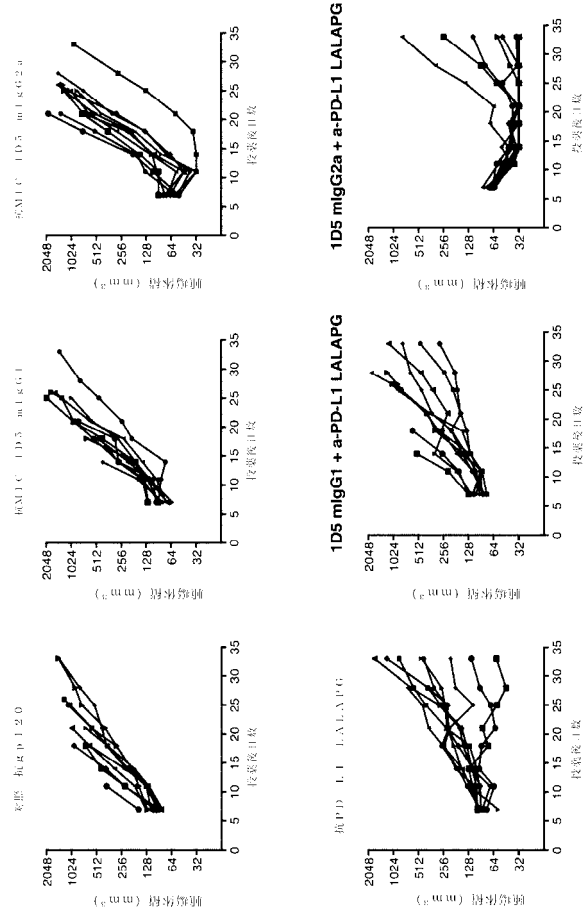
【図 5 0 D】



【図 5 1 A】



【図 5 1 B】



【配列表】

2019535250000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/058880

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/00 C07K16/00 C07K16/08 C07K16/28
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K A61K

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015/085210 A1 (DANA FARBER CANCER INST INC [US]) 11 June 2015 (2015-06-11) figure all; example all; table all -----	1-13, 91-203, 218-224, 239-326, 334-336
X	WO 2014/144791 A2 (DANA FARBER CANCER INST INC [US]) 18 September 2014 (2014-09-18) examples 6-14 ----- -/--	1-13, 91-203, 218-224, 239-326, 334-336

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 November 2018

Date of mailing of the international search report

11/12/2018

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fellows, Edward

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2017/058880

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

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

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

2. ☒ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

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

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

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

see additional sheet

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

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

3. ☒ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
1-13, 91-203, 218-224, 239-326(completely); 334-336(partially)

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

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/058880

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	W0 2013/117647 A1 (INNATE PHARMA [FR]) 15 August 2013 (2013-08-15) example all -----	1-13, 91-203, 218-224, 239-326, 334-336
X	W0 2016/154585 A1 (SENTMAN CHARLES [US]; BATTLES MICHAEL [US]) 29 September 2016 (2016-09-29) example all; table 1 -----	1-13, 91-203, 218-224, 239-326, 334-336
X	"Anti-Human MICA/B Monoclonal Antibody BAM01", 1 January 2004 (2004-01-01), XP055248333, Retrieved from the Internet: URL: http://www.bamomab.com/documents/MIC/BAM01-100.pdf [retrieved on 2016-02-08] the whole document -----	1-13, 91-203, 218-224, 239-326, 334-336
X	W0 2014/140904 A2 (NOVELOGICS BIOTECHNOLOGY INC [CA]) 18 September 2014 (2014-09-18) example all -----	1-13, 91-203, 218-224, 239-326, 334-336
T	W0 2017/157895 A1 (INNATE PHARMA [FR]) 21 September 2017 (2017-09-21) the whole document -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/058880

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2015085210 A1	11-06-2015	AU 2014360273 A1	02-06-2016
		BR 112016012358 A2	26-09-2017
		CA 2932767 A1	11-06-2015
		CN 106029694 A	12-10-2016
		EA 201691078 A1	30-01-2017
		EP 3077504 A1	12-10-2016
		JP 2017501692 A	19-01-2017
		KR 20160090904 A	01-08-2016
		US 2017022275 A1	26-01-2017
		WO 2015085210 A1	11-06-2015
WO 2014144791 A2	18-09-2014	AU 2014228502 A1	20-08-2015
		BR 112015021576 A2	10-10-2017
		CA 2907249 A1	18-09-2014
		CN 105142668 A	09-12-2015
		EA 201591559 A1	31-03-2016
		EP 2970908 A2	20-01-2016
		HK 1219983 A1	21-04-2017
		JP 6397886 B2	26-09-2018
		JP 2016516059 A	02-06-2016
		KR 20150130462 A	23-11-2015
		NZ 629816 A	28-07-2017
		SG 11201506766P A	29-09-2015
		US 2016046716 A1	18-02-2016
		WO 2014144791 A2	18-09-2014
WO 2013117647 A1	15-08-2013	AU 2013218017 A1	11-09-2014
		BR 112014019611 A2	27-06-2017
		CA 2862101 A1	15-08-2013
		CN 104244977 A	24-12-2014
		EP 2812027 A1	17-12-2014
		JP 6405242 B2	17-10-2018
		JP 2015508757 A	23-03-2015
		RU 2014131317 A	27-03-2016
		SG 11201404177P A	28-08-2014
		US 2015191542 A1	09-07-2015
		WO 2013117647 A1	15-08-2013
WO 2016154585 A1	29-09-2016	EP 3270937 A1	24-01-2018
		US 2018085400 A1	29-03-2018
		WO 2016154585 A1	29-09-2016
WO 2014140904 A2	18-09-2014	AU 2014229476 A1	01-10-2015
		CA 2906356 A1	18-09-2014
		EP 2970490 A2	20-01-2016
		JP 2016512223 A	25-04-2016
		US 2016046689 A1	18-02-2016
		WO 2014140904 A2	18-09-2014
WO 2017157895 A1	21-09-2017	AU 2017235274 A1	16-08-2018
		CA 3016765 A1	21-09-2017
		CN 108779178 A	09-11-2018
		KR 20180118673 A	31-10-2018
		SG 11201806542P A	30-08-2018
		US 2017267764 A1	21-09-2017
		WO 2017157895 A1	21-09-2017

International Application No. PCT/ US2017/ 058880

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 7-13(completely); 1-6, 91-201, 334(partially)

An antibody that specially binds to a human MICA*008 as defined by CDR sequences 1-6 and related subject-matter

2-18. claims: 14-90, 204-238, 327-333(completely); 1-6, 91-203, 239-326, 334-336(partially)

Invention 2 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 17-22 and related subject-matter.

Invention 3 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 33-38 and related subject-matter.

Invention 4 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 49-54 and related subject-matter.

Invention 5 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 65-70 and related subject-matter.

Invention 6 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 81-86 and related subject-matter.

Invention 7 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 97-102 and related subject-matter.

Invention 8 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 113-118 and related subject-matter.

Invention 9 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 129-134 and related subject-matter.

Invention 10 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 145-150 and related subject-matter.

Invention 11 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 161-166 and related subject-matter.

Invention 12 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 177-182 and related subject-matter.

Invention 13 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 209-214 and related subject-matter.

Invention 14 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 218-223 and related subject-matter.

Invention 15 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 224- 229 and related subject-matter.

Invention 16 : An antibody that specifically binds to human

International Application No. PCT/ US2017/ 058880

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

MICA*008 as defined by CDR sequences 236-241 and related subject-matter.

Invention 17 : An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by CDR sequences 242-247 and related subject-matter.

Invention 18 : claims 329-333 (completely).

An antibody that specifically binds to human MICA*008 as defined by the subject-matter of claims 329-333 and related subject-matter.

International Application No. PCT/ US2017/ 058880

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 14-90, 204-217, 225-238(completely); 1-6, 91-203, 239-326, 334-336(partially)

Non-unity, unpaid searches

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guidelines C-IV, 7.2), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I	テーマコード (参考)	
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21	4 H 0 4 5
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 1 2 P	21/08	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 K	47/68	(2017.01)	A 6 1 K	47/68	
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	T
A 6 1 K	45/06	(2006.01)	A 6 1 K	45/06	

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. UNIX
2. TRITON
3. Cremophor

(72)発明者	シュピース, クリストフ				
	アメリカ合衆国 カリフォルニア	9 4 0 8 0,	サウス サンフランシスコ,	ディーエヌエー	
	ウェイ 1, シー/オー	ジェネンテック,	インコーポレイテッド		
(72)発明者	キム, ジョン				
	アメリカ合衆国 カリフォルニア	9 4 0 8 0,	サウス サンフランシスコ,	ディーエヌエー	
	ウェイ 1, シー/オー	ジェネンテック,	インコーポレイテッド		
(72)発明者	トイ, イヴァンジェリン				
	アメリカ合衆国 カリフォルニア	9 4 0 8 0,	サウス サンフランシスコ,	ディーエヌエー	
	ウェイ 1, シー/オー	ジェネンテック,	インコーポレイテッド		
(72)発明者	シャルトナー, ジル				
	アメリカ合衆国 カリフォルニア	9 4 0 8 0,	サウス サンフランシスコ,	ディーエヌエー	
	ウェイ 1, シー/オー	ジェネンテック,	インコーポレイテッド		
(72)発明者	イエー, チョンマオ				
	アメリカ合衆国 カリフォルニア	9 4 0 8 0,	サウス サンフランシスコ,	ディーエヌエー	
	ウェイ 1, シー/オー	ジェネンテック,	インコーポレイテッド		
(72)発明者	ベヴァーズ, ザ サード ジャック				
	アメリカ合衆国 カリフォルニア	9 4 0 8 0,	サウス サンフランシスコ,	ディーエヌエー	
	ウェイ 1, シー/オー	ジェネンテック,	インコーポレイテッド		
(72)発明者	クック, ライアン				
	アメリカ合衆国 カリフォルニア	9 4 0 8 0,	サウス サンフランシスコ,	ディーエヌエー	
	ウェイ 1, シー/オー	ジェネンテック,	インコーポレイテッド		
(72)発明者	マツモト, マリッサ				
	アメリカ合衆国 カリフォルニア	9 4 0 8 0,	サウス サンフランシスコ,	ディーエヌエー	
	ウェイ 1, シー/オー	ジェネンテック,	インコーポレイテッド		

(72)発明者 バークレイ, エイミー

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
ウェイ 1, シー/オー ジェネンテック, インコーポレイテッド

Fターム(参考) 4B064 AG27 CA19 CE06 CE11 CE12 DA05

4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AB01 BA02 CA25 CA44

4C076 AA95 CC27 CC41 EE59

4C084 AA19 AA23 NA13 ZB26 ZB27

4C085 AA14 BB31 CC23 EE03 GG01 GG02 GG03 GG04

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 DA76 EA20 EA28 FA72 FA74

GA10 GA23 GA26