(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2017-18106
(P2017-18106A)
(43)公開日　平成29年1月26日(2017.1.26)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4B064
C07K 16/24	(2006.01)	C07K	16/24		4B065
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4C084
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4C085
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4H045

審査請求 未請求　請求項の数 36　ＯＬ　外国語出願　（全 150 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2016-142281 (P2016-142281)
(22)出願日　平成28年7月20日 (2016.7.20)
(62)分割の表示　特願2015-556599 (P2015-556599)の分割
原出願日　平成26年2月7日 (2014.2.7)
(31)優先権主張番号　61/762,406
(32)優先日　平成25年2月8日 (2013.2.8)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　504389991
ノバルティス　アーゲー
スイス国　バーゼル　リヒトシュトラーセ　３５
(74)代理人　100092783
弁理士　小林　浩
(74)代理人　100120134
弁理士　大森　規雄
(74)代理人　100104282
弁理士　鈴木　康仁
(72)発明者　ディ　パドバ，フランコ，イー.
スイス国　バーゼル　ツェーハー－４００２，ポストファッハ，ノバルティス　ファーマ　アーゲー内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】抗ＩＬ－１７Ａ抗体ならびに自己免疫性および炎症性障害の処置におけるその使用

(57)【要約】　（修正有）
【課題】ＩＬ－１７Ａに特異的に結合する抗体及びその抗原結合部分を含む蛋白質の提供。
【解決手段】単離された抗体又はその抗原結合部分を含む蛋白質で、ａ）特定の配列、別の特定の配列及び更に別の特定の配列によりコードされる配列に対する少なくとも９５％の同一性を有するＣＤＲアミノ酸配列と、ｂ）亦別の特定の配列、更に別の特定の配列番号及び前記配列のいずれとも異なる特定の配列によりコードされる配列に対する少なくとも６４％の同一性を有するＣＤＲアミノ酸配列とを含み、抗体又は蛋白質は、ホモ二量体ＩＬ－１７Ａ及びヘテロ二量体ＩＬ－１７ＡＦには特異的に結合するが、ホモ二量体ＩＬ－１７Ｆには特異的に結合しない、単離された抗体又はその抗原結合部分を含む蛋白質。ＩＬ－１７Ａ，ＩＬ－１７ＡＦ又はＩＬ－１７Ｆがカニクイザル、アカゲザル、マーモセット、ラット、マウス又はヒトの１つ以上から選択され、単離された抗体又は蛋白質。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質であって、
ａ）配列番号７、配列番号８および配列番号３によりコードされる配列
に対する少なくとも９５％の同一性を有するＣＤＲアミノ酸配列と、
ｂ）配列番号４２、配列番号２３および配列番号１１によりコードされる配列
に対する少なくとも６４％の同一性を有するＣＤＲアミノ酸配列と
を含み、
前記抗体またはタンパク質は、ホモ二量体ＩＬ－１７Ａおよびヘテロ二量体ＩＬ－１７ＡＦには特異的に結合するが、ホモ二量体ＩＬ－１７Ｆには特異的に結合しない、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質。
【請求項２】
前記ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－１７ＡＦまたはＩＬ－１７Ｆが、カニクイザル、アカゲザル、マーモセット、ラット、マウスまたはヒトの１つまたは複数から選択される、請求項１に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項３】
ａ）配列番号１２
に対する少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列と、
ｂ）配列番号４３
に対する少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列と
を含む、請求項１または２に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項４】
ａ）配列番号１４
に対する少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列と、
ｂ）配列番号４４
に対する少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列と
を含む、前記請求項のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項５】
ａ）第１の可変アミノ酸がＧｌｙ（Ｇ）およびＶａｌ（Ｖ）からなる群から選択され、第２の可変アミノ酸がＴｙｒ（Ｙ）、Ａｓｎ（Ｎ）およびＩｌｅ（Ｉ）からなる群から選択され、第３の可変アミノ酸がＴｒｐ（Ｗ）およびＳｅｒ（Ｓ）からなる群から選択され、第４の可変アミノ酸がＧｌｕ（Ｅ）およびＡｌａ（Ａ）からなる群から選択される、配列番号７３の軽鎖ＣＤＲ１ドメイン；
ｂ）前記可変アミノ酸がＡｓｎ（Ｎ）およびＧｌｎ（Ｑ）からなる群から選択される、配列番号７４の軽鎖ＣＤＲ２ドメイン；ならびに
ｃ）前記可変アミノ酸がＡｓｎ（Ｎ）およびＡｓｐ（Ｄ）からなる群から選択される、配列番号７５の軽鎖ＣＤＲ３ドメイン
からなる群から選択されるＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３ドメインを含む軽鎖可変領域を含む、前記請求項のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項６】
順番に、
ａ）配列番号７、配列番号８および配列番号３を含む重鎖ＣＤＲと、
順番に、
ｂ）配列番号４２、配列番号２３および配列番号１１、
ｃ）配列番号４２、配列番号１０および配列番号１１、
ｄ）配列番号３４、配列番号２３および配列番号１１、または
ｅ）配列番号２２、配列番号２３および配列番号２４
を含む軽鎖ＣＤＲと
を含む、前記請求項のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項７】

ａ）配列番号１２
を含む免疫グロブリン重鎖と、
ｂ）配列番号４３、
ｃ）配列番号５３、
ｄ）配列番号３５、または
ｅ）配列番号２５
を含む免疫グロブリン軽鎖と
を含む、請求項１から５のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項８】
ａ）配列番号１４
を含む免疫グロブリン重鎖と、
ｂ）配列番号４４、
ｃ）配列番号５４、
ｄ）配列番号３６、または
ｅ）配列番号２６
を含む免疫グロブリン軽鎖と
を含む、請求項１から５のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項９】
前記請求項のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質と同じエピトープに結合する、単離された抗体またはタンパク質。
【請求項１０】
Ａｒｇ７８、Ｇｌｕ８０、およびＴｒｐ９０を含むＩＬ－１７Ａエピトープに結合する、請求項９に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項１１】
前記エピトープがＴｙｒ８５またはＡｒｇ１２４のいずれか１つまたは複数をさらに含む、請求項１０に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項１２】
前記請求項のいずれか一項に記載の抗体またはタンパク質と同等のエピトープ認識特性を有する抗原認識表面を含む、単離された抗体またはタンパク質。
【請求項１３】
前記請求項のいずれか一項に記載の抗体の少なくとも１つによりＩＬ－１７ＡまたはＩＬ－１７ＡＦへの結合から交差遮断される、単離された抗体またはタンパク質。
【請求項１４】
前記抗体またはタンパク質が、
ａ）ヒトＩＬ－１７Ｆホモ二量体、ＩＬ－１７Ｂホモ二量体、ＩＬ－１７Ｃホモ二量体、ＩＬ－１７Ｄホモ二量体、ＩＬ－１７Ｅホモ二量体のいずれか１つもしくは複数、および／または
ｂ）カニクイザルＩＬ－１７Ｆホモ二量体、マウスＩＬ－１７Ｆホモ二量体のいずれか１つもしくは複数、および／または
ｃ）ＩＬ－１、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ｇＩＦＮ、ＴＮＦアルファ、ＥＧＦ、ＧＭＣＳＦ、ＴＧＦベータ２からなる群から選択される他のヒトサイトカインのいずれか１つもしくは複数、および／または
ｄ）ＩＬ－１ｂ、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－６、ＩＬ－１２、ＩＬ１８、ＩＬ２３、ＩＦＮもしくはＴＮＦからなる群から選択される他のマウスサイトカインのいずれか１つもしくは複数
に特異的に結合しない、前記請求項のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項１５】
ＩＬ－１７Ａへの結合が、
ａ）ＩＬ－１７Ａとその受容体との間の結合を阻害するか、または遮断し、かつ、

ｂ）ＩＬ－１７Ａ活性を低下させるか、または中和する、
前記請求項のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項１６】
ヒトＩＬ－１７Ａに対する結合親和性がＢｉａｃｏｒｅ（商標）により測定した場合、２００ｐＭまたは１００ｐＭ未満である、前記請求項のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項１７】
好ましくは、培養軟骨細胞または線維芽細胞を用いて、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで評価された場合、ＩＬ－６分泌、またはＧＲＯ－アルファ分泌を阻害することができる、前記請求項のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項１８】
ｉｎ　ｖｉｖｏで抗原誘導性関節炎実験モデルにおける膝の腫れを阻害することができる、前記請求項のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項１９】
さらなる活性部分にコンジュゲートされた、前記請求項のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項２０】
モノクローナル抗体またはその抗原結合部分、好ましくは、キメラ、ヒト化、もしくはヒト抗体またはその部分である、前記請求項のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項２１】
１つまたは複数の医薬的に許容される賦形剤、希釈剤または担体と組み合わせて、前記請求項のいずれか一項に記載の抗体またはタンパク質を含む、医薬組成物。
【請求項２２】
１つまたは複数のさらなる活性成分をさらに含む、請求項２１に記載の医薬組成物。
【請求項２３】
ＩＬ－１７Ａにより媒介されるか、またはＩＬ－６もしくはＧＲＯ－アルファ分泌を阻害することにより処置することができる病理学的障害の処置における使用のための、請求項１から２０のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項２４】
炎症性障害または状態の処置における使用のための、請求項２３に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項２５】
関節炎、関節リウマチ、乾癬、慢性閉塞性肺疾患、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、ループス腎炎、喘息、多発性硬化症、または嚢胞性線維症の処置における使用のための、請求項２４に記載の単離された抗体またはタンパク質。
【請求項２６】
ＩＬ－１７Ａにより媒介されるか、またはＩＬ－６もしくはＧＲＯ－アルファ分泌を阻害することにより処置することができる病理学的障害の処置における使用のための医薬の製造における請求項１から２０のいずれか一項に記載の抗体またはタンパク質の使用。
【請求項２７】
前記病理学的障害が炎症性障害または状態である、請求項２６に記載の使用。
【請求項２８】
前記炎症性障害または状態が、関節炎、関節リウマチ、乾癬、慢性閉塞性肺疾患、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、ループス腎炎、喘息、多発性硬化症または嚢胞性線維症である、請求項２７に記載の使用。
【請求項２９】
ＩＬ－１７Ａにより媒介される病理学的障害を処置する方法であって、前記状態が軽減されるように、請求項１から２０のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質の有効量を投与する工程を含む、方法。

【請求項３０】
前記状態が炎症性障害または状態である、請求項２９に記載の方法。
【請求項３１】
前記状態が、関節炎、関節リウマチ、乾癬、慢性閉塞性肺疾患、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、ループス腎炎、喘息、多発性硬化症または嚢胞性線維症である、請求項３０に記載の方法。
【請求項３２】
請求項１から２０のいずれか一項に記載の抗体またはタンパク質のいずれか１つをコードする単離された核酸分子。
【請求項３３】
請求項３２に記載の１つまたは複数の核酸配列を含むクローニングまたは発現ベクターであって、前記ベクターは、請求項１から２０のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質の組換え生成に好適である、クローニングまたは発現ベクター。
【請求項３４】
請求項３３に記載の１つまたは複数のクローニングまたは発現ベクターを含む宿主細胞。
【請求項３５】
前記核酸分子がメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）である、請求項３２に記載の単離された核酸分子。
【請求項３６】
請求項１から２０のいずれか一項に記載の単離された抗体またはタンパク質を生成するための方法であって、請求項３４に記載の宿主細胞を培養する工程、前記抗体またはタンパク質を精製および回収する工程を含む、方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願
本開示は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる２０１３年２月８日に出願されたＵＳ６１／７６２４０６の優先権を主張する。
【０００２】
発明の分野
本開示は、ＩＬ－１７Ａに特異的に結合する抗体およびその抗原結合部分を含むタンパク質に関する。本開示は、より具体的には、ＩＬ－１７Ａの効果を阻害し、ＩＬ－１７Ａにより誘導される活性を阻害することができる特異的抗体およびタンパク質、ならびに前記抗体およびタンパク質を使用して、例えば、ＩＬ－１７Ａシグナリング（signaling）の阻害により処置することができる病理学的障害、例えば、自己免疫性および炎症性障害、例えば、関節リウマチ、乾癬、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、ループス腎炎、多発性硬化症、または慢性閉塞性肺疾患、喘息もしくは嚢胞性線維症を処置する組成物および方法に関する。
【背景技術】
【０００３】
発明の背景
インターロイキン－１７Ａ（ＩＬ－１７ＡはＩＬ－１７と呼ばれることもある）は、炎症性Ｔ細胞の新しく定義されたサブセット、Ｔｈ１７細胞により生成される中心的なリンホカインである。いくつかの動物モデルにおいて、これらの細胞は、様々な自己免疫性および炎症性プロセスにとって極めて重要である。ＩＬ－１７Ａレベルの増加は、ブドウ膜炎（Ambadi-Obi, et al 2007, Nature Med; 13:711-718）、関節リウマチ（ＲＡ）、乾癬、気道炎症、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、炎症性腸疾患（クローン病および潰瘍性大腸炎）、同種移植片拒絶、がん、腹腔内膿瘍および癒着、ならびに多発性硬化症（Weaver, et al 2007, Annu Rev Immunol; 25:821-852；Witowski et al 2004, Cell Mol Life S

ci; 61:567-579）と関連してきた。Ｔｈ１７細胞は好中球により支配される炎症応答を迅速に開始させることができる（Miossec, et al 2009, NEJM; 361:888-98）。

【０００４】

ＩＬ－１７Ａは、げっ歯類のＴ細胞ハイブリドーマに由来する転写物から元々同定されたものである。それはＩＬ－１７ファミリーと呼ばれるサイトカイン群の基本メンバーである。げっ歯類においてはＣＴＬＡ８として知られ、ＩＬ－１７ＡはＴリンパ球向性ラジノウイルスヘルペスウイルスサイミリ（Rouvier E, et al 1993, J. Immunol. 150: 5445-56）のオープンリーディングフレームによりコードされるウイルスＩＬ－１７Ａに対する高い相同性を示す。

【０００５】

ＩＬ－１７Ａは、インターフェロンガンマと同様、様々な組織におけるケモカイン生成を増加させることによって遅延型反応における強力なメディエータとして作用し、単球および好中球を炎症部位に動員するサイトカインである。ＩＬ－１７ファミリーは、細胞外病原体による免疫系の侵入に応答し、病原体の細胞マトリックスの破壊を誘導する炎症促進性サイトカインの役割において機能する。ＩＬ－１７Ａは、腫瘍壊死因子およびインターロイキン－１と相乗的に作用する（Miossec P, et al 2009, N. Engl. J. Med. 361:888-98）。

【０００６】

その機能を惹起するために、ＩＬ－１７Ａは、ＩＬ－１７Ｒと呼ばれるＩ型細胞表面受容体に結合し、少なくとも２つのバリアント、ＩＬ－１７ＲＡおよびＩＬ－１７ＲＣが存在する（Pappu R, et al 2012, Trends Immunol.; 33:343-9）。ＩＬ－１７ＲＡは、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－１７ＡＦおよびＩＬ－１７Ｆに結合し、複数の組織：血管内皮細胞、末梢性Ｔ細胞、Ｂ細胞系列、線維芽細胞、肺、骨髄単球、および骨髄間質細胞において発現される（Kolls JK, Linden A 2004, Immunity 21:467-76; Kawaguchi M, et al 2004, J. Allergy Clin. Immunol. 114:1265-73; Moseley TA, et al 2003, Cytokine Growth Factor Rev. 14:155-74）。

【０００７】

ＩＬ－１７Ａに加えて、ＩＬ－１７ファミリーのメンバーとしては、ＩＬ－１７Ｂ、ＩＬ－１７Ｃ、ＩＬ－１７Ｄ、ＩＬ－１７Ｅ（ＩＬ－２５とも呼ばれる）、およびＩＬ－１７Ｆが挙げられる。ＩＬ－１７ファミリーの全てのメンバーは、類似するタンパク質構造を有し、その三次元形状にとって重要である４つの高度に保存されたシステイン残基を有する。系統発生分析により、ＩＬ－１７ファミリーメンバーのうち、ＩＬ－１７Ｆアイソフォーム１および２（ＭＬ－１）がＩＬ－１７Ａに対する最も高い相同性を有し（それぞれ、ＩＬ－１７Ａに対する５５％および４０％のアミノ酸同一性を有する）、次いで、ＩＬ－１７Ｂ（２９％）、ＩＬ－１７Ｄ（２５％）、ＩＬ－１７Ｃ（２３％）に対する相同性を有し、ＩＬ－１７ＥがＩＬ－１７Ａとの関連が最も遠い（１７％）ことが示される。これらのサイトカインは全て、哺乳動物において良好に保存され、６２～８８％ものアミノ酸がヒトとマウス相同体間で保存されている（Kolls JK, Linden A 2004, Immunity 21:467-76）。

【０００８】

ＩＬ－１７Ａは、３５ｋＤａの分子量を有する、ジスルフィド結合したホモ二量体の分泌糖タンパク質である１５５アミノ酸のタンパク質である（Kolls JK, Linden A 2004, Immunity 21:467-76）。ＩＬ－１７Ａの構造は、シグナルペプチド、次いで、ＩＬ－１７ファミリーに特徴的なアミノ酸領域からなる。タンパク質上のＮ結合グリコシル化部位は、タンパク質の精製後に初めて同定され、標準的なＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析において２つのバンド、一方は１５ｋＤａおよび他方は２０ｋＤａを示した。ＩＬ－１７ファミリーの異なるメンバーの比較は、２つのジスルフィド結合を形成する４つの保存されたシステインを示した（Yao Z, et al 1995, J. Immunol. 155:5483-6）。ＩＬ－１７は、それが他の公知のインターロイキンとの類似性を有さない点でユニークである。さらに、ＩＬ－１７は、他のいかなる公知のタンパク質または構造ドメインに対しても類似性を有さない（Ko

lls JK, Linden A 2004, Immunity 21:467-76）。一般に、ＩＬ－１７ＦなどのＩＬ－１７ファミリーの他のメンバーは、ホモ二量体を形成する（ＩＬ－１７Ａと同様）。

【０００９】

ＩＬ－１７Ａはまた、ある特定の環境下ではＩＬ－１７Ｆとヘテロ二量体を形成することも知られている。また、ヘテロ二量体ＩＬ－１７ＡＦも、ＩＬ－２３による刺激後にＴｈ１７細胞により生成される。

【００１０】

ＩＬ－１７ＡＦは、ＩＬ－１７ＡおよびＩＬ－１７Ｆと同様、ＩＬ－１７ＲＡおよびＩＬ－１７ＲＣ受容体を介してシグナルを伝達すると考えられる。ＩＬ－１７ＡＦの生物学的機能は、ＩＬ－１７AおよびＩＬ－１７Ｆのそれと類似する。ＩＬ－１７ＡＦによる標的細胞の刺激は、適切な環境においては気道好中球増加に加えて、様々なケモカインの生成を誘導する。ＩＬ－１７ＡＦは、ホモ二量体ＩＬ－１７Ａよりもこれらの活性においてあまり強力ではないが、ホモ二量体ＩＬ－１７Ｆよりは強力であると考えられる。例えば、ＩＬ－１７Ａの効力が１である場合、ＩＬ－１７ＡＦの相対効力は、ＩＬ－１７Ａのそれの約１／１０であり、ＩＬ－１７Ｆの相対効力は、ＩＬ－１７Ａのそれの約１／１００である。ヒトおよびマウスＩＬ－１７ＡＦは両方とも、マウス細胞に対する活性を示す。ＩＬ－１７ＡＦは、合計２７１個のアミノ酸からなり、約３０．７ｋＤａの分子量を有する（Ｓｈｅｎａｎｄｏａｈ　ＢｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙからのヒトＩＬ－１７ＡＦヘテロ二量体の製品説明からのデータ）。

【００１１】

いくつかの関連する結晶構造が公開されている。これらのものは、ホモ二量体ＩＬ－１７Ｆの結晶構造を含む（Hymowitz et al 2001, EMBO J, 19:5332-5341）。

【００１２】

受容体ＩＬ－１７ＲＡとの複合体にあるＩＬ－１７Ｆの結晶構造も公開されている（Ely et al., 2009 Nature Immunology 10:1245-1251）。さらに、抗体のＦａｂ断片との複合体にあるＩＬ－１７Ａの少なくとも１つの結晶構造が公開されている（Gerhardt et al., 2009 Journal of Molecular Biology, 5:905-921）。

【００１３】

乾癬を含むいくつかの炎症疾患および自己免疫疾患は、Ｔｈ１および／またはＴｈ１７応答の増悪と関連する。それらの多くは現在、一般的な免疫抑制剤または抗ＴＮＦ－α抗体などの非常に選択的に作用する生物製剤のいずれかを用いて処置されているが、全ての患者において有効であるわけではない。これらのものは感染の危険性を増大させ、反復処置の後に無効になることがわかった。したがって、高い安全性プロファイルおよび前記疾患の長期的寛解または治癒を誘導する同時的能力を有する処置に関する満たされない医学的要求がある。

【００１４】

いくつかの免疫調節機能がＩＬ－１７ファミリーのサイトカインについて報告されており、それは多くの免疫シグナリング分子のその誘導によるものと推測される。ＩＬ－１７Ａの最も重要な役割は、炎症促進性応答の誘導および媒介におけるその関与である。ＩＬ－１７Ａはまた、アレルギー応答とも関連する。ＩＬ－１７は、多くの細胞型（線維芽細胞、内皮細胞、上皮細胞、ケラチノサイト、およびマクロファージ）からの、他の多くのサイトカイン（ＩＬ－６、Ｇ－ＣＳＦ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１β、ＴＧＦ－β、ＴＮＦ－αなど）、ケモカイン（ＩＬ－８、ＧＲＯ－α、およびＭＣＰ－１など）、ならびにプロスタグランジン（例えば、ＰＧＥ２）の生成を誘導する。サイトカインの放出は、ＩＬ－１７Ａ応答に特徴的な、気道再モデリングなどの多くの機能を引き起こす。ケモカインの発現の増加は、好中球などの他の細胞を誘引するが、好酸球は誘引しない。ＩＬ－１７機能は、ヘルパーＴ細胞１７（Ｔｈ１７）と呼ばれるＣＤ４＋Ｔ細胞のサブセットにとっても必須である。これらの役割の結果として、ＩＬ－１７ファミリーは、関節リウマチ、喘息、狼瘡、同種移植片拒絶および抗腫瘍免疫などの多くの免疫／自己免疫関連疾患と関連している（Aggarwal S, Gurney AL 2002, J. Leukoc. Biol. 71:1-8）。さらに、関連

は、変形性関節症、敗血症、敗血性または内毒素性ショック、アレルギー反応、骨量低下、乾癬、虚血、全身性硬化症、線維症、および脳卒中などのさらなる状態に引きつけられる。

【００１５】

かくして、ＩＬ－１７Ａの効果に拮抗し、そして、ＩＬ－１７Ａにより誘導される活性を阻害することができる特異的抗体、ならびに、特に、前記抗体を使用して、ＩＬ－１７Ａシグナリングの阻害により処置することができる病理学的障害を処置する組成物および方法が必要である。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【００１６】

発明の要旨

したがって、一態様において、本開示は、配列番号７、配列番号８および配列番号３によりコードされる配列に対する少なくとも９５％の同一性を有するＣＤＲアミノ酸配列、ならびに配列番号４２、配列番号２３および配列番号１１によりコードされる配列に対する少なくとも６４％の同一性を有するＣＤＲアミノ酸配列を含む、単離された抗体または抗体の抗原結合部分を含むタンパク質を提供し、ここで、前記抗体または分子は、ホモ二量体ＩＬ－１７Ａおよびヘテロ二量体ＩＬ－１７ＡＦに特異的に結合するが、ホモ二量体ＩＬ－１７Ｆには特異的に結合しない。

【００１７】

一実施形態においては、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－１７ＡＦまたはＩＬ－１７Ｆは、カニクイザル（cynomolgus monkey）、アカゲザル（rhesus macaque monkey）、マーモセット、ラット、マウスまたはヒトの２種または３種またはそれ以上などの、１種または複数から選択される。１つの特定の実施形態においては、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－１７ＡＦまたはＩＬ－１７Ｆは、ヒト由来である。１つの特定の実施形態においては、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－１７ＡＦまたはＩＬ－１７Ｆは、ヒトおよびマウス由来である。１つの特定の実施形態においては、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－１７ＡＦまたはＩＬ－１７Ｆは、カニクイザル、アカゲザル、マーモセット、ラット、マウスおよびヒト由来である。

【００１８】

１つの特定の実施形態においては、本開示の単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号１２に対する少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列、および配列番号４３に対する少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一実施形態においては、単離された抗体は、配列番号１４に対する少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列、および配列番号４４に対する少なくとも９５％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００１９】

一実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、
ａ）第１の可変アミノ酸がＧｌｙ（Ｇ）およびＶａｌ（Ｖ）からなる群から選択され、第２の可変アミノ酸がＴｙｒ（Ｙ）、Ａｓｎ（Ｎ）およびＩｌｅ（Ｉ）からなる群から選択され、第３の可変アミノ酸がＴｒｐ（Ｗ）およびＳｅｒ（Ｓ）からなる群から選択され、第４の可変アミノ酸がＧｌｕ（Ｅ）およびＡｌａ（Ａ）からなる群から選択される、配列番号７３の軽鎖ＣＤＲ１ドメイン；
ｂ）可変アミノ酸がＡｓｎ（Ｎ）およびＧｌｎ（Ｑ）からなる群から選択される、配列番号７４の軽鎖ＣＤＲ２ドメイン；ならびに
ｃ）可変アミノ酸がＡｓｎ（Ｎ）およびＡｓｐ（Ｄ）からなる群から選択される、配列番号７５の軽鎖ＣＤＲ３ドメイン
からなる群から選択されるＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３ドメインを含む軽鎖可変領域を含む。

【００２０】

一実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、

順番に（in sequence）、ａ）配列番号７、配列番号８および配列番号３を含む重鎖ＣＤＲと、順番に、ｂ）配列番号４２、配列番号２３および配列番号１１、ｃ）配列番号４２、配列番号１０および配列番号１１、ｄ）配列番号３４、配列番号２３および配列番号１１、ｅ）配列番号２２、配列番号２３および配列番号２４、またはｆ）配列番号９、配列番号１０および配列番号１１を含む軽鎖ＣＤＲとを含む。

【００２１】

１つの特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、重鎖ＣＤＲ（順番に、配列番号７、配列番号８および配列番号３）と、軽鎖ＣＤＲ（順番に、配列番号４２、配列番号２３および配列番号１１）とを含む。

【００２２】

別の特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、重鎖ＣＤＲ（順番に、配列番号７、配列番号８および配列番号３）と、軽鎖ＣＤＲ（順番に、配列番号４２、配列番号１０および配列番号１１）とを含む。

【００２３】

別の特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、重鎖ＣＤＲ（順番に、配列番号７、配列番号８および配列番号３）と、軽鎖ＣＤＲ（順番に、配列番号３４、配列番号２３および配列番号１１）とを含む。

【００２４】

別の特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、重鎖ＣＤＲ（順番に、配列番号７、配列番号８および配列番号３）と、軽鎖ＣＤＲ（順番に、配列番号２２、配列番号２３および配列番号２４）とを含む。

【００２５】

別の特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、重鎖ＣＤＲ（順番に、配列番号７、配列番号８および配列番号３）と、軽鎖ＣＤＲ（順番に、配列番号９、配列番号１０および配列番号１１）とを含む。

【００２６】

一実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、ａ）配列番号１２を含む免疫グロブリン重鎖と、ｂ）配列番号４３、ｃ）配列番号５３、ｄ）配列番号３５、ｅ）配列番号２５、またはｆ）配列番号１３を含む免疫グロブリン軽鎖とを含む。

【００２７】

１つの特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号１２に記載の免疫グロブリン重鎖と、配列番号４３に記載の免疫グロブリン軽鎖とを含む。

【００２８】

１つの特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号１２に記載の免疫グロブリン重鎖と、配列番号５３に記載の免疫グロブリン軽鎖とを含む。

【００２９】

１つの特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号１２に記載の免疫グロブリン重鎖と、配列番号３５に記載の免疫グロブリン軽鎖とを含む。

【００３０】

１つの特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号１２に記載の免疫グロブリン重鎖と、配列番号２５に記載の免疫グロブリン軽鎖とを含む。

【００３１】

１つの特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号１２に記載の免疫グロブリン重鎖と、配列番号１３に記載の免疫グロブリン軽鎖とを含む。

【００３２】
一実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、ａ）配列番号１４を含む免疫グロブリン重鎖と、ｂ）配列番号４４、ｃ）配列番号５４、ｄ）配列番号３６、ｅ）配列番号２６、またはｆ）配列番号１５を含む免疫グロブリン軽鎖とを含む。
【００３３】
１つの特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号１４に記載の免疫グロブリン重鎖と、配列番号４４に記載の免疫グロブリン軽鎖とを含む。
【００３４】
１つの特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号１４に記載の免疫グロブリン重鎖と、配列番号５４に記載の免疫グロブリン軽鎖とを含む。
【００３５】
１つの特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号１４に記載の免疫グロブリン重鎖と、配列番号３６に記載の免疫グロブリン軽鎖とを含む。
【００３６】
１つの特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号１４に記載の免疫グロブリン重鎖と、配列番号２６に記載の免疫グロブリン軽鎖とを含む。
【００３７】
１つの特定の実施形態においては、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号１４に記載の免疫グロブリン重鎖と、配列番号１５に記載の免疫グロブリン軽鎖とを含む。
【００３８】
本開示の一態様においては、本開示の特定の実施形態による単離された抗体または分子と同じエピトープに結合する、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質が提供される。
【００３９】
一実施形態において、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、Ａｒｇ７８、Ｇｌｕ８０、およびＴｒｐ９０を含む、ヒトＩＬ－１７Ａエピトープなどの ＩＬ－１７Ａエピトープに結合する。
【００４０】
ＩＬ－１７Ａエピトープは、ＴｙｒまたはＡｒｇ１２４をさらに含んでもよい。
【００４１】
一実施形態において、ヒトＩＬ－１７ＡエピトープなどのＩＬ－１７Ａエピトープは、Ｐｒｏ８２、ＳｅｒまたはＶａｌのうちの１つまたは複数をさらに含む。
【００４２】
本開示の一態様においては、特定の実施形態による抗体または分子と同等（equivalent）のエピトープ認識特性を有する抗原認識表面を含む、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質が提供される。
【００４３】
本開示の一態様においては、特定の実施形態による少なくとも１つの抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質により、ヒトＩＬ－１７Ａなどの ＩＬ－１７Ａ、またはヒトＩＬ－１７ＡＦなどのＩＬ－１７ＡＦへの結合から交差遮断（cross-blocked）される単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質が提供される。
【００４４】
一実施形態においては、抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、ａ）ヒトＩＬ－１７Ｆホモ二量体、ＩＬ－１７Ｂホモ二量体、ＩＬ－１７Ｃホモ二量体、ＩＬ－１７

Ｄホモ二量体、ＩＬ－１７Ｅホモ二量体のいずれか１つもしくは複数、および／またはｂ）カニクイザルＩＬ－１７Ｆホモ二量体、マウスＩＬ－１７Ｆホモ二量体のいずれか１つもしくは複数、および／またはｃ）ＩＬ－１、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ｇＩＦＮ、ＴＮＦアルファ、ＥＧＦ、ＧＭＣＳＦ、ＴＧＦベータ２からなる群から選択された他のヒトサイトカインのいずれか１つもしくは複数、および／またはｄ）ＩＬ－１ｂ、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－６、ＩＬ－１２、ＩＬ１８、ＩＬ２３、ＩＦＮもしくはＴＮＦからなる群から選択される他のマウスサイトカインのいずれか１つもしくは複数に特異的に結合しない。

【００４５】

一実施形態においては、抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、ヒトＩＬ－１７ＡなどのＩＬ－１７Ａに結合し、該抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質はＩＬ－１７Ａとその受容体との間の結合を阻害または遮断し、そして、ＩＬ－１７Ａ活性を低下させるか、または中和する。

【００４６】

一実施形態においては、ヒトＩＬ－１７Ａに対する前記抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質の結合親和性は、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）により測定された場合、１００ｎＭ以下、１０ｎＭ以下、１ｎＭ以下、１００ｐＭ以下、または１０ｐＭ以下である。特定の実施形態においては、ヒトＩＬ－１７Ａに対する前記抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質の結合親和性は、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）により測定された場合、２００ｐＭ未満、または１００ｐＭ未満である。

【００４７】

一実施形態においては、抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで、好ましくは、培養軟骨細胞または線維芽細胞を用いて評価した場合、ＩＬ－６分泌、またはＧＲＯ－アルファ分泌を阻害することができる。

【００４８】

一実施形態においては、抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、ラットＡＩＡモデルなどのｉｎ　ｖｉｖｏでの抗原誘導性関節炎実験モデルにおいて膝の腫れ（knee swelling）を阻害することができる。

【００４９】

一実施形態においては、抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、さらなる活性部分にコンジュゲートされる。

【００５０】

抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であってもよく、好ましくは、キメラ、ヒト化、もしくはヒト抗体またはその部分であってもよい。

【００５１】

本開示の態様においては、１つまたは複数の医薬的に許容される賦形剤、希釈剤または担体と組み合わせて、本開示の実施形態による抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質を含む医薬組成物が提供される。

【００５２】

ある実施形態において、医薬組成物は、１つまたは複数のさらなる活性成分を含む。

【００５３】

１つの特定の実施形態においては、前記医薬組成物は、凍結乾燥物（lyophilisate）である。別の特定の実施形態においては、医薬組成物は、好ましくは事前に充填された注射筒（シリンジ（syringe））として調製された、治療上許容される量の本開示の抗体または分子を含む液体製剤である。

【００５４】

本開示はさらに、医薬としての使用のため、より好ましくは、ＩＬ－１７Ａにより媒介されるか、またはＩＬ－１７Ａシグナリング、またはＩＬ－６もしくはＧＲＯ－アルファ分泌の阻害により処置することができる病理学的障害の処置のための、本開示の前記抗体

またはその抗原結合部分を含むタンパク質、特に、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５抗体の使用に関する。

【００５５】

１つの特定の実施形態においては、本開示の抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質を、関節炎、関節リウマチ、乾癬、慢性閉塞性肺疾患、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、ループス腎炎、喘息、多発性硬化症、または嚢胞性線維症などの自己免疫性および炎症性障害の処置のために用いることができる。

【００５６】

本開示の一態様においては、ＩＬ－１７Ａにより媒介されるか、またはＩＬ－６もしくはＧＲＯ－アルファ分泌を阻害することにより処置することができる病理学的障害の処置における使用のための医薬の製造における、本開示の前記抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質、特に、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５抗体の使用が提供される。

【００５７】

１つの特定の実施形態において、ＩＬ－１７Ａにより媒介されるか、またはＩＬ－６もしくはＧＲＯ－アルファ分泌を阻害することにより処置することができる病理学的障害は、関節炎、関節リウマチ、乾癬、慢性閉塞性肺疾患、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、ループス腎炎、喘息、多発性硬化症または嚢胞性線維症などの炎症障害または状態である。

【００５８】

本開示の一態様においては、ＩＬ－１７Ａにより媒介されるか、またはＩＬ－６もしくはＧＲＯ－アルファ分泌を阻害することにより処置することができる病理学的障害を処置する方法であって、状態が軽減されるように、有効量の本開示による単離された抗体または分子、特に、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５抗体を投与する工程を含む前記方法が提供される。

【００５９】

ある実施形態においては、状態は、関節炎、関節リウマチ、乾癬、慢性閉塞性肺疾患、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、ループス腎炎、喘息、多発性硬化症または嚢胞性線維症などの炎症障害または状態である。

【００６０】

本開示はまた、本開示の抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質を生成するための手段にも関する。そのような手段は、本開示の抗体もしくはタンパク質の少なくとも重鎖および／もしくは軽鎖可変領域をコードする単離された核酸分子、または特に、宿主細胞中での、本開示による抗体もしくはタンパク質、例えば、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４もしくはＸＡＢ５の組換え生成のために、そのような核酸を含むクローニング発現ベクターを含む。特定の実施形態においては、そのようなクローニングまたは発現ベクターは、配列番号１８、３１、５１、１９、２８、３２、３８、４０、４６、４８、５２、５６および５８からなる群から選択される少なくとも１つの核酸配列を含む。別の実施形態においては、それは、当業者には周知である好適なプロモーター配列に作動可能に連結された、配列番号１６、２９、４９、１７、２７、３０、３７、３９、４５、４７、５０、５５および５７からなる群から選択される可変重鎖および軽鎖配列のコード配列のうちの少なくとも１つを含む。

【００６１】

ある実施形態において、核酸分子はメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）である。

【００６２】

本開示はさらに、上記の１つまたは複数のクローニングまたは発現ベクターを含む宿主細胞および本開示の抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質、特に、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５の生成のためのプロセスであって、前記宿主細胞を培養する工程、前記抗体またはタンパク質を精製および回収する工程を含む前記プロセスに関する。

【００６３】
定義
本開示をより容易に理解することができるように、ある特定の用語が最初に定義される。さらなる定義は、詳細な説明を通して記載される。
【００６４】
用語「免疫応答」とは、侵入する病原体、病原体に感染した細胞もしくは組織、がん細胞、または自己免疫もしくは病的炎症の場合、正常なヒト細胞もしくは組織の、ヒト身体に対する選択的損傷、その破壊、またはそれからの除去をもたらす、例えば、リンパ球、抗原提示細胞、貪食細胞、顆粒球、および上記細胞または肝臓により生成される可溶性大分子（抗体、サイトカイン、および補体が挙げられる）の作用を指す。
【００６５】
「シグナル伝達経路」または「シグナリング活性」とは、細胞のある部分から細胞の別の部分へのシグナルの伝達をもたらす、増殖因子の受容体への結合などのタンパク質間相互作用により一般に開始される生化学的因果関係を指す。一般に、伝達は、シグナル伝達を引き起こす一連の反応における、１つまたは複数のタンパク質上の１つまたは複数のチロシン、セリン、またはトレオニン残基の特異的リン酸化を含む。最後から２番目のプロセスは、典型的には、遺伝子発現の変化をもたらす核事象を含む。
【００６６】
天然に存在する「抗体」は、ジスルフィド結合により相互接続された少なくとも２つの重（Ｈ）鎖と２つの軽（Ｌ）鎖とを含む糖タンパク質である。それぞれの重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではV_Hと省略される）と、重鎖定常領域とを含む。重鎖定常領域は、３つのドメイン、ＣＨ１、ＣＨ２およびＣＨ３を含む。それぞれの軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではV_Lと省略される）と、軽鎖定常領域とを含む。軽鎖定常領域は、１つのドメイン、C_Lを含む。V_HおよびV_L領域は、相補性決定領域（ＣＤＲ）と呼ばれる超可変領域にさらに分割することができ、V_HおよびV_L領域には、フレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる、より保存された領域が散在する。それぞれのV_HおよびV_Lは、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって以下の順序：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４で配置された３つのＣＤＲと４つのＦＲとを含む。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的補体系の第１成分（Ｃ１ｑ）などの宿主組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介することができる。
【００６７】
本明細書で用いられる用語「相補性決定領域」および「ＣＤＲ」とは、抗原特異性および結合親和性を付与する抗体可変領域内のアミノ酸の配列を指す。一般に、それぞれの重鎖可変領域には３つのＣＤＲが存在し（ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３）、それぞれの軽鎖可変領域には３つのＣＤＲが存在する（ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、ＬＣＤＲ３）。
【００６８】
所与のＣＤＲの正確なアミノ酸配列境界を、Kabat et al. (1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest,” 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD（「Kabat」の番号付けスキーム）、Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948（「Chothia」の番号付けスキーム）により記載されたものなどの、いくつかの周知のスキームのいずれかを用いて決定することができる。例えば、古典的形式について、Ｋａｂａｔの下では、重鎖可変ドメイン（ＶＨ）中のＣＤＲアミノ酸残基は、３１～３５（ＨＣＤＲ１）、５０～６５（ＨＣＤＲ２）、および９５～１０２（ＨＣＤＲ３）と番号付けられる；軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）中のＣＤＲアミノ酸残基は、２４～３４（ＬＣＤＲ１）、５０～５６（ＬＣＤＲ２）、および８９～９７（ＬＣＤＲ３）と番号付けられる。Ｃｈｏｔｈｉａの下では、ＶＨ中のＣＤＲアミノ酸は、２６～３２（ＨＣＤＲ１’）、５２～５６（ＨＣＤＲ２’）、および９５～１０２（ＨＣＤＲ３’）と番号付けられる；ＶＬ中のアミノ酸残基は、２６～３２（ＬＣＤＲ１’）、５０～５２

（ＬＣＤＲ２’）、および９１～９６（ＬＣＤＲ３’）と番号付けられる。ＫａｂａｔとＣｈｏｔｈｉａの両方のＣＤＲ定義を組み合わせることにより、ＣＤＲは、ヒトＶＨ中ではアミノ酸残基２６～３５（ＨＣＤＲ１）、５０～６５（ＨＣＤＲ２）、および９５～１０２（ＨＣＤＲ３）ならびにヒトＶＬ中ではアミノ酸残基２４～３４（ＬＣＤＲ１）、５０～５６（ＬＣＤＲ２）、および８９～９７（ＬＣＤＲ３）からなる。

【００６９】

本明細書で用いられる場合、抗体の「抗原結合部分」（または単に「抗原部分」）という用語は、抗原（例えば、ＩＬ－１７Ａの部分）に特異的に結合する能力を保持する、タンパク質などの抗体の全長または１つもしくは複数の断片を指す。抗体の抗原結合機能を、全長抗体の断片により実行することができることが示されている。抗体の「抗原結合部分」という用語に含まれる結合断片の例としては、V_L、V_H、C_LおよびＣＨ１ドメインからなる一価断片であるＦａｂ断片；ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結された２つのＦａｂ断片を含む二価断片であるＦ（ａｂ）$_2$断片；V_HおよびＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片；抗体の単一アームのV_LおよびV_HドメインからなるＦｖ断片；V_HドメインからなるｄＡｂ断片（Ward et al. 1989, Nature 341:544-546）；ならびに単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）、またはそのような抗原結合部分を含む任意の融合タンパク質が挙げられる。

【００７０】

したがって、用語「抗原結合部分」は、ラクダ科抗体または以下に記載のような「非抗体」分子などの、代替フレームワークまたは足場内に含まれていてもよい本開示の抗体に対応する部分を指してもよい。

【００７１】

さらに、Ｆｖ断片の２つのドメイン、V_LおよびV_Hは別々の遺伝子によってコードされるが、それらを、組換え方法を用いて、V_LおよびV_H領域が対形成して一価分子を形成する一本鎖タンパク質として作製することができるようにする合成リンカーにより連結することができる（一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られる；例えば、Bird et al. 1988, Science 242:423-426；およびHuston et al. 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883を参照されたい）。そのような一本鎖抗体も、抗体の「抗原結合部分」という用語に包含されることが意図される。これらの抗体断片は、当業者には公知の従来の技術を用いて得られ、その断片は無傷（インタクト（intact））抗体と同じ様式で有用性についてスクリーニングされる。

【００７２】

本明細書で用いられる場合、「単離された抗体」とは、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体を指す（例えば、ヒトＩＬ－１７ＡなどのＩＬ－１７Ａに特異的に結合する単離された抗体は、ＩＬ－１７Ａ以外の他の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない）。しかしながら、ＩＬ－１７Ａに特異的に結合する単離された抗体は、他の種に由来するＩＬ－１７Ａ分子、またはＩＬ－１７ＡＦなどのＩＬ－１７Ａヘテロ二量体などの他の抗原に対する交差反応性を有してもよい。さらに、単離された抗体は、他の細胞材料および／または化学物質を実質的に含まなくてもよい。

【００７３】

本明細書で用いられる用語「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」とは、単一の分子組成の抗体分子の調製物を指す。モノクローナル抗体組成物は、特定のエピトープに対する単一の結合特異性および親和性を示す。

【００７４】

ＩＬ－１７Ａの用語は、別途説明しない限り、配列番号７６または配列番号７８に定義されるヒトＩＬ－１７Ａを指す。ＩＬ－１７Ｆの用語は、別途説明しない限り、配列番号７７に定義されるヒトＩＬ－１７Ｆを指す。ＩＬ－１７ＡＦは、当業者によって理解されるように、ＩＬ－１７ＡサブユニットとＩＬ－１７Ｆサブユニットのヘテロ二量体である。異なる種に由来する、接頭辞「ｒ」を用いて指定される組換えタンパク質を、以下に記載のアッセイにおいて用いた。例えば、組換えヒトＩＬ－１７Ａは、ｒｈｕＩＬ－１７と

指定される。当業者であれば、当技術分野で公知の出発材料および標準的なプロトコールを用いてそのようなタンパク質を発現させる方法を知っている。しかしながら、当業者を援助するために、別途記述しない限り、以下のアミノ酸配列を用いることができる：カニクイザル（ｃｙｎｏ）ＩＬ－１７Ａ、配列番号７９；ｃｙｎｏＩＬ－１７Ｆ、配列番号８０；アカゲザル（ｒｈｅｓｕｓ）ＩＬ－１７Ａ、配列番号８１；マーモセット（ｍａｒｍｏｓｅｔ）ＩＬ－１７Ａ、配列番号８２；マウス（ｍ）ＩＬ－１７Ａ、配列番号８３；ｍＩＬ－１７Ｆ、配列番号８４、ラットＩＬ－１７Ａ、配列番号８５；ヒトＩＬ－１７受容体Ａ（ｈｕＩＬ－１７ＲＡ）、配列番号８６。当業者には公知の通り、上記配列はわずかに、すなわち、異なる集団群から生じるため、変化し得る。実施例において、例えば、スクリーニング目的で、ツール抗体も用いられる。そのような抗体は標準抗体であり、当業者であれば容易に取得することができる。

【００７５】

用語「エピトープ」とは、抗体に特異的に結合することができるタンパク質決定基を意味する。エピトープは通常、アミノ酸または糖側鎖などの分子の化学的に活性な表面基からなり、通常は特異的三次元構造特性、ならびに特異的電荷特性を有する。立体エピトープと非立体エピトープは、後者ではなく前者への結合が、変性溶媒の存在下では失われる点で区別される。

【００７６】

用語「アイソタイプ」とは、重鎖定常領域遺伝子により提供される抗体クラス（例えば、ＩｇＭ、ＩｇＥ、ＩｇＧ１またはＩｇＧ４などのＩｇＧ）を指す。アイソタイプはまた、改変型のこれらのクラスの１つも含み、ここで、改変はＦｃ機能を変化させるため、例えば、エフェクター機能またはＦｃ受容体への結合を増強または低下させるために作製されている。

【００７７】

本明細書で用いられる用語「ヒト抗体」は、フレームワークとＣＤＲ領域の両方がヒト起源の配列から誘導される可変領域を有する抗体を含むことが意図される。さらに、抗体が定常領域を含む場合、その定常領域もまた、そのようなヒト配列、例えば、ヒト生殖系列配列、もしくは変異型のヒト生殖系列配列または例えば、Knappik, et al. 2000, J Mol Biol 296:57-86に記載のような、ヒトフレームワーク配列分析から誘導されるコンセンサスフレームワーク配列を含有する抗体から誘導される。

【００７８】

「ヒト化」抗体は、ヒトにおける免疫原性が低いが、非ヒト抗体の反応性を保持する抗体である。これは、例えば、非ヒトＣＤＲ領域を保持し、抗体の残りの部分を、そのヒト対応物（すなわち、定常領域ならびに可変領域のフレームワーク部分）と置き換えることにより達成することができる。例えば、Morrison et al. 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855；Morrison and Oi, 1988, Adv. Immunol., 44:65-92；Verhoeyen et al. 1988, Science, 239:1534-1536；Padlan 1991, Molec. Immun., 28:489-498；およびPadlan 1994, Molec. Immun., 31:169-217を参照されたい。ヒト操作技術の他の例としては、限定されるものではないが、米国特許第５，７６６，８８６号に開示されたＸｏｍａ技術が挙げられる。

【００７９】

本開示のヒト抗体は、ヒト配列によってコードされないアミノ酸残基（例えば、ｉｎ ｖｉｔｒｏでの無作為もしくは部位特異的突然変異誘発またはｉｎ ｖｉｖｏで体細胞突然変異により導入される変異）を含んでもよい。しかしながら、本明細書で用いられる用語「ヒト抗体」は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖系列から誘導されるＣＤＲ配列がヒトフレームワーク配列上に移植された抗体を含むことは意図されない。

【００８０】

用語「ヒトモノクローナル抗体」とは、フレームワークとＣＤＲ領域の両方がヒト配列から誘導される可変領域を有する、単一の結合特異性を示す抗体を指す。

【００８１】

本明細書で用いられる用語「組換えヒト抗体」は、組換え手段により調製、発現、作出または単離される全てのヒト抗体、例えば、ヒト免疫グロブリン遺伝子についてトランスジェニックもしくはトランス染色体（transchromosomal）である動物（例えば、マウス）またはそれから調製されたハイブリドーマから単離される抗体、ヒト抗体を発現するように形質転換された宿主細胞から、例えば、トランスフェクトーマから単離される抗体、組換え体、組合せヒト抗体ライブラリーから単離される抗体、ならびにヒト免疫グロブリン遺伝子配列の全部または一部の、他のＤＮＡ配列へのスプライシングを含む任意の他の手段により調製、発現、作出または単離される抗体を含む。そのような組換えヒト抗体は、フレームワークとＣＤＲ領域がヒト生殖系列免疫グロブリン配列から誘導される可変領域を有する。しかしながら、ある特定の実施形態においては、そのような組換えヒト抗体を、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ突然変異誘発（または、ヒトＩｇ配列についてトランスジェニックである動物を用いる場合は、ｉｎ　ｖｉｖｏ体細胞突然変異誘発）に供することができ、かくして、組換え抗体のV_HおよびV_L領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列V_HおよびV_L配列から誘導され、それと関連するが、ｉｎ　ｖｉｖｏではヒト抗体生殖系列レパートリー内に天然に存在しない場合もある配列である。

【００８２】

本明細書で用いられる場合、「アイソタイプ」とは、重鎖定常領域遺伝子により提供される抗体クラス（例えば、ＩｇＭ、ＩｇＥ、ＩｇＧ１またはＩｇＧ４などのＩｇＧ）を指す。

【００８３】

語句「抗原を認識する抗体」および「抗原に特異的な抗体」は、本明細書では用語「抗原に特異的に結合する抗体」と互換的に用いられる。

【００８４】

本明細書で用いられる場合、「ＩＬ－１７Ａポリペプチドに特異的に結合する」抗体またはタンパク質は、１００ｎＭ以下、１０ｎＭ以下、１ｎＭ以下、１００ｐＭ以下、または１０ｐＭ以下のK_DでヒトＩＬ－１７Ａポリペプチドに結合する抗体またはタンパク質を指すことが意図される。「ＩＬ－１７Ａ以外の抗原と交差反応する」抗体は、１０ｎＭ以下、１ｎＭ以下、または１００ｐＭ以下のK_Dでその抗原に結合する抗体を指すことが意図される。「特定の抗原と交差反応しない」抗体は、１００ｎＭ以上のK_D、または１μＭ以上のK_D、または１０μＭ以上のK_Dでその抗原に結合する抗体を指すことが意図される。ある特定の実施形態においては、抗原と交差反応しないそのような抗体は、標準的な結合アッセイにおいて、これらのタンパク質に対して本質的に検出不可能な結合を示す。

【００８５】

本明細書で用いられる用語「K_{assoc}」または「K_a」は、特定の抗体－抗原相互作用の会合速度（association rate）を指すことが意図されるが、本明細書で用いられる用語「K_{dis}」または「K_d」は特定の抗体－抗原相互作用の解離速度を指すことが意図される。

【００８６】

本明細書で用いられる用語「K_D」は、K_dとK_aの比（すなわち、K_d／K_a）から得られる解離定数を指すことが意図され、モル濃度（Ｍ）で表される。抗体のK_D値を、当技術分野でよく確立された方法を用いて決定することができる。抗体のK_Dを決定するための方法は、当業者には周知であり、例えば、実施例に記載のように実行される、表面プラズモン共鳴を用いるか、またはＢｉａｃｏｒｅ（商標）システムなどのバイオセンサシステムを用いることによる。

【００８７】

ＩＬ－１７のその受容体への結合の阻害を、本明細書の以後の本文中に記載されるアッセイなどの様々なアッセイにおいて都合良く試験することができる。用語「同程度で」とは、参照と同等の分子（equivalent molecule）とが、統計ベースで、本明細書に記載のアッセイの１つにおいて本質的に同一のＩＬ－１７阻害活性を示すことを意味する（実施

例を参照されたい）。例えば、本開示のＩＬ－１７結合分子は、典型的には、例えば、実施例に記載のようにアッセイした場合、対応する参照分子の半数阻害濃度（IC_{50}）の$\pm 10^{5}$以内、すなわち、１０ｎＭ未満、より好ましくは、９、８、７、６、５、４、３または２ｎＭ、好ましくは、それと実質的に同じである、ヒト皮膚線維芽細胞中のヒトＩＬ－１７により誘導されるＩＬ－６生成に対するヒトＩＬ－１７の阻害に関する、IC_{50}を有する。あるいは、用いられるアッセイは、可溶性ＩＬ－１７受容体と本開示のＩＬ－１７結合分子によるＩＬ－１７の結合の競合的阻害のアッセイであってもよい。

【００８８】

本明細書で用いられる用語「親和性」とは、単一の抗原部位における抗体と抗原との間の相互作用の強度を指す。それぞれの抗原部位内で、抗体「アーム」の可変領域は、弱い非共有力を介して、いくつかの部位で抗原と相互作用する；相互作用が多くなるほど、親和性が強くなる。ＩｇＧ抗体またはその断片（例えば、Ｆａｂ断片）に関する、本明細書で用いられる用語「高親和性」とは、標的抗原に対する10^{-8}Ｍ以下、10^{-9}Ｍ以下、または10^{-10}Ｍ、または10^{-11}Ｍ以下、または10^{-12}Ｍ以下、または10^{-13}Ｍ以下のK_Dを有する抗体を指す。しかしながら、高親和性結合は、他の抗体アイソタイプについて変化してもよい（can 10 vary）。例えば、ＩｇＭアイソタイプに関する高親和性結合とは、10^{-7}Ｍ以下、または10^{-8}Ｍ以下のK_Dを有する抗体を指す。

【００８９】

本明細書で用いられる用語「アビディティ」とは、抗体－抗原複合体の全体的な安定性または強度の有益な尺度を指す。それは３つの主要な因子：抗体エピトープ親和性；抗原と抗体の両方の価数；および相互作用部分の構造的配置により制御される。最終的には、これらの因子は抗体の特異性、すなわち、特定の抗体が正確な抗原エピトープに結合する可能性を規定するものである。

【００９０】

本明細書で用いられる場合、ＩＬ－１７ＲへのＩＬ－１７Ａ結合を阻害する抗体またはタンパク質は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ競合結合アッセイにおいて測定した場合、１０ｎＭ以下のIC_{50}、好ましくは１ｎＭ以下のIC_{50}、より好ましくは１００ｐＭ以下のIC_{50}でＩＬ－１７ＲへのＩＬ－１７Ａ結合を阻害する抗体またはタンパク質を指すことが意図される。そのようなアッセイは、以下の実施例でより詳細に説明される。

【００９１】

本明細書で用いられる用語「ＩＬ－１７Ａアンタゴニスト」または「ＩＬ－１７Ａ遮断分子」は、ＩＬ－１７Ｒを介してＩＬ－１７Ａに誘導されるシグナリング活性を阻害することによって、ＩＬ－１７Ａ活性を低下させるか、または中和する抗体またはタンパク質を指すことが意図される。これは、ヒト細胞中でのＩＬ－１７Ａ依存的ＩＬ－６またはＧＲＯ－アルファ生成アッセイなどのヒト細胞アッセイにおいて示すことができる。そのようなアッセイは、以下の実施例でより詳細に説明される。いくつかの実施形態においては、本開示の抗体またはタンパク質は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏヒト細胞アッセイにおいて測定された場合、１０ｎＭ以下、１ｎＭ以下、または１００ｐＭ以下のIC_{50}でＩＬ－１７Ａ依存的ＩＬ－６またはＧＲＯ－アルファ生成を阻害する。そのようなアッセイは、以下の実施例でより詳細に説明される。いくつかの実施形態においては、本開示の抗体またはタンパク質は、マウスおよびラットにおけるｉｎ　ｖｉｖｏアッセイにおいて抗原誘導性関節炎を阻害する。そのようなアッセイは、以下に実施例でより詳細に説明される。

【００９２】

本明細書で用いられる用語「ＡＤＣＣ」または「抗体依存的細胞傷害性」活性とは、細胞枯渇活性（cell depleting activity）を指す。ＡＤＣＣ活性を、当業者には周知の標準的なＡＤＣＣアッセイにより測定することができる。

【００９３】

本明細書で用いられる場合、本開示の抗体またはタンパク質に対する「選択性」という用語は、ある特定の標的ポリペプチドには結合するが、密接に関連するポリペプチドには

結合しない抗体またはタンパク質を指す。語句「抗原を認識する抗体」および「抗原に特異的な抗体」は、本明細書では用語「抗原に特異的に結合する抗体」と互換的に用いられる。

【００９４】

用語「核酸」または「ポリヌクレオチド」とは、デオキシリボ核酸（ＤＮＡ）またはリボ核酸（ＲＮＡ）および一本鎖または二本鎖型のいずれかのそのポリマーを指す。特に限定しない限り、この用語は参照核酸と類似する結合特性を有し、天然に存在するヌクレオチドと同様の様式で代謝される天然ヌクレオチドの既知の類似体を含有する核酸を包含する（プソイドウリジンにより置き換えられたウリジンを有するｍＲＮＡ分子、それを合成する方法、およびｉｎ　ｖｉｖｏでの治療タンパク質の送達のための方法を開示する、Ｋａｒｉｋｏらの米国特許第８，２７８，０３６号を参照されたい）。ｍＲＮＡをパッケージングするための方法、例えば、Ｋａｒｉｋｏらの米国特許第８，２７８，０３６号；およびＭｏｄｅｒｎａの特許出願ＷＯ２０１３／０９０１８６Ａ１に開示されたものを用いることができる。別途指摘しない限り、特定の核酸配列はまた、保存的に改変されたそのバリアント（例えば、縮重コドン置換）、対立遺伝子、オーソログ、ＳＮＰ、および相補的配列ならびに明示的に示される配列をも暗示的に包含する。特に、縮重コドン置換は、１つまたは複数の選択されたコドン（または全てのコドン）の第３の位置が、混合塩基および／またはデオキシイノシン残基で置換された配列を作製することにより達成することができる（Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991)；Ohtsuka et al., J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985)；およびRossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994)）。

【００９５】

本明細書で用いられる用語「対象」は、任意のヒトまたは非ヒト動物を含む。用語「非ヒト動物」は、全ての脊椎動物、例えば、哺乳動物および非哺乳動物、例えば、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類などを含む。本明細書で用いられる用語「ｃｙｎｏ」または「ｃｙｎｏｍｏｌｇｕｓ」は、カニクイザル（マカカ・ファシクラリス（Macaca fascicularis））を指す。本明細書で用いられる用語「ｒｈｅｓｕｓ」または「ｒｈｅｓｕｓ　ｍａｃａｑｕｅ」とは、アカゲザル（マカカ・ムラッタ（Macaca mulatta））を指す。本明細書で用いられる用語「ｍａｒｍｏｓｅｔ」とは、マーモセットを指す。

【００９６】

本明細書で用いられる場合、任意の疾患または障害（すなわち、関節リウマチ）の「処置すること（治療すること（treating））」または「処置（治療（treatment））」という用語は、一実施形態においては、疾患または障害を改善すること（すなわち、疾患またはその臨床症状の少なくとも１つの発生を遅延させるか、または停止させるか、または低下させること）を指す。別の実施形態においては、「処置すること」または「処置」とは、患者によって認識され得ないものなどの少なくとも１つの身体的パラメータを軽減するか、または改善することを指す。さらに別の実施形態においては、「処置すること」または「処置」とは、身体的に（例えば、認識できる症状の安定化）、生理的に（例えば、身体的パラメータの安定化）疾患もしくは障害を調節すること、またはその両方を指す。疾患の処置および／または防止を評価するための方法は、本明細書で特に説明しない限り、当技術分野で一般に公知である。

【００９７】

本明細書で用いられる場合、患者を参照して「選択すること」および「選択された」とは、特定の患者が、その特定の患者が所定の基準を有することに起因して、より大きい患者群から特に選択されることを意味するために用いられる。同様に、「患者を選択的に処置すること」とは、特定の患者が所定の基準を有することに起因してより大きい患者群から特に選択される患者に対する処置を提供することを指す。同様に、「選択的に投与すること」とは、特定の患者が所定の基準を有することに起因してより大きい患者群から特に選択される患者に薬物を投与することを指す。

【００９８】
本明細書で用いられる用語「最適化された」とは、ヌクレオチド配列を、生成細胞または生物、一般には、真核細胞、例えば、ピチア（Pichia）の細胞、トリコデルマ（Trichoderma）の細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞（ＣＨＯ）またはヒト細胞において好ましいコドンを用いてアミノ酸配列をコードするように変化させたことを意味する。最適化されたヌクレオチド配列は、「親」配列としても知られる出発ヌクレオチド配列により元々コードされるアミノ酸配列を完全に、またはできるだけ多く保持するように操作される。本明細書の最適化された配列は、ＣＨＯ哺乳動物細胞中で好ましいコドンを有するように操作されているが、他の真核細胞中でのこれらの配列の最適化された発現も、本明細書で想定される。最適化されたヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列も、最適化されていると言う。
【００９９】
本明細書で用いられる場合、２つの配列間の同一性パーセントは、２つの配列の最適なアラインメントのために導入する必要がある、ギャップ数、および各ギャップの長さを考慮に入れて、配列により共有される同一の位置数の関数（すなわち、同一性％＝同一の位置数／位置の総数ｘ１００）である。配列の比較および２つの配列間の同一性パーセントの決定を、以下に記載のような数学的アルゴリズムを用いて達成することができる。
【０１００】
２つのアミノ酸配列間の同一性パーセントを、ＰＡＭ１２０重み残基表、１２のギャップ長ペナルティおよび４のギャップペナルティを用いる、ＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）中に組み込まれた、E. Meyers and W. Miller 1988,Comput. Appl. Biosci., 4:11-17のアルゴリズムを用いて決定することができる。あるいは、２つのアミノ酸配列間の同一性パーセントを、Ｂｌｏｓｓｏｍ６２マトリックスまたはＰＡＭ２５０マトリックス、ならびに１６、１４、１２、１０、８、６、または４のギャップ重量および１、２、３、４、５または６の長さ重量を用いる、ＧＣＧソフトウェアパッケージ（http://www.gcg.comで入手可能）中のＧＡＰプログラム中に組み込まれた、Needleman and Wunsch 1970, J. Mol, Biol. 48:444-453のアルゴリズムを用いて決定することができる。
【０１０１】
また、２つのヌクレオチドアミノ酸配列間の同一性パーセントを、例えば、デフォルトとして１１のワード長（Ｗ）、１０の期待値（Ｅ）、Ｍ＝５、Ｎ＝４、および両鎖の比較を用いる、核酸配列のためのＢＬＡＳＴＮプログラムなどのアルゴリズムを用いて決定することもできる。
【０１０２】
用語「交差遮断」、「交差遮断された」、「交差遮断する」は、本明細書では互換的に用いられ、標準的な競合結合アッセイにおいて、ＩＬ－１７Ａへの他の抗体または結合剤の結合に干渉する抗体または他の結合剤の能力を意味する。
【０１０３】
抗体または抗体の抗原結合部分を含むタンパク質などの他の結合剤が、ＩＬ－１７Ａへの別の抗体または結合分子の結合に干渉することができる能力または程度、したがって、それを本開示による交差遮断と言うことができるかどうかを、標準的な競合結合アッセイを用いて決定することができる。１つの好適なアッセイは、表面プラズモン共鳴技術を用いて相互作用の程度を測定することができる、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）技術の使用（例えば、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）３０００機器（Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）、Ｕｐｐｓａｌａ、Ｓｗｅｄｅｎ）を用いることによる）を含む。交差遮断を測定するための別のアッセイは、ＥＬＩＳＡに基づくアプローチを用いる。これらの方法に関するさらなる詳細は、実施例に与えられる。
【０１０４】
例えば、本明細書に例示される抗体（すなわち、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５）ならびにその抗原結合部分を含むタンパク質は、全て互いに「交差遮断する」。これらの抗体は全て、ＩＬ－１７Ａ上の同じエピトープを標的とする。他の

交差遮断抗体は、同じか、または関連するエピトープに結合することが予測される。

【０１０５】

本開示によれば、本開示による、交差遮断抗体または抗体の抗原結合部分を含むタンパク質などの他の結合剤は、抗体または結合剤の組合せ（混合物）の記録された結合が、組み合わせた２つの抗体または結合剤の最大理論結合（上記で定義される）の８０％～０．１％（例えば、８０％～４％）の間、特に、最大理論結合の７５％～０．１％（例えば、７５％～４％）の間、より特には、最大理論結合の７０％～０．１％（例えば、７０％～４％）の間、より特には、６５％～０．１％（例えば、６５％～４％）の間であるように、記載されたＢｉａｃｏｒｅ（商標）交差遮断アッセイにおいてＩＬ－１７Ａに結合する。

【０１０６】

液相の抗ＩＬ－１７Ａ抗体が、液相の抗ＩＬ－１７Ａ抗体の非存在下（すなわち、陽性対照ウェル）で得られるＩＬ－１７Ａ検出シグナルと比較してＩＬ－１７Ａ検出シグナル（すなわち、被覆抗体により結合したＩＬ－１７Ａの量）の６０％～１００％の間、特に、７０％～１００％の間、より特には、８０％～１００％の間の低下を引き起こすことができる場合、抗体は、実施例に記載のようなＥＬＩＳＡアッセイにおいて交差遮断として定義される。

【発明を実施するための形態】

【０１０７】

発明の詳細な説明

本開示は、部分的には、ホモ二量体ＩＬ－１７Ａおよびヘテロ二量体ＩＬ－１７ＡＦに特異的に結合するが、ホモ二量体ＩＬ－１７Ｆには特異的に結合しない抗体分子の発見に基づくものである。本開示は、完全なＩｇＧフォーマット抗体ならびに以下でさらに説明されるその抗原結合部分を含むタンパク質の両方に関する。

【０１０８】

したがって、本開示は、カニクイザル、アカゲザル、マーモセット、ラット、マウスまたはヒトのうちの１つまたは複数から選択されるものなどのいくつかの種について驚くべきことに類似する結合能力を有する抗体ならびにその抗原結合部分を含むタンパク質、ならびにそのような抗体および組成物の医薬組成物、製造方法、および使用方法を提供する。

【０１０９】

組換え抗体

本開示の抗体は、以下の表１に記載される全長重鎖および軽鎖アミノ酸配列により誘導、単離および構造的に特徴付けられた、ヒト組換え抗体ＸＡＢ１ならびに抗体誘導体ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５を含む。

【０１１０】

【表１】

表 1: XAB1, XAB2, XAB3, XAB4 および XAB5 の全長重鎖および軽鎖アミノ酸配列

抗体	全長重鎖アミノ酸配列	全長軽鎖アミノ酸配列
XAB1	配列番号 14	配列番号 15
XAB2	配列番号 14	配列番号 26
XAB3	配列番号 14	配列番号 36
XAB4	配列番号 14	配列番号 44
XAB5	配列番号 14	配列番号 54
配列同一性	100%	97%

【０１１１】
本開示のそのような単離された抗体ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の対応する可変領域$Ｖ_{H}$および$Ｖ_{L}$アミノ酸配列を、以下の表２に示す。
【０１１２】
【表２】

表 2: XAB1, XAB2, XAB3, XAB4 および XAB5 の可変重鎖および軽鎖アミノ酸配列

抗体	可変重鎖アミノ酸配列	可変軽鎖アミノ酸配列
XAB1	配列番号 12	配列番号 13
XAB2	配列番号 12	配列番号 25
XAB3	配列番号 12	配列番号 35
XAB4	配列番号 12	配列番号 43
XAB5	配列番号 12	配列番号 53
配列同一性	100%	94%

【０１１３】
本開示の他の抗体は、アミノ酸の欠失、挿入または置換により変異しているが、上記の抗体に対して、特に、上記の配列中に記載されるＣＤＲ領域において、少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９８％、９９％または１００％の同一性を依然として有するアミノ酸を有するものを含む。いくつかの実施形態においては、本開示の抗体は、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５のいずれか１つの変異バリアントであり、前記変異バリアント抗体は、１、２、３、４または５個を超えないアミノ酸が、上記の配列中に記載されたＣＤＲ領域と比較した場合、ＣＤＲ領域中のアミノ酸欠失、挿入または置換により変異された、変異アミノ酸配列を含む。
【０１１４】
ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の全長軽鎖および重鎖ヌクレオチドコード配列を、以下の表３に示す。
【０１１５】

【表３】

表 3: 全長重鎖および軽鎖 DNA コード配列

抗体	全長重鎖 DNA コード配列	全長軽鎖 DNA コード配列
XAB1	配列番号 18, 配列番号 31, 配列番号 51	配列番号 19
XAB2	配列番号 18, 配列番号 31, 配列番号 51	配列番号 28, 配列番号 32
XAB3	配列番号 18, 配列番号 31, 配列番号 51	配列番号 38, 配列番号 40
XAB4	配列番号 18, 配列番号 31, 配列番号 51	配列番号 46, 配列番号 48, 配列番号 52
XAB5	配列番号 18, 配列番号 31, 配列番号 51	配列番号 56, 配列番号 58

【０１１６】

ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の可変軽鎖および重鎖ヌクレオチドコード配列を、以下の表４に示す。

【０１１７】

【表４】

表 4: 可変重鎖および軽鎖アミノ酸配列 DNA コード配列

抗体	可変重鎖 DNA コード配列	可変軽鎖 DNA コード配列
XAB1	配列番号 16, 配列番号 29, 配列番号 49	配列番号 17
XAB2	配列番号 16, 配列番号 29, 配列番号 49	配列番号 27, 配列番号 30
XAB3	配列番号 16, 配列番号 29, 配列番号 49	配列番号 37, 配列番号 39
XAB4	配列番号 16, 配列番号 29, 配列番号 49	配列番号 45, 配列番号 47, 配列番号 50
XAB5	配列番号 16, 配列番号 29, 配列番号 49	配列番号 55, 配列番号 57

【０１１８】

本開示の抗体をコードする他の核酸は、ヌクレオチドの欠失、挿入または置換により変異しているが、上記の配列または以下の表５および表６に記載のコード領域に対応するＣＤＲに対して少なくとも６０、７０、８０、９０、９５または１００パーセントの同一性を依然として有する核酸を含む。

【０１１９】

いくつかの実施形態においては、それは、１、２、３、４または５個を超えないヌクレオチドが、上記の配列または以下の表５および表６に記載のＣＤＲコード領域を有するＣＤＲコード領域においてヌクレオチド欠失、挿入または置換により変化したバリアント核酸を含む。

【０１２０】

同じエピトープに結合する抗体については、V_H、V_L、全長軽鎖、および全長重鎖配列（ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列）を、「混合および一致（mixed and matched）」させて、本開示の他の抗ＩＬ－１７Ａ結合分子を作出することができる。そのような「混合および一致」した抗体のＩＬ－１７Ａ結合を、上記の結合アッセイまたは他の従来の結合アッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ）を用いて試験することができる。これらの鎖が混合および一致した場合、特定のV_H／V_L対に由来するV_H配列を、構造的に類似するV_H配列と置き換えるべきである。同様に、特定の全長重鎖／全長軽鎖対に由来する全長重鎖配列を、構造的に類似する全長重鎖配列と置き換えるべきである。同様に、特定のV_H／V_L対に由来するV_L配列を、構造的に類似するV_L配列と置き換えるべきである。同様に、特定の全長重鎖／全長軽鎖対に由来する全長軽鎖配列を、構造的に類似する全長軽鎖配列と置き換えるべきである。したがって、一態様において、本開示は、配列番号１２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号１３、２５、３

５、４３および５３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを有し、前記重鎖および軽鎖領域が、抗体がＩＬ－１７Ａに特異的に結合するように選択される、単離された組換え抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質を提供する。

【０１２１】

本開示によるいくつかの抗体およびその抗原結合部分を含むタンパク質のV_HＣＤＲ１（用いられるＣＤＲ定義に応じてＨＣＤＲ１またはＨＣＤＲ１’とも呼ばれる）、V_HＣＤＲ２（用いられるＣＤＲ定義に応じてＨＣＤＲ２またはＨＣＤＲ２’とも呼ばれる）、V_HＣＤＲ３（用いられるＣＤＲ定義に応じてＨＣＤＲ１またはＨＣＤＲ１’とも呼ばれる）、V_LＣＤＲ１（用いられるＣＤＲ定義に応じてＬＣＤＲ１またはＬＣＤＲ１’とも呼ばれる）、V_LＣＤＲ２（用いられるＣＤＲ定義に応じてＬＣＤＲ２またはＬＣＤＲ２’とも呼ばれる）、V_LＣＤＲ３（用いられるＣＤＲ定義に応じてＨＣＤＲ３またはＨＣＤＲ３’とも呼ばれる）のアミノ酸配列の例を、表５および表６に示す。

【０１２２】

表５において、本開示のいくつかの抗体のＣＤＲ領域は、Ｋａｂａｔのシステム（Kabat, E. A., et al. 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242、また、Zhao&Lu 2009, Molecular Immunology 47:694-700も参照されたい）を用いて説明される。

【０１２３】

読解を容易にするために、ＣＤＲ領域がＫａｂａｔの定義に従って説明される場合、それらは以後、それぞれ、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、ＬＣＤＲ３と呼ばれる。

【０１２４】

【表５】

表 5: Kabat の定義による XAB1, XAB2, XAB3, XAB4 および XAB5 の CDR 領域

元の抗体	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
XAB1	配列番号 7	配列番号 8	配列番号 3	配列番号 9	配列番号 10	配列番号 11
XAB2	配列番号 7	配列番号 8	配列番号 3	配列番号 22	配列番号 23	配列番号 24
XAB3	配列番号 7	配列番号 8	配列番号 3	配列番号 34	配列番号 23	配列番号 11
XAB4	配列番号 7	配列番号 8	配列番号 3	配列番号 42	配列番号 23	配列番号 11
XAB5	配列番号 7	配列番号 8	配列番号 3	配列番号 42	配列番号 10	配列番号 11
コンセンサス	配列番号 7	配列番号 8	配列番号 3	配列番号 73	配列番号 74	配列番号 75
配列同一性	100%	100%	100%	64 %	86%	89%

【０１２５】

コンセンサス配列、配列番号７３、配列番号７４および配列番号７５は、Ｘと命名される、いくつかの可変アミノ酸を含む。ＸＡＢ２～ＸＡＢ５の配列の配列アラインメントに基づいて、配列番号７３中の４つの可変アミノ酸を、以下に従って有利に選択することが

できる：第１の可変アミノ酸（Ｘ１）を、Ｇｌｙ（Ｇ）およびＶａｌ（Ｖ）からなる群から選択することができる；第２の可変アミノ酸（Ｘ２）を、Ｔｙｒ（Ｙ）、Ａｓｎ（Ｎ）およびＩｌｅ（Ｉ）からなる群から選択することができる；第３の可変アミノ酸（Ｘ３）を、Ｔｒｐ（Ｗ）およびＳｅｒ（Ｓ）からなる群から選択することができる；ならびに第４の可変アミノ酸（Ｘ４）をＧｌｕ（Ｅ）およびＡｌａ（Ａ）からなる群から選択することができる。配列番号９は、配列番号２２と比較して９１％の配列同一性を有し、配列番号３４および配列番号４２と比較して７３％の配列同一性を有する。配列番号２２は、配列番号３４および配列番号４２と比較して６４％の配列同一性を有する。配列番号３４は、配列番号４２と比較して９１％の配列同一性を有する。

【０１２６】

同様に、配列番号７４中の１つの可変アミノ酸を、以下に従って有利に選択することができる：Ｘ１を、Ａｓｎ（Ｎ）およびＧｌｎ（Ｑ）からなる群から選択することができる。配列番号１０は、配列番号２３と比較して８６％の配列同一性を有する。

【０１２７】

配列番号７５中の１つの可変アミノ酸を、以下に従って有利に選択することができる：Ｘ１を、Ａｓｎ（Ｎ）およびＡｓｐ（Ｄ）からなる群から選択することができる。配列番号１１は、配列番号２４と比較して８９％の配列同一性を有する。

【０１２８】

表６において、本開示のいくつかの抗体のＣＤＲ領域は、Ｃｈｏｔｈｉａのシステム、Al-Lazikani et al. 1997, J. Mol. Biol. 273:927-948を用いて説明される。読解を容易にするために、ＣＤＲ領域がＣｈｏｔｈｉａの定義に従って説明される場合、それらは以後、それぞれ、ＨＣＤＲ１’、ＨＣＤＲ２’、ＨＣＤＲ３’、ＬＣＤＲ１’、ＬＣＤＲ２’、ＬＣＤＲ３’と呼ばれる。

【０１２９】

【表６】

表 6: Chothia の定義による XAB1, XAB2, XAB3, XAB4 および XAB5 由来の CDR 領域

元の抗体	HCDR1’	HCDR2’	HCDR3’	LCDR1’	LCDR2’	LCDR3’
XAB1	配列番号 1	配列番号 2	配列番号 3	配列番号 4	配列番号 5	配列番号 6
XAB2	配列番号 1	配列番号 2	配列番号 3	配列番号 20	配列番号 5	配列番号 21
XAB3	配列番号 1	配列番号 2	配列番号 3	配列番号 33	配列番号 5	配列番号 6
XAB4	配列番号 1	配列番号 2	配列番号 3	配列番号 41	配列番号 5	配列番号 6
XAB5	配列番号 1	配列番号 2	配列番号 3	配列番号 41	配列番号 5	配列番号 6
コンセンサス	配列番号 1	配列番号 2	配列番号 3	配列番号 71	配列番号 5	配列番号 72
配列同一性	100%	100%	100%	43%	100%	83%

【０１３０】

コンセンサス配列、配列番号７１および配列番号７２は、Ｘと命名されるいくつかの可

変アミノ酸を含む。ＸＡＢ２～ＸＡＢ５の配列の配列アラインメントに基づいて、配列番号７１中の４つの可変アミノ酸を、以下に従って有利に選択することができる：第１の可変アミノ酸（Ｘ１）を、Ｇｌｙ（Ｇ）およびＶａｌ（Ｖ）からなる群から選択することができ、第２の可変アミノ酸（Ｘ２）を、Ｔｙｒ（Ｙ）、Ａｓｎ（Ｎ）およびＩｌｅ（Ｉ）からなる群から選択することができる；第３の可変アミノ酸（Ｘ３）を、Ｔｒｐ（Ｗ）およびＳｅｒ（Ｓ）からなる群から選択することができる；第４の可変アミノ酸（Ｘ４）を、Ｇｌｕ（Ｅ）およびＡｌａ（Ａ）からなる群から選択することができる。配列番号４は、配列番号２０と比較して８６％の配列同一性を有し、配列番号３３および配列番号４１と比較して５７％の配列同一性を有する。配列番号２０は、配列番号３３および配列番号４１と比較して４３％の配列同一性を有する。配列番号３３は、配列番号４１と比較して８６％の配列同一性を有する。

【０１３１】

同様に、配列番号７２中の１つの可変アミノ酸を、以下に従って有利に選択することができる：Ｘ１を、Ａｓｎ（Ｎ）およびＡｓｐ（Ｄ）からなる群から選択することができる。配列番号６は、配列番号２１と比較して８６％の配列同一性を有する。

【０１３２】

これらの抗体がそれぞれＩＬ－１７Ａに結合することができ、抗原結合特異性が主にＣＤＲ１、２および３領域により提供されることを考慮すれば、V_HＣＤＲ１、２および３配列ならびにV_LＣＤＲ１、２および３配列を「混合および一致」させることができる（すなわち、異なる抗体に由来するＣＤＲを混合および一致させることができ、V_HＣＤＲ１、２および３ならびにV_LＣＤＲ１、２および３を含有するそれぞれの抗体は本開示の他の抗ＩＬ－１７Ａ結合分子を作出する）。そのような「混合および一致」した抗体のＩＬ－１７Ａ結合を、上記および実施例に記載の結合アッセイまたは他の従来のアッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ）を用いて試験することができる。V_HＣＤＲ配列を混合および一致させる場合、特定のV_H配列に由来するＣＤＲ１、ＣＤＲ２および／またはＣＤＲ３配列を、構造的に類似するＣＤＲ配列と置き換えるべきである。同様に、V_LＣＤＲ配列を混合および一致させる場合、特定のV_L配列に由来するＣＤＲ１、ＣＤＲ２および／またはＣＤＲ３配列を、構造的に類似するＣＤＲ配列と置き換えるべきである。新規V_HおよびV_L配列を、１つまたは複数のV_Hおよび／またはV_LＣＤＲ領域配列を、本開示のモノクローナル抗体について本明細書に示されるＣＤＲ配列に由来する構造的に類似する配列で置換することにより作出することができることが当業者には容易に明らかとなる。

【０１３３】

一実施形態においては、単離された組換え抗体、またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号７に記載の重鎖可変領域ＣＤＲ１；配列番号８に記載の重鎖可変領域ＣＤＲ２；配列番号３に記載の重鎖可変領域ＣＤＲ３；配列番号９、２２、３４、４２および７３からなる群から選択される、好ましくは、配列番号９、２２、３４、４２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；配列番号１０、２３、および７４からなる群から選択される、好ましくは、配列番号１０および２３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；ならびに配列番号１１、２４および７５からなる群から選択される、好ましくは、配列番号１１および２４からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３を有し、前記ＣＤＲ領域は、本開示の抗体またはタンパク質がＩＬ－１７Ａに特異的に結合するように選択される。

【０１３４】

別の実施形態においては、単離された組換え抗体、またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号１に記載の重鎖可変領域ＨＣＤＲ１’；配列番号２に記載の重鎖可変領域ＨＣＤＲ２’；配列番号３に記載の重鎖可変領域ＨＣＤＲ３’；配列番号４、２０、３３、４１および７１からなる群から選択される、好ましくは配列番号４、２０、３３、４１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＬＣＤＲ１’；配列番号５に記載の軽鎖可変領域ＬＣＤＲ２’；ならびに配列番号６、２１、および７２からなる群から選択される、好ましくは、配列番号６および２１からなる群から選択されるアミノ

酸配列を含む軽鎖可変領域ＬＣＤＲ３’を有し、前記ＣＤＲ領域は本開示の抗体またはタンパク質がＩＬ－１７Ａに特異的に結合するように選択される。

【０１３５】

ある特定の実施形態において、抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、配列番号７、配列番号８および配列番号３；配列番号１２；またはｃ）配列番号１４を含む。

【０１３６】

本明細書で用いられる場合、ヒト抗体は、抗体の可変領域または全長の鎖がヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子を用いる系から得られる場合、特定の生殖系列配列「の生成物（the product of ）」であるか、またはそれ「から誘導される（derived from）」重鎖もしくは軽鎖可変領域または全長重鎖もしくは軽鎖を含む。そのような系は、ヒト免疫グロブリン遺伝子を担持するトランスジェニックマウスを、対象の抗原で免疫すること、またはファージ上に展示されたヒト免疫グロブリン遺伝子ライブラリーを対象の抗原でスクリーニングすることを含む。ヒト生殖系列免疫グロブリン配列「の生成物」であるか、またはそれ「から誘導される」ヒト抗体は、ヒト抗体のアミノ酸配列をヒト生殖系列免疫グロブリンのアミノ酸配列と比較し、ヒト抗体の配列に対して順番に最も近い（すなわち、最大の同一性％）ヒト生殖系列免疫グロブリン配列を選択することにより、そのようなものとして同定され得る。特定のヒト生殖系列免疫グロブリン配列「の生成物」であるか、またはそれ「から誘導される」ヒト抗体は、例えば、自然に生じる体細胞変異または部位特異的突然変異の意図的な導入のため、生殖系列配列と比較した場合にアミノ酸の相違を含んでもよい。しかしながら、選択されるヒト抗体は、典型的には、ヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子によりコードされるアミノ酸配列とアミノ酸配列において少なくとも９０％同一であり、ヒト抗体を、他の種（例えば、マウス生殖系列配列）の生殖系列免疫グロブリンアミノ酸配列と比較した場合、ヒトであると同定するアミノ酸残基を含有する。ある特定の事例においては、ヒト抗体は、生殖系列免疫グロブリン遺伝子によりコードされるアミノ酸配列と、アミノ酸配列において少なくとも６０％、７０％、８０％、９０％、もしくは少なくとも９５％、またはさらには少なくとも９６％、９７％、９８％、もしくは９９％同一であってもよい。典型的には、特定のヒト生殖系列配列から誘導されるヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子によりコードされるアミノ酸配列との１０個を超えないアミノ酸の相違を示す。ある特定の事例においては、ヒト抗体は、生殖系列免疫グロブリン遺伝子によりコードされるアミノ酸配列との５個を超えない、またはさらには４、３、２または１個を超えないアミノ酸の相違を示してもよい。

【０１３７】

本開示において、潜在的な治療抗体の結合のための標的として特に好ましいＩＬ－１７Ａ上のエピトープが同定された。このエピトープはＸＡＢ１、ならびにＸＡＢ１の配列の改変により開発されたバリアント抗体ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５により結合する。このエピトープは、残基Ａｒｇ７８とＴｒｐ９０の間で、ＩＬ－１７Ａ配列上に見出される。

【０１３８】

エピトープは、ＩＬ－１７Ａ内に以下の最も好ましいアミノ酸残基を含むと考えられ得る：Ａｒｇ７８、Ｇｌｕ８０、Ｔｒｐ９０。さらに、以下のアミノ酸残基も好ましい：Ｔｙｒ８５、Ａｒｇ１２４。他の重要なアミノ酸残基は、Ｐｒｏ８２、Ｓｅｒ８７、Ｖａｌ８８である。さらに寄与するアミノ酸残基は、Ｖａｌ４５＊、Ｌｅｕ４９、Ａｓｐ８１、Ｇｌｕ８３、Ｐｒｏ８６、Ｐｒｏ１３０、Ｐｈｅ１３３、Ｌｙｓ１３７＊であり、ここで（＊）の印を付けたアミノ酸はホモ二量体ＩＬ－１７Ａの第２のＩＬ－１７Ａサブユニットにより寄与される残基を示す。

【０１３９】

ＩＬ－１７Ａ上のこのエピトープを標的とする抗体は、ＩＬ－１７Ａのその受容体への結合を遮断して、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでＩＬ－１７Ａに媒介される効果を阻害し、抗原誘導性関節炎の実験的ｉｎ　ｖｉｖｏモデルの重症度を低下させることが示された。さらに、このエピトープに結合する抗体は、ＩＬ－１７ＡＦヘテロ二量体により媒介されるｉｎ

ｖｉｔｒｏでの効果を阻害し、また、標的分子のマウスおよび他の種のバリエーションから誘導されるＩＬ－１７ＡおよびＩＬ－１７ＡＦに対する予想外に高い親和性を保持することが予想外にも示された。

【０１４０】

かくして、このエピトープはまた、ＩＬ－１７ＡＦヘテロ二量体の構造内に接近可能な形式で予想外に保存されるため、特に好ましい。したがって、本開示の好ましい抗体は、ＩＬ－１７ＡＦヘテロ二量体にも結合する。理論によって束縛されることを望むものではないが、ＩＬ－１７ＡＦヘテロ二量体の構造はＩＬ－１７Ａと十分に類似しているか、または本開示の抗体との相互作用は、それをＩＬ－１７Ａと十分に類似するものにし、結合が依然として起こると予測される。

【０１４１】

ｉｎ ｓｉｌｉｃｏでの予測と組み合わせた、ＩＬ－１７Ａ、ＩＬ－１７Ｆならびにこれらの分子とＸ線結晶分析（当技術分野で公開されており、本発明者らによって行われた）により得られた抗体または受容体との間の相互作用に関する利用可能な構造に基づく構造分析により、本開示の抗体への結合、または本開示の抗体とＩＬ－１７ＡＦとの交差反応性が必ずしも起こらないことが示唆されたため、これは予想外である。より具体的には、ヘテロ二量体のＩＬ－１７ＦモノマーサブユニットのＮ末端領域は、本開示の抗体のＩＬ－１７ＡＦヘテロ二量体への結合を立体的に阻害すると予測された。かくして、予想は、ＩＬ－１７ＡＦとの抗体の有意な交差反応性が存在しないことであった。

【０１４２】

しかしながら、これらの予測にも拘らず、本発明者らは、開示された抗体によるＩＬ－１７ＡＦへの交差結合が起こると決定した。これは、いくつかの理由から実際に有利であり得る。上記で考察された通り、ＩＬ－１７ＡＦも炎症促進性サイトカインとして関与し、ＩＬ－１７Ａについて記載されるか、または疑われる同じ病理学的状態または望ましくない生物学的事象の多くに関与し得る。したがって、本開示の抗体は、ＩＬ－１７ＡとＩＬ－１７ＡＦとの両方を標的とするか、または阻害することができるため、特に治療的に有用であり得る。

【０１４３】

さらに、本発明者らは、本開示の抗体とＩＬ－１７ＡＦとの間のこの結合が、ｉｎ ｖｉｔｒｏアッセイにおいて観察されたように、ＩＬ－１７ＡＦの生物学的活性の阻害とも相関することを証明した。したがって、本開示の抗体は、ＩＬ－１７Ａの活性だけでなく、ＩＬ－１７ＡＦの活性も同様に効率的に標的化し、拮抗／中和する。

【０１４４】

本発明者らによって行われた研究のさらに予想外の結果は、以下のようなものである。元の「親」抗体ＸＡＢ１の親和性成熟もまた、高い親和性を保持する抗体のセット、またはカニクイザル、アカゲザル、マーモセット、ラット、もしくはマウスなどの他の種から誘導されるＩＬ－１７Ａバリアントに対する改善された親和性をもたらした。

【０１４５】

ヒトＩＬ－１７Ａに対する本開示の抗体の親和性を改善する努力において、ＩＬ－１７Ａの種バリアントに対する得られる抗体の親和性をも改善することは予想されないため、これは予想外であった。事実、通常はその反対が予想され得る。標的抗原の特異的種バリアント（すなわち、ヒト）に対する抗体親和性を改善するための努力は通常、その抗原の他の種バリアントに対する親和性を低下させると予想される。種バリアント（またはホモログ／パラログ）の概念は、所与の種の共通の祖先を認識するが、進化の過程にわたって多様性が生じたことを受け入れるものである。したがって、異なる種において同定された特定の分子のバリアント間に良好な程度の配列保存が存在する場合であっても、ある種バリアントに対する改善された親和性が別の種バリアントに対する親和性に対する改善を有すると推測することはできない。事実、異なる種の配列間の多様性は、一般に、あるバリアントに対する親和性の改善が別の種バリアントに対する結合親和性の低下（またはさらには消失）をもたらす可能性がより高いとの予想をもたらす。マウスとヒトＩＬ－１７Ａ

の間の配列同一性は、６２％に過ぎない（Moseley et al. 2003, Cytokine & Growth Factor Reviews 14:155-174）。

【０１４６】

しかしながら、本件においては、これは観察されず、本発明者らによって作製された抗体バリアントは他の種に由来するＩＬ－１７Ａバリアントに対する高い親和性を保持していた。有用な治療分子として候補抗体分子を開発するために必要な研究中に、他の種において、または他の種（カニクイザル、アカゲザル、マーモセット、ラットもしくはマウスなど）の、もしくはそれから誘導される成分を含む細胞、分子もしくは系に対して様々な試験およびアッセイを実行する必要があり得るため、これは有用である。これは、本開示の抗体を、さらなる開発にとって特に好適なものにする。

【０１４７】

したがって、本明細書に開示される抗体およびその抗原結合部分を含むタンパク質は、様々な望ましい特性を共有し得、これらとしては、ＩＬ－１７Ａに対する高い親和性、マウス、ラット、カニクイザルおよびマーモセットなどの他の種に由来するＩＬ－１７Ａとの交差反応性、ＩＬ－１７Ｆなどの他のＩＬ－１７アイソタイプに対する交差反応性の欠如、他のサイトカイン（ヒトもしくはマウスサイトカインなど）に対する交差反応性の欠如、ヘテロ二量体ＩＬ－１７ＡＦとの交差反応性、ＩＬ－１７Ａの、ＩＬ－１７ＲＡなどのその受容体への結合を遮断する能力、ＩＬ－６もしくはＧＲＯ－アルファ分泌の刺激などのＩＬ－１７Ａにより誘導される生物学的効果を阻害もしくは中和する能力、および／または抗原誘導性関節炎モデルにおいて観察される腫れなどのＩＬ－１７Ａ（および／もしくはＩＬ－１７ＡＦ）により媒介されるｉｎ　ｖｉｖｏでの効果を阻害する能力が挙げられる。

【０１４８】

本明細書に開示される抗体およびその抗原結合部分を含むタンパク質はまた、抗体－ＩＬ－１７Ａ複合体の遅い除去、リガンドの遅い回転率および長期間のＩＬ１７Ａ捕捉を提供することが示された。これらの抗体およびタンパク質のさらなる有利な特徴は、詳細な実施形態に提供される。

【０１４９】

同種抗体（homologous antibodies）

さらに別の実施形態においては、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質は、上記の、特に表１に記載の抗体ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５のアミノ酸またはヌクレオチド配列に対してホモロガス（相同（homologous））である、全長重鎖および軽鎖アミノ酸配列；全長重鎖および軽鎖ヌクレオチド配列、可変領域重鎖および軽鎖ヌクレオチド配列、または可変領域重鎖および軽鎖アミノ酸配列、または６つ全部のＣＤＲ領域アミノ酸配列またはヌクレオチドコード配列を有し、ここで、本開示の抗体またはタンパク質は、元のＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５抗体の望ましい機能的特性を保持する。

【０１５０】

元のＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５抗体の望ましい機能的特性を、

（ｉ）例えば、実施例に記載のような、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）アッセイにおいて測定した場合、例えば、K_Dが１ｎＭ以下、１００ｐＭ以下、または１０ｐＭ以下である、ＩＬ－１７Ａに対する結合親和性（ＩＬ－１７Ａに対する特異的結合）；

（ｉｉ）例えば、実施例に記載のような、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ競合結合アッセイにおいて測定した場合、例えば、IC_{50}が１０ｎＭ以下、または１ｎＭ以下、または１００ｐＭ以下である、ＩＬ－１７Ａに結合するＩＬ－１７Ｒの競合的阻害；

（ｉｉｉ）実施例に記載のような、細胞アッセイにおいて測定した場合、例えば、IC_{50}が１０ｎＭ以下、または１ｎＭ以下、または１００ｐＭ以下である、ＩＬ－１７Ａ依存的活性、例えば、ＩＬ－６またはＧＲＯ－アルファの生成の阻害；

（ｉｖ）実施例に記載のような、ｉｎ　ｖｉｖｏ抗原誘導性関節炎アッセイにおいて測

定した場合、観察される効果、例えば、膝の腫れの阻害；
（ｖ）カニクイザル、アカゲザル、ラット、またはマウスＩＬ－１７Ａポリペプチドとの交差反応性；
（ｖｉ）ヒトまたはマウスＩＬ－１７ＡＦポリペプチドとの交差反応性；
（ｖｉｉ）例えば、実施例に記載のような、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）アッセイにおいて測定した場合、例えば、$Ｋ_{Ｄ}$が１ｎＭ以下、１００ｐＭ以下、または１０ｐＭ以下である、ＩＬ－１７ＡＦに対する結合親和性（ＩＬ－１７ＡＦに対する特異的結合）；
（ｖｉｉｉ）実施例に記載のようなｉｎ　ｖｉｔｒｏ競合結合アッセイにおいて測定した場合、例えば、$ＩＣ_{５０}$が２００ｎＭ以下、１５０ｎＭ以下、または１００ｎＭ以下である、ＩＬ－１７ＡＦの阻害；
（ｉｘ）薬物開発のための好適な特性、特に、高濃度、すなわち、５０ｍｇ／ｍｌ超でも製剤中で安定であり、凝集しないこと
からなる群から選択することができる。

【０１５１】
例えば、本開示は、ＣＤＲ配列、すなわち、６つのＣＤＲ領域；ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、ＬＣＤＲ３またはＨＣＤＲ１’、ＨＣＤＲ２’、ＨＣＤＲ３’、ＬＣＤＲ１’、ＬＣＤＲ２’、ＬＣＤＲ３’が、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の少なくとも１つの抗体の対応するＣＤＲ配列に対する少なくとも６０、７０、９０、９５または１００％の配列同一性を共有し、前記同種抗体（homologous antibody）またはその抗原結合部分を含むタンパク質などのその抗原結合断片が、ＩＬ－１７Ａに特異的に結合し、抗体またはタンパク質が以下の機能特性：それがＩＬ－１７Ａのその受容体への結合を阻害する、それが細胞アッセイにおけるＩＬ－１７Ａ依存的ＩＬ－６もしくはＧＲＯ－アルファ生成を阻害する、またはｉｎ　ｖｉｖｏ抗原誘導性関節炎アッセイにおいて観察される効果の阻害、のうちの少なくとも１つを示す、可変重鎖（$Ｖ_{Ｈ}$）および可変軽鎖（$Ｖ_{Ｌ}$）配列を含む、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の同種抗体（またはその抗原結合部分を含むタンパク質）に関する。関連する特定の実施形態においては、同種抗体またはタンパク質は、１ｎＭ以下の$Ｋ_{Ｄ}$でＩＬ－１７Ａに結合し、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ競合結合アッセイにおいて測定した場合、ＩＬ－１７Ａのその受容体への結合を、１ｎＭ以下の$ＩＣ_{５０}$で阻害する。ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５のＣＤＲは、上記の表５および表６に定義される。

【０１５２】
本開示はさらに、抗体ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５のいずれか１つの対応する重鎖および軽鎖可変領域と少なくとも８０％、９０％、または少なくとも９５％または１００％同一である重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含むＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の同種抗体（またはその抗原結合部分を含むタンパク質などのその抗原結合断片）に関する；同種抗体またはタンパク質はＩＬ－１７Ａに特異的に結合し、それは以下の機能的特性：それがＩＬ－１７Ａのその受容体への結合を阻害する、それが細胞アッセイにおけるＩＬ－１７Ａ依存的ＩＬ－６もしくはＧＲＯ－アルファ生成を阻害する、またはｉｎ　ｖｉｖｏ抗原誘導性関節炎アッセイにおいて観察される効果の阻害、のうちの少なくとも１つを示す。関連する特定の実施形態においては、同種抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質などのその抗原結合断片は、１ｎＭ以下の$Ｋ_{Ｄ}$でＩＬ－１７Ａに結合し、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ競合結合アッセイにおいて測定した場合、ＩＬ－１７Ａのその受容体への結合を、１ｎＭ以下の$ＩＣ_{５０}$で阻害する。ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の$Ｖ_{Ｈ}$および$Ｖ_{Ｌ}$アミノ酸配列は、上記の表２に定義される。

【０１５３】
別の例では、本開示は、全長重鎖および全長軽鎖を含み、可変重鎖がＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の可変重鎖および軽鎖の対応するコードヌクレオチド配列と少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または１００％同

一であるヌクレオチド配列によりコードされ、同種抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質などのその抗原結合断片が、ＩＬ－１７Ａに特異的に結合し、それが以下の機能特性：それがＩＬ－１７Ａのその受容体への結合を阻害する、それが細胞アッセイにおけるＩＬ－１７Ａ依存的ＩＬ－６もしくはＧＲＯ－アルファ生成を阻害する、またはｉｎｖｉｖｏ抗原誘導性関節炎アッセイにおいて観察される効果の阻害、のうちの少なくとも１つを示す、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の同種抗体（またはその抗原結合部分を含むタンパク質などのその抗原結合断片）に関する。関連する特定の実施形態においては、同種抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質などのその抗原結合断片は、１ｎＭ以下のK_DでＩＬ－１７Ａに結合し、ｉｎ ｖｉｔｒｏ競合結合アッセイにおいて測定した場合、ＩＬ－１７Ａへの結合を、１ｎＭ以下のIC_{50}で阻害する。ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の可変領域のコードヌクレオチド配列を、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の全長コードヌクレオチド配列を示す表３ならびにＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の可変領域のアミノ酸配列を示す表２から誘導することができる。

【０１５４】

様々な実施形態において、抗体または抗体の抗原結合部分を含むタンパク質などのその抗原結合断片は、１つもしくは複数、２つ以上、３つ以上、または４つ以上の上記で考察された所望の機能特性を示してもよい。本開示の抗体またはタンパク質は、例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体であってもよい。一実施形態においては、抗体またはタンパク質は、完全ヒトサイレントＩｇＧ１抗体などの完全ヒトサイレント抗体である。

【０１５５】

沈黙化されたエフェクター機能を、抗体のＦｃ定常部分における変異により取得することができ、当技術分野で記載されている：Strohl 2009（LALA & N297A）；Baudino 2008, D265A （Baudino et al. 2008, J. Immunol. 181:6664-69, Strohl, CO 2009, Biotechnology 20:685-91）。サイレントＩｇＧ１抗体の例は、ＩｇＧ１ Ｆｃアミノ酸配列中にＬ２３４ＡおよびＬ２３５Ａ変異を含むいわゆるＬＡＬＡ変異体を含む。サイレントＩｇＧ１抗体の別の例は、Ｄ２６５Ａ変異を含む。Ｄ２６５Ａ変異はまた、好ましくは、Ｐ３２９Ａ変異（ＤＡＰＡ）と組み合わせることもできる。別のサイレントＩｇＧ１抗体は、無グリコシル化（aglycosylated）または非グリコシル化抗体をもたらす、Ｎ２９７Ａ変異を含む。

【０１５６】

アミノ酸配列変異体を含む抗体を、コード核酸分子の突然変異誘発（例えば、部位特異的突然変異誘発またはＰＣＲ媒介性突然変異誘発）、次いで、本明細書に記載の機能的アッセイを用いて保持された機能（すなわち、上記の機能）についてコードされ変化した抗体の試験により取得することができる。

【０１５７】

保存的改変を有する抗体

ある特定の実施形態においては、本開示の抗体（またはその抗原結合部分を含むタンパク質）は、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３配列（またはＨＣＤＲ１’、ＨＣＤＲ２’およびＨＣＤＲ３’）を含む重鎖可変領域と、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３配列（またはＬＣＤＲ１’、ＬＣＤＲ２’およびＬＣＤＲ３’）を含む軽鎖可変領域とを有し、これらのＣＤＲ配列の１つまたは複数は、本明細書に記載の抗体ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４もしくはＸＡＢ５に基づく特定のアミノ酸配列またはそれらの保存的改変を有し、抗体またはタンパク質は、本開示の抗ＩＬ－１７Ａ抗体の所望の機能特性を保持する。

【０１５８】

本明細書で用いられる用語「保存的配列改変」は、アミノ酸残基が類似する側鎖を有するアミノ酸残基で置き換えられたアミノ酸置換を指すことが意図される。類似する側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野で定義されている。これらのファミリーとしては、塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、

酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、ベータ分枝側鎖を有するアミノ酸（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）および芳香族側鎖を有するアミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が挙げられる。かくして、本開示の抗体のＣＤＲ領域内の１つまたは複数のアミノ酸残基を、同じ側鎖ファミリーに由来する他のアミノ酸残基と置き換え、変化した抗体を、本明細書に記載の機能的アッセイを用いて保持された機能について試験することができる。

【０１５９】

部位特異的突然変異誘発およびＰＣＲ媒介性突然変異誘発などの、当技術分野で公知の標準的な技術により、改変を本明細書に開示される抗体中に導入することができる。

【０１６０】

操作および改変された抗体

他の抗体およびその抗原結合部分を含むタンパク質などの抗原結合断片を、出発材料として上記に示されたＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５の１つまたは複数のV_Hおよび／またはV_L配列を有する抗体を用いて調製して、出発抗体から変化した特性を有してもよい改変された抗体を操作することができる。抗体を、可変領域の一方または両方（すなわち、V_Hおよび／またはV_L）内、例えば、１つまたは複数のＣＤＲ領域内および／または１つまたは複数のフレームワーク領域内の１つまたは複数の残基を改変することにより操作することができる。さらに、またはあるいは、抗体を、定常領域内の残基を改変して、例えば、抗体のエフェクター機能を変化させることにより操作することができる。

【０１６１】

実施することができる１つの型の可変領域操作は、ＣＤＲ移植である。抗体は、主として６つの重鎖および軽鎖相補性決定領域（ＣＤＲ）中に位置するアミノ酸残基を介して標的抗原と相互作用する。この理由から、ＣＤＲ内のアミノ酸配列は、ＣＤＲの外側の配列よりも個々の抗体間でより多様である。ＣＤＲ配列は多くの抗体－抗原相互作用を担うため、異なる特性を有する異なる抗体に由来するフレームワーク配列上に移植された特定の天然に存在する抗体に由来するＣＤＲ配列を含む発現ベクターを構築することにより、特定の天然に存在する抗体の特性を模倣する組換え抗体を発現させることができる（例えば、Riechmann, L. et al. 1998, Nature 332:323-327；Jones, P. et al. 1986, Nature 321:522-525；Queen, C. et al. 1989, Proc. Natl. Acad. See. U.S.A. 86:10029-10033；Ｗｉｎｔｅｒの米国特許第５，２２５，５３９号、ならびにＱｕｅｅｎらの米国特許第５，５３０，１０１号；第５，５８５，０８９号；第５，６９３，７６２号および第６，１８０，３７０号を参照されたい）。

【０１６２】

したがって、本開示の別の実施形態は、表５または表６に定義されたＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５のいずれか１つの６つのＣＤＲ領域を含むが、元の抗体とは異なるフレームワーク配列を依然として含有する、単離された組換えＣＤＲ移植（グラフト化）抗ＩＬ－１７Ａ抗体に関する。

【０１６３】

そのようなフレームワーク配列を、生殖系列抗体遺伝子配列を含む公共のＤＮＡデータベースまたは公開された参考文献から取得することができる。例えば、ヒト重鎖および軽鎖可変領域遺伝子に関する生殖系列ＤＮＡ配列を、「ＶＢａｓｅ」ヒト生殖系列配列データベース（www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbaseでインターネット上で利用可能）、ならびにKabat, E. A., et al. 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242；Tomlinson, I. M., et al. 1992, J. Mol. Biol. 227:776-798；およびCox, J. P. L.

et al. 1994, Eur. J Immunol. 24:827-836に見出すことができる。

【０１６４】

フレームワーク配列の例は、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５のいずれか１つで用いられるフレームワーク配列と構造的に類似するものである。V_HＣＤＲ１、２および３配列、ならびにV_LＣＤＲ１、２および３配列を、フレームワーク配列が誘導する生殖系列免疫グロブリン遺伝子中に見出されるものと同一の配列を有するフレームワーク領域上に移植してもよいし、またはＣＤＲ配列を、生殖系列配列と比較して１つまたは複数の変異を含有するフレームワーク領域上に移植してもよい。例えば、ある特定の例においては、フレームワーク領域内の残基を変異させて、抗体の抗原結合能力を維持するか、または増強することが有益であることが見出されている（例えば、Ｑｕｅｅｎらの米国特許第５，５３０，１０１号；第５，５８５，０８９号；第５，６９３，７６２号および第６，１８０，３７０号を参照されたい）。

【０１６５】

別の型の可変領域改変は、「親和性成熟」として知られる、V_Hおよび／またはV_LＣＤＲ１、ＣＤＲ２および／またはＣＤＲ３領域内のアミノ酸残基を変異させることによって、対象の抗体の１つまたは複数の結合特性（例えば、親和性）を改善することである。部位特異的突然変異誘発またはＰＣＲ媒介性突然変異誘発を実施して、変異を導入し、抗体結合に対する効果、または他の対象の機能特性を、本明細書に記載され、実施例に提供されるｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｉｎ　ｖｉｖｏアッセイにおいて評価することができる。したがって、一実施形態においては、本開示は、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５抗体の１つから誘導される親和性成熟した抗体に関する。保存的改変（上記で考察されたもの）を導入することができる。変異は、アミノ酸置換、付加または欠失であってもよい。さらに、典型的には、ＣＤＲ領域内の１、２、３、４または５個を超えない残基を変化させる。例えば、本開示の抗体は、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５の１つの６つのＣＤＲを含み、ＣＤＲ領域内の１、２、３、４または５個を超えない残基が変化した親和性成熟した抗体である。

【０１６６】

したがって、別の実施形態においては、本開示は、操作された抗体の重鎖および／または軽鎖アミノ酸配列が元の配列と比較して１、２、３、４または５個のアミノ酸置換、欠失または付加を含有することを除いて、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５抗体の少なくとも１つの対応する重鎖および軽鎖可変領域と同一である重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む単離され操作された抗ＩＬ－１７Ａ抗体を提供する。

【０１６７】

代替フレームワークまたは足場への抗原結合ドメインの移植

得られるポリペプチドがＩＬ－１７Ａに特異的に結合するＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５の少なくとも１つの結合領域を含む限り、様々な抗体／免疫グロブリンフレームワークまたは足場を用いることができる。そのようなフレームワークまたは足場は、５つの主要なイディオタイプのヒト免疫グロブリン、またはその断片（本明細書の他の場所に開示されるものなど）を含み、好ましくは、ヒト化された態様を有する、他の動物種の免疫グロブリンを含む。ラクダ科において同定されたものなどの単一重鎖抗体（single heavy-chain antibody）は、この点で特に興味深い。新規フレームワーク、足場および断片が、当業者によって探索および開発され続けている。

【０１６８】

一態様において、本開示は、本開示のＣＤＲを移植することができる非免疫グロブリン足場を用いた、非免疫グロブリンに基づく抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質の作製に関する。配列番号７６の標的タンパク質に特異的な結合領域を含む限り、既知の、または将来の（future）非免疫グロブリンフレームワークおよび足場を用いることができる。そのような化合物を、本明細書では、「標的特異的結合領域を含むポリペプチド」と呼ぶ。非免疫グロブリンフレームワークの例は、以下のセクションでさらに説明される（ラクダ科抗体および非抗体足場）。

【０１６９】
ラクダ科抗体
ラマ種（ラマ・パッコス（Lama paccos）、ラマ・グラマ（Lama glama）およびラマ・ビクグナ（Lama vicugna））などの新世界メンバーを含む、ラクダおよびヒトコブラクダ（カメルス・バクトリアヌス（Camelus bactrianus）およびカレルス・ドロマデリウス（Calelus dromaderius）科のメンバーから得られた抗体タンパク質が、サイズ、構造的複雑性およびヒト対象に対する抗原性に関して特徴付けられている。自然に見出されるこの科の哺乳動物に由来するある特定のＩｇＧ抗体は軽鎖を含まず、かくして、他の動物に由来する抗体の、２つの重鎖と２つの軽鎖とを有する典型的な４鎖四次構造とは構造的に異なる。ＰＣＴ公開番号ＷＯ９４／０４６７８を参照されたい。
【０１７０】
V_{HH}として同定される小さい単一可変ドメインであるラクダ科抗体の領域を、「ラクダ科ナノボディ」として知られる低分子量抗体由来タンパク質をもたらす、標的に対する高い親和性を有する小さいタンパク質をもたらす遺伝子操作により取得することができる。１９９８年６月２日に発行された米国特許第５，７５９，８０８号を参照されたい；また、Stijlemans, B. et al. 2004, J Biol Chem 279: 1256-1261；Dumoulin, M. et al. 2003, Nature 424: 783-788；Pleschberger, M. et al. 2003, Bioconjugate Chem 14: 440-448；Cortez-Retamozo, V. et al. 2002, Int J Cancer 89: 456-62；およびLauwereys, M. et al. 1998, EMBO J 17: 3512-3520も参照されたい。ラクダ科抗体および抗体断片の操作されたライブラリーは、例えば、Ａｂｌｙｎｘ、Ｇｈｅｎｔ、Ｂｅｌｇｉｕｍから商業的に入手可能である。非ヒト起源の他の抗体と同様、ラクダ科抗体のアミノ酸配列を組換え的に変化させて、ヒト配列とより密接に類似する配列を得ることができる、すなわち、ナノボディを「ヒト化」することができる。かくして、ヒトに対するラクダ科抗体の自然の低い抗原性を、さらに低下させることができる。
【０１７１】
ラクダ科ナノボディはヒトＩｇＧ分子の約１／１０の分子量を有し、そのタンパク質はわずか数ナノメートルの物理的直径を有する。小さいサイズの１つの結果は、より大きい抗体タンパク質には機能的に不可視である抗原性部位に結合するラクダ科ナノボディの能力である、すなわち、ラクダ科ナノボディは、さもなければ古典的な免疫学的技術を用いた場合には解明できない抗原を検出する試薬として、また、可能性のある治療剤として有用である。かくして、小さいサイズのさらに別の結果は、ラクダ科ナノボディが標的タンパク質の溝または狭い裂け目中の特異的部位への結合の結果として阻害することができ、したがって、古典的な抗体よりも古典的な低分子量の薬物の機能とより密接に類似する能力において役立ち得ることである。
【０１７２】
低分子量およびコンパクトなサイズは、極端に熱安定性であり、極端なｐＨおよびタンパク質分解的消化に対して安定であり、抗原性が低いラクダ科ナノボディをさらにもたらす。別の結果は、ラクダ科ナノボディは循環系から組織へ容易に移動し、さらに血液脳関門を通過し、神経組織に影響する障害を処置することができることである。ナノボディは、血液脳関門をわたる薬物輸送をさらに容易にすることができる。２００４年８月１９日に公開された米国特許出願公開第２００４０１６１７３８号を参照されたい。ヒトに対する低い抗原性と組み合わせたこれらの特徴は、高い治療潜在能力を示す。さらに、これらの分子は、大腸菌（E.coli）などの原核細胞中で完全に発現させることができ、バクテリオファージ中で融合タンパク質として発現され、機能的である。
【０１７３】
操作されたナノボディを、４５分から２週間のレシピエント対象中での半減期を有するように遺伝子操作によりさらにカスタマイズすることができる。特定の実施形態においては、ラクダ科抗体またはナノボディは、本開示のヒト抗体、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５のうちの１つの重鎖または軽鎖のＣＤＲ配列を、例えば、ＰＣＴ公開番号ＷＯ９４／０４６７８に記載のような、ナノボディまたは単一ドメイン抗体

フレームワーク配列中に移植することにより得られる。
【０１７４】
非抗体足場
公知の非免疫グロブリンフレームワークまたは足場としては、限定されるものではないが、アドネクチン（フィブロネクチン）（Ｃｏｍｐｏｕｎｄ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，Ｉｎｃ．、Ｗａｌｔｈａｍ、ＭＡ）、アンキリン（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐａｒｔｎｅｒｓ ＡＧ、Ｚｕｒｉｃｈ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）、ドメイン抗体（Ｄｏｍａｎｔｉｓ，Ｌｔｄ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、ＭＡ）およびＡｂｌｙｎｘ ｎｖ（Ｚｗｉｊｎａａｒｄｅ、Ｂｅｌｇｉｕｍ））、リポカリン（アンチカリン）（Ｐｉｅｒｉｓ Ｐｒｏｔｅｏｌａｂ ＡＧ、Ｆｒｅｉｓｉｎｇ、Ｇｅｒｍａｎｙ）、小モジュラー免疫医薬品（Ｔｒｕｂｉｏｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ Ｉｎｃ．、Ｓｅａｔｔｌｅ、ＷＡ）、マキシボディ（Ａｖｉｄｉａ，Ｉｎｃ．（Ｍｏｕｎｔａｉｎ Ｖｉｅｗ、ＣＡ））、プロテインＡ（Ａｆｆｉｂｏｄｙ ＡＧ、Ｓｗｅｄｅｎ）およびアフィリン（ガンマークリスタリンまたはユビキチン）（Ｓｃｉｌ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ＧｍｂＨ、Ｈａｌｌｅ、Ｇｅｒｍａｎｙ）、タンパク質エピトープ模倣物質（Ｐｏｌｙｐｈｏｒ Ｌｔｄ、Ａｌｌｓｃｈｗｉｌ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）が挙げられる。
【０１７５】
（ａ）フィブロネクチン足場
フィブロネクチン足場は、好ましくは、フィブロネクチンＩＩＩ型ドメイン（例えば、フィブロネクチンＩＩＩ型の１０番目のモジュール（１０Ｆｎ３ドメイン））に基づくものである。フィブロネクチンＩＩＩ型ドメインは、それ自身、互いに対して包み、タンパク質のコアを形成する２つのベータシート間に分布し、さらにベータ鎖を互いに接続し、溶媒露出したループを含有する（ＣＤＲと類似する（analogous））７つまたは８つのベータ鎖を有する。ベータシートサンドイッチのそれぞれの端部には少なくとも３つのそのようなループが存在し、その端部はベータ鎖の方向に対して垂直なタンパク質の境界である（米国特許第６，８１８，４１８号）。
【０１７６】
これらのフィブロネクチンに基づく足場は免疫グロブリンではないが、全体の折畳みは、ラクダおよびラマのＩｇＧ中の全抗原認識単位を含む、最も小さい機能的抗体断片、重鎖の可変領域のものと密接に関連する。この構造のため、非免疫グロブリン抗体は、天然で類似する抗原結合特性およびこれらの抗体に対する親和性を模倣する。これらの足場を、ｉｎ ｖｉｖｏでの抗体の親和性成熟のプロセスと類似するｉｎ ｖｉｔｒｏでのループ無作為化およびシャッフリング戦略において用いることができる。これらのフィブロネクチンに基づく分子を、その分子のループ領域を標準的なクローニング技術を用いてＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５のうちの１つのＣＤＲと置き換えることができる足場として用いることができる。
【０１７７】
（ｂ）アンキリン－分子パートナー
この技術は、異なる標的への結合のために用いることができる可変領域を担持させるための足場としてアンキリン由来反復モジュールを有するタンパク質を用いることに基づくものである。アンキリン反復モジュールは、２つの逆平行αヘリックスとβターンとからなる３３アミノ酸のポリペプチドである。可変領域の結合は、リボソームディスプレイを用いることによって最適化されることが多い。
【０１７８】
（ｃ）マキシボディ／アビマー－アビジア
アビマーは、ＬＲＰ－１などの天然Ａドメイン含有タンパク質から誘導される。これらのドメインは、天然でタンパク質間相互作用のために用いられ、ヒトにおいては２５０を超えるタンパク質が構造的にＡドメインに基づく。アビマーは、アミノ酸リンカーにより連結されたいくつかの異なる「Ａドメイン」モノマー（２～１０）からなる。例えば、米国特許出願公開第２００４０１７５７５６号；第２００５００５３９７３号；第２００５

００４８５１２号；および第２００６０００８８４４号に記載の方法を用いて、標的抗原に結合することができるアビマーを作出することができる。

【０１７９】

（ｄ）プロテインＡ－Ａｆｆｉｂｏｄｙ

Ａｆｆｉｂｏｄｙ（登録商標）親和性リガンドは、プロテインＡのＩｇＧ結合ドメインの１つの足場に基づく３ヘリックスバンドルを含む小さく単純なタンパク質である。プロテインＡは、スタフィロコッカス・オーレウス（Staphylococcus aureus）細菌に由来する表面タンパク質である。この足場ドメインは、５８アミノ酸からなり、そのうちの１３は多数のリガンドバリアントを含むＡｆｆｉｂｏｄｙ（登録商標）ライブラリーを作製するために無作為化される（例えば、米国特許第５，８３１，０１２号を参照されたい）。Ａｆｆｉｂｏｄｙ（登録商標）分子は抗体を模倣する；それらは１５０ｋＤａである抗体の分子量と比較して、６ｋＤａの分子量を有する。その小さいサイズにも拘らず、Ａｆｆｉｂｏｄｙ（登録商標）分子の結合部位は、抗体のものと類似している。

【０１８０】

（ｅ）アンチカリン－Ｐｉｅｒｉｓ

Ａｎｔｉｃａｌｉｎ（登録商標）は、Ｐｉｅｒｉｓ　ＰｒｏｔｅｏＬａｂ　ＡＧ社により開発された製品である。それらは、化学的に感受性であるか、または不溶性である化合物の生理学的輸送または保存に通常関与する広範囲の小さく強固なタンパク質であるリポカリンから誘導される。いくつかの天然リポカリンはヒト組織または体液中に存在する。

【０１８１】

タンパク質構造は、免疫グロブリンに類似しており、剛性フレームワークの頂部に超可変ループを有する。しかしながら、抗体またはその組換え断片とは対照的に、リポカリンは１６０～１８０アミノ酸残基を有する単一ポリペプチド鎖を含み、単一免疫グロブリンドメインよりもほんのわずかに大きい。

【０１８２】

結合ポケットを作り上げる４つのループのセットは、顕著な構造可塑性を示し、様々な側鎖を許容する。かくして、高い親和性および特異性を有する異なる形状の所定の標的分子を認識するように結合部位を特許プロセスで再形成させることができる。

【０１８３】

リポカリンファミリーの１つのタンパク質である、オオモンシロチョウ（Pieris Brassicae）のビリン結合タンパク質（ＢＢＰ）は、４つのループのセットを突然変異誘発することによってアンチカリンを開発するために用いられてきた。「アンチカリン」を記載する特許出願の一例は、ＰＣＴ公開ＷＯ１９９９１６８７３である。

【０１８４】

（ｆ）Ａｆｆｉｌｉｎ－Ｓｃｉｌタンパク質

Ａｆｆｉｌｉｎ（商標）分子は、タンパク質および低分子に対する特異的親和性のために設計された低分子非免疫グロブリンタンパク質である。新しいＡｆｆｉｌｉｎ（商標）分子を、それぞれ異なるヒト由来足場タンパク質に基づく２つのライブラリーから非常に迅速に選択することができる。

【０１８５】

Ａｆｆｉｌｉｎ（商標）分子は、免疫グロブリンタンパク質に対していかなる構造的相同性も示さない。Ｓｃｉｌタンパク質は、２つのＡｆｆｉｌｉｎ（商標）足場を用いるものであり、その一方はガンマ結晶性ヒト構造接眼レンズタンパク質であり、他方は「ユビキチン」スーパーファミリータンパク質である。両方のヒト足場は非常に小さく、高温安定性を示し、ｐＨ変化および変性剤に対してほぼ耐性である。この高い安定性は主に、タンパク質の拡張されたベータシート構造に起因する。ガンマ結晶由来タンパク質の例はＷＯ２００１０４１４４に記載されており、「ユビキチン様」タンパク質の例はＷＯ２００４１０６３６８に記載されている。

【０１８６】

（ｇ）タンパク質エピトープ模倣物質（ＰＥＭ）

ＰＥＭは、タンパク質間相互作用に関与する主要な二次構造であるタンパク質のベーターヘパリン二次構造を模倣する、中サイズの環状のペプチド様分子（ＭＷ１～２ｋＤａ）である。

【０１８７】

フレームワークまたはＦｃ操作

本開示の操作された抗体およびその抗原結合部分を含むタンパク質は、例えば、抗体の特性を改善するために、V_Hおよび／またはV_L内のフレームワーク残基に対して改変を行ったものを含む。典型的には、そのようなフレームワーク改変は、抗体の免疫原性を低下させるために作製される。例えば、１つの手法は、１つまたは複数のフレームワーク残基を、対応する生殖系列配列に「復帰変異」させることである。より具体的には、体細胞変異を受けた抗体は、抗体が誘導される生殖系列配列とは異なるフレームワーク残基を含有してもよい。そのような残基を、抗体フレームワーク配列と、抗体が誘導される生殖系列配列とを比較することにより同定することができる。フレームワーク領域配列をその生殖系列配置に戻すために、体細胞変異を、例えば、部位特異的突然変異誘発またはＰＣＲ媒介性突然変異誘発により、生殖系列配列に「復帰変異」させることができる。そのような「復帰変異」抗体も、本開示によって包含されることが意図される。

【０１８８】

別の型のフレームワーク改変は、フレームワーク領域内、またはさらには１つもしくは複数のＣＤＲ領域内の１つまたは複数の残基を変異させて、Ｔ細胞エピトープを除去することによって、抗体の潜在的な免疫原性を低下させることを含む。この手法は、「脱免疫化」とも呼ばれ、Ｃａｒｒらによる米国特許出願公開第２００３０１５３０４３号にさらに詳細に記載されている。

【０１８９】

フレームワークまたはＣＤＲ領域内で作製される改変に加えて、またはその代わりに、Ｆｃ領域内に改変を含むように、典型的には、血清半減期、補体固定、Ｆｃ受容体結合、および／または抗原依存的細胞性細胞傷害性などの、抗体の１つまたは複数の機能特性を変化させるように、本開示の抗体を操作することができる。さらに、本開示の抗体を化学的に改変する（例えば、１つまたは複数の化学部分を抗体に結合させることができる）か、または改変してそのグリコシル化を変化させ、再度、抗体の１つまたは複数の機能特性を変化させることができる。これらの実施形態はそれぞれ、以下でさらに詳細に説明される。

【０１９０】

本明細書で用いられる用語「Ｆｃ領域」は、天然（ネイティブ）配列Ｆｃ領域およびバリアントＦｃ領域を含む、免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するために用いられる。ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は一般に、ＩｇＧ抗体の位置Ｃ２２６から、またはＰ２３０からカルボキシル末端までのアミノ酸残基を含むものと定義される。Ｆｃ領域中の残基の番号は、ＫａｂａｔのＥＵインデックスのものである。Ｆｃ領域のＣ末端リシン（残基Ｋ４４７）を、例えば、抗体の生成または精製中に除去することができる。したがって、本開示の抗体の組成物は、全てのＫ４４７残基が除去された抗体集団、Ｋ４４７残基が除去されない抗体集団、ならびにＫ４４７残基を含む、および含まない抗体の混合物を有する抗体集団を含んでもよい。

【０１９１】

一実施形態においては、ＣＨ１のヒンジ領域は、ヒンジ領域中のシステイン残基の数が変化する、例えば、増加するか、または減少するように改変される。この手法は、Ｂｏｄｍｅｒらの米国特許第５，６７７，４２５号にさらに記載されている。ＣＨ１のヒンジ領域中のシステイン残基の数を、例えば、軽鎖および重鎖の集合を容易にするため、または抗体の安定性を増加もしくは低下させるために変化させる。

【０１９２】

別の実施形態においては、抗体のＦｃヒンジ領域を変異させて、抗体の生物学的半減期を低下させる。より具体的には、１つまたは複数のアミノ酸変異を、抗体が天然（ネイテ

ィブ）のＦｃ－ヒンジドメインＳｐＡ結合と比較して減じられたスタフィロコッカスプロテインＡ（ＳｐＡ）結合を有するようにＦｃ－ヒンジ断片のＣＨ２－ＣＨ３ドメイン境界領域中に導入する。この手法は、Ｗａｒｄらによる米国特許第６，１６５，７４５号にさらに詳細に記載されている。

【０１９３】

別の実施形態においては、抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質を、その生物学的半減期を増加させるように改変する。様々な手法が可能である。例えば、Ｗａｒｄの米国特許第６，２７７，３７５号に記載のように、以下の変異のうちの１つまたは複数を導入することができる：Ｔ２５２Ｌ、Ｔ２５４Ｓ、Ｔ２５６Ｆ。あるいは、生物学的半減期を増加させるために、Ｐｒｅｓｔａらによる米国特許第５，８６９，０４６号および第６，１２１，０２２号に記載のように、ＩｇＧのＦｃ領域のＣＨ２ドメインの２つのループから取ったサルベージ受容体結合エピトープを含有するように、ＣＨ１またはＣＬ領域内で抗体を変化させることができる。

【０１９４】

さらに他の実施形態においては、少なくとも１つのアミノ酸残基を、異なるアミノ酸残基と置き換えて、抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質のエフェクター機能を変化させることによって、Ｆｃ領域を変化させる。例えば、抗体がエフェクターリガンドに対する変化した親和性を有するが、親抗体の抗原結合能力を保持するように、１つまたは複数のアミノ酸を異なるアミノ酸残基と置き換えることができる。親和性を変化させるエフェクターリガンドは、例えば、Ｆｃ受容体または補体のＣ１成分であってもよい。この手法は、両方ともＷｉｎｔｅｒらによる米国特許第５，６２４，８２１号および第５，６４８，２６０号にさらに詳細に記載されている。

【０１９５】

別の実施形態においては、抗体が変化したＣ１ｑ結合および／または低下した、もしくは消失した補体依存的細胞傷害性（ＣＤＣ）を有するように、アミノ酸残基から選択される１つまたは複数のアミノ酸を、異なるアミノ酸残基と置き換えることができる。この手法は、Ｉｄｕｓｏｇｉｅらによる米国特許第６，１９４，５５１号にさらに詳細に記載されている。

【０１９６】

別の実施形態においては、１つまたは複数のアミノ酸残基を変化させることによって、補体を固定する抗体の能力を変化させる。この手法は、ＢｏｄｍｅｒらによるＰＣＴ公開ＷＯ９４／２９３５１にさらに記載されている。

【０１９７】

さらに別の実施形態においては、Ｆｃ領域を改変して、抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質が、抗体依存的細胞性細胞傷害性（ＡＤＣＣ）を媒介し、かつ／または１つまたは複数のアミノ酸を改変することによりＦｃγ受容体に対する抗体の親和性を増加させる能力を増加させる。この手法は、ＰｒｅｓｔａによるＰＣＴ公開ＷＯ００／４２０７２にさらに記載されている。さらに、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、ＦｃγＲＩＩＩおよびＦｃＲｎのためのヒトＩｇＧ１上の結合部位がマッピングされており、結合が改変されたバリアントが記載されている（Shields, R.L. et al. 2001, J. Biol. Chem 276:6591-6604を参照されたい）。

【０１９８】

ある特定の実施形態においては、ＩｇＧ１アイソタイプのＦｃドメインを用いる。いくつかの特定の実施形態においては、ＩｇＧ１　Ｆｃ断片の変異バリアント、例えば、抗体依存的細胞性細胞傷害性（ＡＤＣＣ）を媒介し、かつ／またはＦｃγ受容体に結合する融合ポリペプチドの能力を低下させるか、または除去するサイレントＩｇＧ１　Ｆｃを用いる。ＩｇＧ１アイソタイプのサイレント変異体の例は、Hezareh et al. 2001, J. Virol 75:12161-8により記載されたような、アミノ酸位置２３４と２３５でロイシンがアラニンにより置き換えられたＩｇＧ１である。ＩｇＧ１アイソタイプのサイレント変異体の別の例は、Ｄ２６５Ａ変異を有するＩｇＧ１である（アスパラギン酸が位置２６５でアラニン

により置換されている）。ある特定の実施形態においては、Ｆｃドメインは、Ｆｃドメインの位置２９７でのグリコシル化を防止するサイレントＦｃ変異体である。例えば、Ｆｃドメインは、位置２９７にアスパラギンのアミノ酸置換を含有する。そのようなアミノ酸置換の例は、グリシンまたはアラニンによるＮ２９７の置き換えである。

【０１９９】

さらに別の実施形態においては、抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質のグリコシル化を改変する。例えば、無グリコシル化抗体を作製することができる（すなわち、抗体はグリコシル化を欠く）。グリコシル化を変化させて、例えば、抗原に対する抗体の親和性を増加させることができる。そのような炭水化物改変を、例えば、抗体配列内の１つまたは複数のグリコシル化部位を変化させることにより達成することができる。例えば、１つまたは複数の可変領域フレームワークグリコシル化部位の除去をもたらすことによって、その部位のグリコシル化を除去する１つまたは複数のアミノ酸置換を作製することができる。そのような無グリコシル化は、抗原に対する抗体の親和性を増加させ得る。そのような手法は、Ｃｏらによる米国特許第５，７１４，３５０号および第６，３５０，８６１号にさらに詳細に記載されている。

【０２００】

さらに、またはあるいは、フコシル残基の量が低下した低フコシル化抗体または二分岐のＧｌｃＮａｃ構造が増加した抗体などの、変化した型のグリコシル化を有する抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質を作製することができる。そのような変化したグリコシル化パターンは、抗体のＡＤＣＣ能力を増加させることが証明されている。そのような炭水化物改変を、例えば、グリコシル化機構が変化した宿主細胞中で抗体を発現させることによって達成することができる。グリコシル化機構が変化した細胞は、当技術分野で記載されており、本開示の組換え抗体を発現させることによってグリコシル化が変化した抗体を生成する宿主細胞として用いることができる。例えば、ＨａｎｇらによるＥＰ１１７６１９５は、フコシルトランスフェラーゼをコードするＦＵＴ８遺伝子が機能的に破壊された細胞系を記載しており、そのような細胞系中で発現された抗体は低フコシル化を示す。したがって、一実施形態においては、本開示の抗体は、低フコシル化パターンを示す細胞系、例えば、フコシルトランスフェラーゼをコードするＦＵＴ８遺伝子の発現が欠損した哺乳動物細胞系中での組換え発現により生成される。ＰｒｅｓｔａによるＰＣＴ公開ＷＯ０３／０３５８３５は、フコースをＡｓｎ（２９７）結合炭水化物に結合させる能力が低下し、また、その宿主細胞中で発現される抗体の低フコシル化をもたらす、バリアントＣＨＯ細胞系、Ｌｅｃｌ３細胞を記載する（Shields, R.L. et al. 2002, J. Biol. Chem. 277:26733-26740も参照されたい）。ＵｍａｎａらによるＰＣＴ公開ＷＯ９９／５４３４２は、操作された細胞系中で発現された抗体が、抗体のＡＤＣＣ活性の増加をもたらす二分岐ＧｌｃＮａｃ構造の増加を示すように、糖タンパク質改変グリコシルトランスフェラーゼ（例えば、ベータ（１，４）－ＮアセチルグルコサミニルトランスフェラーゼＩＩＩ（ＧｎＴＩＩＩ））を発現するように操作された細胞系を記載する（Umana et al. 1999, Nat. Biotech. 17:176-180も参照されたい）。あるいは、本開示の抗体およびその抗原結合部分を含むタンパク質を、哺乳動物のようなグリコシル化パターンのために操作され、グリコシル化パターンとしてフコースを欠く抗体を生成することができる酵母または糸状菌中で生成させることができる（例えば、ＥＰ１２９７１７２を参照されたい）。

【０２０１】

本開示により企図される本明細書に開示される抗体およびその抗原結合部分を含むタンパク質の別の改変は、ペグ化である。これらの分子を、例えば、その生物学的（例えば、血清）半減期を増加させるためにペグ化することができる。例えば、抗体をペグ化するために、抗体、またはその断片を、典型的には、１つまたは複数のＰＥＧ基が抗体または抗体断片に結合されるようになる条件下で、ＰＥＧの反応性エステルまたはアルデヒド誘導体などの、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）と反応させる。ペグ化を、反応性ＰＥＧ分子（または類似する反応性水溶性ポリマー）とのアシル化反応またはアルキル化反応によって実行することができる。本明細書で用いられる用語「ポリエチレングリコール」は、

モノ（Ｃ１～Ｃ１０）アルコキシ－またはアリールオキシ－ポリエチレングリコールまたはポリエチレングリコール－マレイミドなどの他のタンパク質を誘導体化するために用いられてきた任意の形態のＰＥＧを包含することが意図される。ある特定の実施形態においては、ペグ化される抗体は、無グリコシル化抗体である。タンパク質をペグ化するための方法は当技術分野で公知であり、本開示の抗体に適用することができる。例えば、Ｎｉｓｈｉｍｕｒａらによる ＥＰ０１５４３１６およびＩｓｈｉｋａｗａらによるＥＰ０４０１３８４を参照されたい。

【０２０２】

本開示により企図される抗体およびその抗原結合部分を含むタンパク質の別の改変は、得られる分子の半減期を増加させるための、ヒト血清アルブミンまたはその断片などの血清タンパク質との、本開示の抗体の少なくとも抗原結合領域のコンジュゲートまたはタンパク質融合物である。そのような手法は、例えば、ＢａｌｌａｎｃｅらのＥＰ０３２２０９４に記載されている。

【０２０３】

別の可能性は、得られる分子の半減期を増加させるためにヒト血清アルブミンなどの血清タンパク質に結合することができるタンパク質との、本開示の抗体の少なくとも抗原結合領域の融合物である。そのような手法は、例えば、ＮｙｇｒｅｎらのＥＰ０４８６５２５に記載されている。

【０２０４】

変化した抗体を操作する方法

上記で考察されたように、本明細書に示されるＶ$_H$およびＶ$_L$配列または全長重鎖および軽鎖配列を有する抗ＩＬ－１７Ａ抗体を用いて、全長重鎖および／もしくは軽鎖配列、Ｖ$_H$および／もしくはＶ$_L$配列、またはそれに結合した定常領域を改変することによって、新しい抗ＩＬ－１７Ａ抗体を作出することができる。かくして、本開示の別の態様において、本開示の抗ＩＬ－１７Ａ抗体の構造的特徴は、ヒトＩＬ－１７Ａへの結合およびまた、ｉｎ ｖｉｖｏアッセイにおけるＩＬ－１７Ａの１つまたは複数の機能特性（例えば、ＩＬ－１７ＡもしくはＩＬ－１７ＡＦのその受容体への結合の阻害、ＩＬ－６、ＧＲＯ－アルファのＩＬ－１７ＡもしくはＩＬ－１７ＡＦにより誘導される生成の阻害など）阻害活性の阻害などの、本明細書に開示される抗体の少なくとも１つの機能特性を保持する、構造的に関連する抗ＩＬ－１７Ａ抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質を作出するために用いられる。

【０２０５】

ＩＬ－１７Ａと実質的に同じ結合特性を保持する他の抗体としては、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５のいずれか１つの同じＶＨおよびＶＬ領域、またはＣＤＲ領域と、異なる定常領域またはフレームワーク領域（例えば、異なるアイソタイプ、例えば、ＩｇＧ４またはＩｇＧ２から選択される異なるＦｃ領域）を保持する、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５のいずれか１つのキメラ抗体またはＣＤＲ移植抗体が挙げられる。

【０２０６】

例えば、上記で考察された通り、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４もしくはＸＡＢ５のいずれか１つ、またはその変異の１つまたは複数のＣＤＲ領域を、既知のフレームワーク領域および／または他のＣＤＲと組換え的に組み合わせて、本開示のさらなる組換え操作された抗ＩＬ－１７Ａ抗体を作出することができる。他の型の改変としては、以前のセクションに記載されたものが挙げられる。操作方法のための出発材料は、上記の表に提供されたＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４もしくはＸＡＢ５の１つもしくは複数のＶ$_H$および／もしくはＶ$_L$配列、またはその１つもしくは複数のＣＤＲ領域である。操作された抗体を作出するために、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４もしくはＸＡＢ５の１つもしくは複数のＶ$_H$および／もしくはＶ$_L$配列、またはその１つもしくは複数のＣＤＲ領域を有する抗体を実際に調製する（すなわち、タンパク質として発現させる）必要はない。むしろ、配列に含まれる情報は、元の配列から誘導される「第２世代」

配列を作出するための出発材料として用いられ、次いで、「第２世代」配列はタンパク質として調製および発現される。

【０２０７】

第２世代配列は、例えば、少なくとも１つの変化した抗体配列を作出するために、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５のいずれか１つの重鎖可変領域抗体配列および／または軽鎖可変領域抗体配列内の少なくとも１つのアミノ酸残基のＤＮＡコード配列を変化させること；ならびに変化した抗体配列をタンパク質として発現させることによって誘導される。

【０２０８】

したがって、別の実施形態においては、本開示は、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５のいずれか１つの全長重鎖抗体配列、全長軽鎖抗体配列からなる哺乳動物細胞中での発現について最適化された抗ＩＬ－１７Ａ抗体を調製し；ヌクレオチドコード配列中の少なくとも１つのコドンであって、少なくとも１つの変化した抗体配列を作出するために全長重鎖抗体配列および／または全長軽鎖抗体配列内のアミノ酸残基をコードする前記コドンを変化させ；ならびに変化した抗体配列をタンパク質として発現させるための方法を提供する。

【０２０９】

また、変化した抗体配列を、それぞれＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４もしくはＸＡＢ５のいずれか１つのユニークな重鎖および軽鎖ＣＤＲ３配列、または米国特許出願公開第２００５０２５５５５２号に記載の最小必須結合決定基、ならびにＣＤＲ１およびＣＤＲ２配列のための代替配列を有する抗体ライブラリーをスクリーニングすることによって調製することもできる。スクリーニングを、ファージディスプレイ技術などの、抗体ライブラリーから抗体をスクリーニングするのに好適な任意のスクリーニング技術に従って実施することができる。

【０２１０】

標準的な分子生物学技術を用いて、変化した抗体配列を調製し、発現させることができる。変化した抗体配列によりコードされる抗体は、本明細書に記載の抗ＩＬ－１７Ａ抗体の所望の機能特性の１つ、いくつか、または全部を保持するものであり、その機能特性としては、限定されるものではないが、ヒトＩＬ－１７Ａへの特異的結合；および／またはＩＬ－１７Ａのその受容体への結合の阻害；および／または例えば、ＩＬ－６もしくはＧＲＯ－アルファのＩＬ－１７Ａに誘導される生成の阻害などが挙げられる。

【０２１１】

変化した抗体は、上記で考察された１つもしくは複数、２つ以上、または３つ以上の機能特性を示してもよい。

【０２１２】

本開示の抗体を操作する方法のある特定の実施形態においては、抗ＩＬ－１７Ａ抗体コード配列の全部または一部に沿って無作為または選択的に変異を導入し、得られる改変された抗ＩＬ－１７Ａ抗体を、本明細書に記載のように結合活性および／または他の機能特性についてスクリーニングすることができる。変異方法は、当技術分野で記載されている。例えば、ＳｈｏｒｔによるＰＣＴ公開ＷＯ０２／０９２７８０は、飽和突然変異誘発、合成ライゲーションアセンブリ、またはその組合せを用いる抗体変異を作出し、スクリーニングするための方法を記載する。あるいは、ＬａｚａｒらによるＰＣＴ公開ＷＯ０３／０７４６７９は、抗体の物理化学的特性を最適化するためのコンピュータスクリーニング法の使用方法を記載する。

【０２１３】

本開示の抗体をコードする核酸分子

本開示の別の態様は、本開示の抗体またはタンパク質をコードする核酸分子に関する。可変軽鎖ヌクレオチド配列の例は、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５のいずれか１つの可変軽鎖アミノ酸配列をコードするものであり、後者の配列は表３（ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５の重鎖および軽鎖の全ヌクレ

オチドコード配列を示す）および表２（ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５の可変領域のアミノ酸配列を示す）から誘導される。

【０２１４】

本開示はまた、哺乳動物細胞、例えば、ＣＨＯ細胞系におけるタンパク質発現のために最適化されている後者の配列から誘導される核酸分子に関する。

【０２１５】

核酸は、全細胞、細胞溶解物中に存在してもよく、または部分的に精製された、もしくは実質的に純粋な形態の核酸であってもよい。核酸は、アルカリ／ＳＤＳ処理、ＣｓＣｌバンディング、カラムクロマトグラフィー、アガロースゲル電気泳動および当技術分野で周知の他の技術などの標準的な技術により、他の細胞成分または他の夾雑物、例えば、他の細胞核酸またはタンパク質から精製された場合、「単離される」または「実質的に純粋にされる」。F. Ausubel, et al., ed. 1987, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New Yorkを参照されたい。本開示の核酸は、例えば、ＤＮＡまたはＲＮＡであってもよく、イントロン配列を含有しても、またはしなくてもよい。ある実施形態において、核酸は、ｃＤＮＡ分子である。核酸は、ファージディスプレイベクターなどのベクター中、または組換えプラスミドベクター中に存在してもよい。

【０２１６】

本開示の核酸を、標準的な分子生物学技術を用いて取得することができる。一度、例えば、V_HおよびV_LセグメントをコードするＤＮＡ断片が得られたら、これらのＤＮＡ断片を、標準的な組換えＤＮＡ技術によってさらに操作して、例えば、可変領域遺伝子を、全長抗体鎖遺伝子、Ｆａｂ断片遺伝子またはｓｃＦｖ遺伝子に変換することができる。これらの操作においては、V_LまたはV_HをコードするＤＮＡ断片は、別のＤＮＡ分子、または抗体定常領域もしくは可撓性リンカーなどの別のタンパク質をコードする断片に作動可能に連結される。本文で用いられる用語「作動可能に連結される」は、例えば、２つのＤＮＡ断片によりコードされるアミノ酸配列がインフレームにあるか、またはタンパク質が所望のプロモーターの制御下に発現されるように、２つのＤＮＡ断片が機能的様式で連結されることを意味することが意図される。

【０２１７】

V_HをコードするＤＮＡを、重鎖定常領域（ＣＨ１、ＣＨ２およびＣＨ３）をコードする別のＤＮＡ分子に作動可能に連結することによって、V_H領域をコードする単離されたＤＮＡを、全長重鎖遺伝子に変換することができる。ヒト重鎖定常領域遺伝子の配列は当技術分野で公知であり（例えば、Kabat, E. A., el al. 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242を参照されたい）、これらの領域を包含するＤＮＡ断片を、標準的なＰＣＲ増幅によって取得することができる。重鎖定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ、ＩｇＥ、ＩｇＭまたはＩｇＤ定常領域であってもよい。いくつかの実施形態においては、重鎖定常領域は、ＩｇＧ１アイソタイプのうちから選択される。Ｆａｂ断片重鎖遺伝子については、V_HをコードするＤＮＡを、重鎖ＣＨ１定常領域のみをコードする別のＤＮＡ分子に作動可能に連結することができる。

【０２１８】

V_LをコードするＤＮＡを、軽鎖定常領域、ＣＬをコードする別のＤＮＡ分子に作動可能に連結することにより、V_L領域をコードする単離されたＤＮＡを全長軽鎖遺伝子（ならびにＦａｂ軽鎖遺伝子）に変換することができる。ヒト軽鎖定常領域遺伝子の配列は当技術分野で公知であり（例えば、Kabat, E. A., et al. 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242を参照されたい）、これらの領域を包含するＤＮＡ断片を、標準的なＰＣＲ増幅により取得することができる。軽鎖定常領域は、カッパまたはラムダ定常領域であってもよい。

【０２１９】

ｓｃＦｖ遺伝子を作出するために、V_HおよびV_LをコードするＤＮＡ断片を、可撓性リンカーをコードする、例えば、アミノ酸配列（Ｇｌｙ４－Ｓｅｒ）$_3$をコードする別の断片に作動可能に連結し、V_HおよびV_L配列を、可撓性リンカーにより連結されたV_LおよびV_H領域と共に、連続単一鎖タンパク質として発現させることができる（例えば、Bird et al. 1988, Science 242:423-426；Huston et at. 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCafferty et al. 1990, Nature 348:552-554を参照されたい）。

【０２２０】

本開示の組換え抗体の単離

抗体およびその抗原結合部分を含むタンパク質をスクリーニングする様々な方法が、当技術分野で記載されている。そのような方法を、抗原免疫化の際に完全ヒト抗体を生成することができるトランスジェニックマウスなどのｉｎ　ｖｉｖｏ系と、抗体ＤＮＡコードライブラリーを作製すること、抗体生成のための適切な系中でＤＮＡライブラリーを発現させること、親和性選択基準を用いて標的に結合する抗体候補を発現するクローンを選択すること、および選択されたクローンの対応するコード配列を回収することからなるｉｎｖｉｔｒｏ系とに分けることができる。これらのｉｎ　ｖｉｔｒｏ技術はディスプレイ技術として公知であり、限定されるものではないが、ファージディスプレイ、ＲＮＡまたはＤＮＡディスプレイ、リボソームディスプレイ、酵母または哺乳動物細胞ディスプレイが挙げられる。それらは当技術分野でよく記載されている（概説については、例えば、Nelson et al. 2010, Nature Reviews Drug discovery, “Development trends for human monoclonal antibody therapeutics” (Advance Online Publication)およびHoogenboom et al. 2001, Method in Molecular Biology 178:1-37, O’Brien et al., ed., Human Press, Totowa, N.J.を参照されたい）。１つの特定の実施形態においては、本開示のヒト組換え抗体は、ＨｕＣＡＬ（登録商標）ライブラリーなどの、ヒト組換え抗体ライブラリーのライブラリーをスクリーニングするためのファージディスプレイ方法を用いて単離される。

【０２２１】

V_HおよびV_L遺伝子または関連するＣＤＲ領域のレパートリーを、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）により別々にクローニングするか、またはＤＮＡ合成装置により合成し、ファージライブラリー中で無作為に組換えた後、抗原結合クローンについてスクリーニングすることができる。ヒト抗体を単離するためのそのようなファージディスプレイ法は、当技術分野で確立されているか、または以下の実施例に記載される。例えば、Ｌａｄｎｅｒらの米国特許第５，２２３，４０９号；第５，４０３，４８４号；および第５，５７１，６９８号；Ｄｏｗｅｒらの米国特許第５，４２７，９０８号および第５，５８０，７１７号；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙらの米国特許第５，９６９，１０８号および第６，１７２，１９７号ならびにＧｒｉｆｆｉｔｈｓらの米国特許第５，８８５，７９３号；第６，５２１，４０４号；第６，５４４，７３１号；第６，５５５，３１３号；第６，５８２，９１５号および第６，５９３，０８１号を参照されたい。

【０２２２】

ある特定の実施形態においては、ＩＬ－１７Ａに対するヒト抗体を、マウス系よりもむしろヒト免疫系の部分を担持するトランスジェニックまたはトランス染色体マウスを用いて同定することができる。これらのトランスジェニックおよびトランス染色体マウスは、本明細書ではそれぞれＨｕＭＡｂマウスおよびＫＭマウスと呼ばれるマウスを含み、本明細書では「ヒトＩｇマウス」と集合的に呼ばれる。

【０２２３】

ＨｕＭＡｂマウス（登録商標）（Ｍｅｄａｒｅｘ，Ｉｎｃ．）は、内因性μおよびκ鎖遺伝子座を不活化する標的化された変異と一緒に、再配置されていないヒト重鎖（μおよびγ）ならびにκ軽鎖免疫グロブリン配列をコードするヒト免疫グロブリン遺伝子ミニ遺伝子座を含有する（例えば、Lonberg, et al. 1994, Nature 368:856-859を参照されたい）。したがって、マウスは、マウスＩｇＭまたはκの発現の低下を示し、免疫化に応答して、導入されたヒト重鎖および軽鎖トランス遺伝子は、クラススイッチングおよび体細胞

変異を受けて、高親和性ヒトＩｇＧκモノクローナルを生成する（Lonberg, N. et al. 1994, supra； Lonberg, N., 1994 Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101に概説されている; Lonberg, N. and Huszar, D. 1995, Intern. Rev. Immunol. 13:65-93、およびHarding, F. and Lonberg, N. 1995, Ann. N. Y. Acad. Sci. 764:536-546）。ＨｕＭＡｂマウスの調製および使用、ならびにそのようなマウスにより担持されるゲノム改変は、Taylor, L. et al. 1992, Nucleic Acids Research 20:6287-6295；Chen, J. et at. 1993, International Immunology 5:647-656；Tuaillon et al. 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:3720-3724；Choi et al. 1993, Nature Genetics 4:117-123；Chen, J. et al. 1993, EMBO J. 12: 821-830；Tuaillon et al. 1994, J. Immunol. 152:2912-2920；Taylor, L. et al. 1994, International Immunology 579-591；およびFishwild, D. et al. 1996, Nature Biotechnology 14: 845-851にさらに記載されている。さらに、全てＬｏｎｂｅｒｇおよびＫａｙの米国特許第５，５４５，８０６号；第５，５６９，８２５号；第５，６２５，１２６号；第５，６３３，４２５号；第５，７８９，６５０号；第５，８７７，３９７号；第５，６６１，０１６号；第５，８１４，３１８号；第５，８７４，２９９号；および第５，７７０，４２９号；Ｓｕｒａｎｉらの米国特許第５，５４５，８０７号；全てＬｏｎｂｅｒｇおよびＫａｙのＰＣＴ公開ＷＯ９２１０３９１８、ＷＯ９３／１２２２７、ＷＯ９４／２５５８５、ＷＯ９７１１３８５２、ＷＯ９８／２４８８４およびＷＯ９９／４５９６２；ならびにＫｏｒｍａｎらのＰＣＴ公開ＷＯ０１／１４４２４も参照されたい。

【０２２４】

別の実施形態においては、本開示のヒト抗体を、ヒト重鎖トランス遺伝子およびヒト軽鎖トランス染色体を担持するマウスなどの、トランス遺伝子およびトランス染色体上にヒト免疫グロブリン配列を担持するマウスを用いて生じさせることができる。本明細書では「ＫＭマウス」と呼ばれるそのようなマウスは、ＩｓｈｉｄａらのＰＣＴ公開ＷＯ０２／４３４７８に詳細に記載されている。

【０２２５】

さらに、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する代替トランスジェニック動物系が当技術分野で利用可能であり、これを用いて本開示の抗ＩＬ－１７Ａ抗体を生じさせることができる。例えば、Ａｂｇｅｎｉｘ，Ｉｎｃ．からのＸｅｎｏｍｏｕｓｅと呼ばれる代替トランスジェニック系を用いることができる。そのようなマウスは、例えば、Ｋｕｃｈｅｒｌａｐａｔｉらの米国特許第５，９３９，５９８号；第６，０７５，１８１号；第６，１１４，５９８号；第６，１５０，５８４号および第６，１６２，９６３号に記載されている。当業者には明らかであるように、Ｔｒｉａｎｎｉ，Ｉｎｃ．からのＴｒｉａｎｎｉ（商標）マウス、Ｒｅｇｅｎｅｒｏｎ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．からのＶｅｌｏｃＩｍｍｕｎｅ（商標）マウス、またはＫｙｍａｂ　ＬｉｍｉｔｅｄからのＫｙｍｏｕｓｅ（商標）マウスなどの、いくつかの他のマウスモデルを用いることができる。

【０２２６】

さらに、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する代替的なトランス染色体動物系が当技術分野で利用可能であり、これを用いて本開示の抗ＩＬ－１７Ａ抗体を生じさせることができる。例えば、「ＴＣマウス」と呼ばれる、ヒト重鎖トランス染色体と、ヒト軽鎖トランス染色体との両方を担持するマウスを用いることができる；そのようなマウスは、Tomizuka et al. 2000, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:722-727に記載されている。

【０２２７】

また、免疫化の際にヒト抗体応答を生成することができるようにヒト免疫細胞が再構成されたＳＣＩＤマウスを用いて、本開示のヒトモノクローナル抗体を調製することもできる。そのようなマウスは、例えば、Ｗｉｌｓｏｎらの米国特許第５，４７６，９９６号および第５，６９８，７６７号に記載されている。

【０２２８】

マウス系からの本開示のモノクローナル抗体の生成

従来のモノクローナル抗体法、例えば、Kohler and Milstein 1975, Nature 256:495の

標準的な体細胞ハイブリダイゼーション技術などの、様々な技術によって、モノクローナル抗体（ｍＡｂ）を生成することができる。モノクローナル抗体を生成するための多くの技術、例えば、Ｂリンパ球のウイルスまたはがん形質転換を用いることができる。

【０２２９】

ハイブリドーマを調製するための動物系は、マウス系である。マウスにおけるハイブリドーマ生成は、よく確立された手順である。融合のための免疫化された脾細胞の単離のための免疫化プロトコールおよび技術は当技術分野で公知である。融合パートナー（例えば、マウスミエローマ細胞）および融合手順も公知である。

【０２３０】

本開示のキメラまたはヒト化抗体を、上記のように調製されたマウスモノクローナル抗体の配列に基づいて調製することができる。重鎖および軽鎖免疫グロブリンをコードするＤＮＡを、対象のマウスハイブリドーマから取得し、標準的な分子生物学技術を用いて非マウス（例えば、ヒト）免疫グロブリン配列を含有するように操作することができる。例えば、キメラ抗体を作出するために、当技術分野で公知の方法を用いて、マウス可変領域をヒト定常領域に連結することができる（例えば、Ｃａｂｉｌｌｙらの米国特許第４，８１６，５６７号を参照されたい）。ヒト化抗体を作出するために、当技術分野で公知の方法を用いて、マウスＣＤＲ領域をヒトフレームワーク中に挿入することができる。例えば、Ｗｉｎｔｅｒの米国特許第５，２２５，５３９号、ならびにＱｕｅｅｎらの米国特許第５，５３０，１０１号；第５，５８５，０８９号；第５，６９３，７６２号および第６，１８０，３７０号を参照されたい。

【０２３１】

ヒトモノクローナル抗体を生成するハイブリドーマの作製

本開示のヒトモノクローナル抗体を生成するハイブリドーマを作製するために、免疫化されたマウスに由来する脾細胞および／またはリンパ節細胞を単離し、マウスミエローマ細胞系などの適切な不死化細胞系に融合することができる。得られるハイブリドーマを、抗原特異的またはエピトープ特異的抗体の生成についてスクリーニングすることができる。例えば、免疫化されたマウスに由来する脾臓リンパ球の単一細胞懸濁液を、５０％ＰＥＧを用いて、１／６の数のＰ３Ｘ６３－Ａｇ８．６５３非分泌マウスミエローマ細胞（ＡＴＣＣ、ＣＲＬ１５８０）に融合することができる。細胞を平底マイクロタイタープレート中、約２ｘ１４５で塗布した後、２０％胎児クローン血清、１８％「６５３」条件培地、５％オリゲン（ＩＧＥＮ）、４ｍＭ　Ｌ－グルタミン、１ｍＭピルビン酸ナトリウム、５ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、０．０５５ｍＭ　２－メルカプトエタノール、５０ユニット／ｍｌペニシリン、５０ｍｇ／ｍｌストレプトマイシン、５０ｍｇ／ｍｌゲンタマイシンおよび１Ｘ　ＨＡＴ（Ｓｉｇｍａ；ＨＡＴは融合の２４時間後に添加される）を含有する選択培地中で２週間インキュベートする。約２週間後、ＨＡＴをＨＴで置き換えた培地中で細胞を培養することができる。次いで、ヒトモノクローナルＩｇＭおよびＩｇＧ抗体についてＥＬＩＳＡにより個々のウェルをスクリーニングすることができる。一度、広範囲のハイブリドーマ増殖が生じたら、通常は培地を１０～１４日後に観察することができる。抗体を分泌するハイブリドーマを再塗布し、再度スクリーニングし、ヒトＩｇＧについて依然として陽性である場合、限界希釈によって１回または２回、モノクローナル抗体をサブクローニングすることができる。次いで、安定なサブクローンをｉｎ　ｖｉｔｒｏで培養して、特徴付けのために組織培養培地中に少量の抗体を生成させることができる。

【０２３２】

ヒトモノクローナル抗体を精製するために、選択されたハイブリドーマを、モノクローナル抗体精製のために２リットルの回転式フラスコ中で増殖させることができる。上清を濾過し、濃縮した後、プロテインＡ－セファロース（Ｐｈａｒｍａｃｉａ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、Ｎ．Ｊ．）を用いる親和性クロマトグラフィーを行うことができる。溶出したＩｇＧをゲル電気泳動および高速液体クロマトグラフィーによりチェックし、純度を確保することができる。バッファー溶液をＰＢＳに交換し、１．４３の吸光係数を用いてOD_{280}により濃度を決定することができる。モノクローナル抗体をアリコートにし、－８

０℃で保存することができる。

【０２３３】

モノクローナル抗体を生成するトランスフェクトーマの作製

本開示の抗体を、例えば、当技術分野で周知である（例えば、Morrison, S. 1985, Science 229:1202）組換えＤＮＡ技術と遺伝子トランスフェクション法との組合せを用いて、宿主細胞トランスフェクトーマ中で生成することができる。

【０２３４】

例えば、抗体、またはその抗体断片を発現させるために、部分的または全長軽鎖および重鎖をコードするＤＮＡを、標準的な分子生物学または生化学技術（例えば、ＤＮＡ化学合成、ＰＣＲ増幅もしくは対象の抗体を発現するハイブリドーマを用いるｃＤＮＡクローニング）により取得し、遺伝子が転写および翻訳制御配列に作動可能に連結されるように、ＤＮＡを発現ベクター中に挿入することができる。この文脈において、用語「作動可能に連結された」は、ベクター内の転写および翻訳制御配列が抗体遺伝子の転写および翻訳を調節するその意図された機能を果たすように、抗体遺伝子がベクター中にライゲートされることを意味することが意図される。発現ベクターおよび発現制御配列は、用いられる発現宿主細胞と適合するように選択される。抗体軽鎖遺伝子および抗体重鎖遺伝子は、別のベクター中に挿入されるか、またはより典型的には、両遺伝子は同じ発現ベクター中に挿入される。抗体遺伝子は、標準的な方法（例えば、抗体遺伝子断片およびベクター上の相補的制限部位のライゲーション、または制限部位が存在しない場合は平滑末端ライゲーション）により発現ベクター中に挿入される。本明細書に記載の抗体の軽鎖および重鎖可変領域を用いて、V_Hセグメントがベクター内のC_Hセグメントに作動可能に連結され、V_Lセグメントがベクター内のC_Lセグメントに作動可能に連結されるように、所望のアイソタイプの重鎖定常および軽鎖定常領域を既にコードする発現ベクター中にそれらを挿入することにより、任意の抗体アイソタイプの全長抗体遺伝子を作出することができる。さらに、またはあるいは、組換え発現ベクターは、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を容易にする、リーダー配列とも呼ばれるシグナルペプチドをコードしてもよい。シグナルペプチドが抗体鎖遺伝子のアミノ末端にインフレームで連結されるように、抗体鎖遺伝子をベクター中にクローニングすることができる。シグナルペプチドは、免疫グロブリンシグナルペプチドまたは異種シグナルペプチド（すなわち、非免疫グロブリンタンパク質に由来するシグナルペプチド）であってもよい。そのようなシグナルペプチドの例は表７に見出され、シグナルペプチドをコードするポリヌクレオチド配列の例は表８に見出される。

【０２３５】

【表７】

表 7: 重鎖および軽鎖ペプチドのシグナルペプチド

シグナルペプチド	配列番号	重鎖または軽鎖ペプチドに用いられる
1	配列番号 59	重鎖
2	配列番号 60	軽鎖
3	配列番号 63	重鎖
4	配列番号 64	軽鎖
5	配列番号 67	重鎖
6	配列番号 68	軽鎖

【０２３６】

【表８】

表 8: シグナルペプチドをコードするポリヌクレオチド配列
(Polynucleotide sequences coding for the signal peptides)

ｼｸﾞﾅﾙﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ番号をｺｰﾄﾞする (Coding for signal peptide no.)	配列番号	重鎖または軽鎖のコードシグナルペプチド配列 (Coding signal peptide sequence for heavy or light chain)
1	配列番号 61	重鎖
2	配列番号 62	軽鎖
3	配列番号 65	重鎖
4	配列番号 66	軽鎖
5	配列番号 69	重鎖
6	配列番号 70	軽鎖

【０２３７】

抗体鎖遺伝子に加えて、本開示の組換え発現ベクターは、宿主細胞中での抗体鎖遺伝子の発現を制御する調節配列を担持する。用語「調節配列」は、抗体鎖遺伝子の転写または翻訳を制御するプロモーター、エンハンサーおよび他の発現制御エレメント（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含むことが意図される。そのような調節配列は、例えば、Goeddel 1990, Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CAに記載されている。当業者であれば、調節配列の選択などの発現ベクターの設計は、形質転換しようとする宿主細胞の選択、望まれるタンパク質の発現レベルなどの因子に依存してもよい。哺乳動物宿主細胞発現のための調節配列としては、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）、サルウイルス４０（ＳＶ４０）、アデノウイルス（例えば、アデノウイルス主要後期プロモーター（ＡｄＭＬＰ））、およびポリオーマから誘導されるプロモーターおよび／またはエンハンサーなどの、哺乳動物細胞中での高レベルのタンパク質発現を指令するウイルスエレメントが挙げられる。あるいは、ユビキチンプロモーターまたはＰ－グロビンプロモーターなどの、非ウイルス調節配列を用いてもよい。さらに、調節エレメントは、ＳＶ４０初期プロモーターおよびヒトＴ細胞白血病ウイルス１型の長い末端反復に由来する配列を含有する、ＳＲａプロモーター系などの、異なる起源に由来する配列を含む（Takebe, Y. et al. 1988, Mol. Cell. Biol. 8:466-472）。

【０２３８】

抗体鎖遺伝子および調節配列に加えて、本開示の組換え発現ベクターは、宿主細胞中でのベクターの複製を調節する配列（例えば、複製起点）および選択マーカー遺伝子などの、さらなる配列を担持してもよい。選択マーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞の選択を容易にする（例えば、米国特許第４，３９９，２１６号、第４，６３４，６６５号および第５，１７９，０１７号、全てＡｘｅｌら、を参照されたい）。例えば、典型的には、選択マーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞に対して、Ｇ４１８、ハイグロマイシンまたはメトトレキサートなどの薬物に対する耐性を付与する。選択マーカー遺伝子としては、ジヒドロ葉酸リダクターゼ（ＤＨＦＲ）遺伝子（メトトレキサート選択／増幅と共にｄｈｆｒ－宿主細胞中での使用のため）およびｎｅｏ遺伝子（Ｇ４１８選択のため）が挙げられる。

【０２３９】
軽鎖および重鎖の発現のために、標準的な技術を適用して、宿主細胞に重鎖および軽鎖をコードする発現ベクターをトランスフェクトした。様々な形態の用語「トランスフェクション」は、外因性ＤＮＡの原核または真核宿主細胞への導入のために一般的に用いられる様々な技術、例えば、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈降、ＤＥＡＥ－デキストラントランスフェクションなどを包含することが意図される。理論的には、原核または真核宿主細胞中で本開示の抗体を発現させることができる。真核細胞、例えば、哺乳動物宿主細胞、酵母または糸状菌中での抗体の発現は、適切に折畳まれ、免疫学的に活性な抗体を集合させ、分泌する可能性が原核細胞よりも高いため、そのような真核細胞、特に、哺乳動物細胞が考察される。

【０２４０】
１つの特定の実施形態においては、本開示によるクローニングまたは発現ベクターは、好適なプロモーター配列に作動可能に連結された、表３に由来するコード配列のいずれか少なくとも１つを含む。別の特定の実施形態においては、本開示によるクローニングまたは発現ベクターは、好適なプロモーター配列に作動可能に連結された、表４に由来するコード配列のいずれか少なくとも１つを含む。

【０２４１】
本開示の組換え抗体を発現させるための哺乳動物宿主細胞としては、チャイニーズハムスター卵巣細胞（ＣＨＯ細胞）（例えば、R.J. Kaufman and P.A. Sharp 1982, Mol. Biol. 159:601-621に記載のＤＨＦＲ選択マーカーと共に用いられる、Urlaub and Chasin 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220に記載されたｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞を含む）、ＣＨＯＫ１ｄｈｆｒ＋細胞系、ＮＳＯミエローマ細胞、ＣＯＳ細胞およびＳＰ２細胞が挙げられる。特に、ＮＳＯミエローマ細胞と共に使用するための、別の発現系は、ＰＣＴ公開ＷＯ８７／０４４６２、ＷＯ８９／０１０３６およびＥＰ０３３８８４１に示されたＧＳ遺伝子発現系である。一実施形態においては、本開示の組換え抗体を発現させるための哺乳動物宿主細胞としては、例えば、米国特許第６，９４６，２９２号に記載のような、ＦＵＴ８遺伝子発現について欠損した哺乳動物細胞系が挙げられる。

【０２４２】
抗体遺伝子をコードする組換え発現ベクターを哺乳動物宿主細胞中に導入する場合、宿主細胞中での抗体の発現または宿主細胞を増殖させる培養培地中への抗体の分泌を可能にするのに十分な時間にわたって宿主細胞を培養することにより、抗体を生成する。標準的なタンパク質精製方法を用いて、培養培地から抗体を回収することができる（例えば、Abhinav et al. 2007, Journal of Chromatography 848:28-37を参照されたい）。

【０２４３】
１つの特定の実施形態においては、本開示の宿主細胞は、好適なプロモーター配列に作動可能に連結された、それぞれ、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５の発現にとって好適な、配列番号１８、３１、５１、１９、２８、３２、３８、４０、４６、４８、５２、５６、および５８からなる群から選択されるコード配列を有する発現ベクターをトランスフェクトされた宿主細胞である。

【０２４４】
次いで、後者の宿主細胞を、それぞれ、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５からなる群から選択される本開示の抗体の発現および生成のための好適な条件下でさらに培養することができる。

【０２４５】
イムノコンジュゲート
別の態様において、本開示は、細胞毒素、薬物（例えば、免疫抑制剤）または放射性毒素などの活性または治療部分にコンジュゲートされた、本開示の抗ＩＬ－１７Ａ抗体、またはその断片を特徴とする。そのようなコンジュゲートを、本明細書では「イムノコンジュゲート」と呼ぶ。ＩＬ－１７ＡがＴｈ１７細胞の表面上に発現される場合、これは特に好ましい（Brucklacher-Waldert et al. 2009, J Immunol. 183:5494-501）。

【０２４６】
１つまたは複数の細胞毒素を含むイムノコンジュゲートは、「イムノトキシン」と呼ばれる。細胞毒素または細胞傷害剤は、細胞にとって有害である（例えば、殺傷する）任意の薬剤を含む。例としては、タキソン、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ｔ．コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンＤ、１－デヒドロテストステロン、糖質コルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、およびピューロマイシンならびにその類似体または相同体が挙げられる。また、治療剤としては、例えば、代謝拮抗剤（例えば、メトトレキサート、６－メルカプトプリン、６－チオグアニン、シタラビン、５－フルオロウラシルデカルバジン）、除去剤（ablating agent）（例えば、メクロレタミン、チオエパクロラムブシル（chloraxnbucil）、メルファラン（meiphalan）、カルムスチン（ＢＳＮＵ）およびロムスチン（ＣＣＮＵ）、シクロホスファミド（cyclothosphamide）、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンＣ、およびｃｉｓ－ジクロロジアミン白金（ＩＩ）（ＤＤＰ）シスプラチン、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン（以前はダウノマイシン）およびドキソルビシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（以前はアクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン（ＡＭＣ））、ならびに抗有糸分裂剤（例えば、ビンクリスチンおよびビンブラスチン）も挙げられる。

【０２４７】
本開示の抗体にコンジュゲートすることができる治療的細胞毒素の他の例としては、デュオカルマイシン、カリケアミシン、メイタンシンおよびオーリスタチン、ならびにその誘導体が挙げられる。カリケアミシン抗体コンジュゲートの例は、商業的に入手可能である（Ｍｙｌｏｔａｒｇ（商標）；Ｗｙｅｔｈ－Ａｙｅｒｓｔ）。

【０２４８】
当技術分野で利用可能なリンカー技術を用いて、細胞毒素を本開示の抗体にコンジュゲートすることができる。細胞毒素を抗体にコンジュゲートするために用いられてきたリンカー型の例としては、限定されるものではないが、ヒドラゾン、チオエーテル、エステル、ジスルフィドおよびペプチド含有リンカーが挙げられる。例えば、リソソーム区画内で低いｐＨによる切断を受けやすいか、またはカテプシン（例えば、カテプシンＢ、Ｃ、Ｄ）などの腫瘍組織中で選択的に発現されるプロテアーゼなどの、プロテアーゼによる切断を受けやすいリンカーを選択することができる。

【０２４９】
細胞毒素の型、リンカーおよび治療剤を抗体にコンジュゲートするための方法のさらなる考察については、Saito, G. et al. 2003, Adv. Drug Deliv. Rev. 55:199-215；Trail, P.A. et al. 2003, Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337；Payne, G. 2003, Cancer Cell 3:207-212；Allen, T.M. 2002, Nat. Rev. Cancer 2:750-763；Pastan, I. and Kreitman, R. J. 2002, Curr. Opin. Investig. Drugs 3:1089-1091；Senter, P.D. and Springer, C.J. 2001, Adv. Drug Deliv. Rev. 53:247-264も参照されたい。

【０２５０】
また、本開示の抗体を、放射性同位体にコンジュゲートして、ラジオイムノコンジュゲートとも呼ばれる、細胞傷害性放射性医薬品を作製することもできる。診断的または治療的に用いるために抗体にコンジュゲートすることができる放射性同位体の例としては、限定されるものではないが、ヨウ素^{131}、インジウム^{111}、イットリウム^{90}、およびルテチウム^{177}が挙げられる。ラジオイムノコンジュゲートを調製するための方法は、当技術分野で確立されている。ラジオイムノコンジュゲートの例は、Ｚｅｖａｌｉｎ（商標）（ＤＥＣ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）およびＢｅｘｘａｒ（商標）（Ｃｏｒｉｘａ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）などの、市販のものであり、同様の方法を用いて、本開示の抗体を用いてラジオイムノコンジュゲートを調製することができる。

【０２５１】

本開示の抗体コンジュゲートを用いて、所与の生物応答を改変することができるが、薬物部分は古典的化学療法剤に限定されると解釈されるべきではない。例えば、薬物部分は、所望の生物活性を有するタンパク質またはポリペプチドであってもよい。そのようなタンパク質としては、例えば、酵素的に活性な毒素、またはその活性断片、例えば、アブリン、リシンＡ、シュードモナス外毒素、またはジフテリア毒素；腫瘍壊死因子もしくはインターフェロン－γなどのタンパク質；または、例えば、リンホカイン、インターロイキン－１（「ＩＬ１」）、インターロイキン－２（「ＩＬ２」）、インターロイキン－６（「ＩＬ６」）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（「ＧＭ－ＣＳＦ」）、顆粒球コロニー刺激因子（「Ｇ－ＣＳＦ」）、もしくは他の増殖因子などの、生物応答改変剤が挙げられる。

【０２５２】

抗体にそのような治療部分をコンジュゲートするための技術は周知であり、例えば、Amon et al.1985, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56; Hellstrom et at. 1987, "Antibodies For Drug Delivery", in Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 ; Thorpe 1985, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", in Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506; Thorpe et al. 1982, Immunol. Rev., 62:119-58を参照されたい。

【０２５３】

二特異的分子

別の態様において、本開示は、本開示の抗ＩＬ－１７Ａ／ＡＦ抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質を含む二特異的または多特異的分子を特徴とする。本開示の抗体またはタンパク質を、別の機能的分子、例えば、別のペプチドまたはタンパク質（例えば、別の抗体または受容体のリガンド）に誘導体化または連結して、少なくとも２つの異なる結合部位または標的分子に結合する二特異的分子を作製することができる。本開示の抗体またはタンパク質は事実、１つより多い他の機能的分子に誘導体化または連結して、２つより多い異なる結合部位および／または標的分子に結合する多特異的分子を作製することができる；そのような多特異的分子も、本明細書で用いられる用語「二特異的分子」により包含されることが意図される。本開示の二特異的分子を作出するために、本開示の抗体またはタンパク質を、二特異的分子が得られる別の抗体、抗体断片、ペプチドまたは結合模倣物質などの、１つまたは複数の他の結合分子に機能的に連結することができる（例えば、化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合その他による）。

【０２５４】

したがって、本開示は、ＩＬ－１７Ａ、例えば、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５のいずれか１つの、１つの抗原結合部分に対する少なくとも１つの第１の結合特異性と、第２の標的エピトープに対する第２の結合特異性とを含む二特異的分子を含む。例えば、第２の標的エピトープは、第１の標的エピトープとは異なるＩＬ－１７Ａの別のエピトープである。別の例は、ＩＬ－１７Ａ、例えば、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５のいずれか１つの、１つの抗原結合部分に対する少なくとも１つの第１の結合特異性と、ＩＬ－１７Ａ内または別の標的抗原内の他の場所のエピトープに対する第２の結合特異性とを含む二特異的分子である。

【０２５５】

さらに、二特異的分子が多特異的である本開示について、前記分子は、第１および第２の標的エピトープに加えて、第３の結合特異性をさらに含んでもよい。

【０２５６】

一実施形態においては、本開示の二特異的分子は、結合特異性として、例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、または一本鎖Ｆｖを含む、少なくとも１つの抗体、またはその抗体断片を含む。抗体はまた、軽鎖もしくは重鎖二量体、またはＦｖもしくはＬａｄｎｅｒらの米国特許第４，９４６，７７８号に記載の単一鎖構築物などの任意のそ

の最小断片であってもよい。

【０２５７】

本開示の二特異的分子中で用いることができる他の抗体は、マウス、キメラおよびヒト化モノクローナル抗体である。

【０２５８】

本開示の二特異的分子を、当技術分野で公知の方法を用いて、構成結合特異性をコンジュゲートすることにより調製することができる。例えば、二特異的分子のそれぞれの結合特異性を別々に作製した後、互いにコンジュゲートすることができる。結合特異性がタンパク質またはペプチドである場合、様々なカップリング剤または架橋剤を共有的コンジュゲーションのために用いることができる。架橋剤の例としては、プロテインＡ、カルボジイミド、Ｎ－スクシンイミジル－Ｓ－アセチル－チオアセテート（ＳＡＴＡ）、５，５’－ジチオビス（２－ニトロ安息香酸）（ＤＴＮＢ）、ｏ－フェニレンジマレイミド（ｏＰＤＭ）、Ｎ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオ）プロピオン酸（ＳＰＤＰ）、およびスルホスクシンイミジル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（スルホ－ＳＭＣＣ）が挙げられる（例えば、Karpovsky et al. 1984, J. Exp. Med. 160:1686; Liu, MA et al. 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:8648を参照されたい）。他の方法としては、Paulus 1985, Behring Ins. Mitt. No. 78,118-132; Brennan et al. 1985, Science 229:81-83、およびGlennie et al. 1987, J. Immunol. 139: 2367-2375に記載のものが挙げられる。コンジュゲート剤はＳＡＴＡおよびスルホ－ＳＭＣＣであり、両方ともＰｉｅｒｃｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏ.（Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、ＩＬ）から入手可能である。

【０２５９】

結合特異性が抗体である場合、それらを２つの重鎖のＣ末端ヒンジ領域のスルフヒドリル結合によりコンジュゲートすることができる。特定の実施形態においては、ヒンジ領域を改変して、コンジュゲーションの前に、奇数の、例えば、１のスルフヒドリル残基を含有させる。

【０２６０】

あるいは、両方の結合特異性を、同じベクター中にコードさせ、同じ宿主細胞中で発現および集合（アセンブリ）させることができる。この方法は、二特異的分子がｍＡｂ ｘ ｍＡｂ、ｍＡｂ ｘ Ｆａｂ、Ｆａｂ ｘ Ｆ（ａｂ’）$_2$またはリガンドｘ Ｆａｂ融合タンパク質である場合に特に有用である。本開示の二特異的分子は、１つの一本鎖抗体と結合決定基とを含む一本鎖分子、または２つの結合決定基を含む一本鎖二特異的分子であってもよい。二特異的分子は、少なくとも２つの一本鎖分子を含んでもよい。二特異的分子を調製するための方法は、例えば、米国特許第５，２６０，２０３号；米国特許第５，４５５，０３０号；米国特許第４，８８１，１７５号；米国特許第５，１３２，４０５号；米国特許第５，０９１，５１３号；米国特許第５，４７６，７８６号；米国特許第５，０１３，６５３号；米国特許第５，２５８，４９８号；および米国特許第５，４８２，８５８号に記載されている。

【０２６１】

二特異的分子のその特異的標的への結合を、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、ラジオイムノアッセイ（ＲＥＡ）、ＦＡＣＳ分析、バイオアッセイ（例えば、増殖阻害）、またはウェスタンブロットアッセイにより確認することができる。これらのアッセイはそれぞれ、一般には、特定の対象のタンパク質－抗体複合体の存在を、対象の複合体に特異的な標識された試薬（例えば、抗体）を用いることにより検出する。

【０２６２】

多価抗体

別の態様において、本開示は、例えば、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５のいずれか１つの抗原結合部分から選択される、ＩＬ－１７Ａに結合する本開示の抗体の少なくとも２つの同一のまたは異なる抗原結合部分を含む多価抗体を提供する。一実施形態においては、多価抗体は、抗体の少なくとも２、３または４つの抗原結合部

分を提供する。抗原結合部分を、タンパク質融合により、または共有もしくは非共有連結により一緒に連結することができる。あるいは、連結方法は、二特異的分子について記載されている。例えば、本開示の抗体を、本開示の抗体の定常領域、例えば、Ｆｃまたはヒンジ領域に結合する抗体と架橋することにより、四価化合物を取得することができる。

【０２６３】

医薬組成物

別の態様において、本開示は、医薬的に許容される担体と一緒に製剤化された（formulated）、本開示の抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質の１つまたは組合せ、例えば、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５からなる群から選択される１つの抗体を含有する、組成物、例えば、医薬組成物を提供する。そのような組成物は、１つもしくは組合せの（例えば、２つ以上の異なる）本開示の抗体、またはイムノコンジュゲートもしくは二特異的分子を含んでもよい。例えば、本開示の医薬組成物は、標的抗原上の異なるエピトープに結合するか、または相補的活性を有する抗体またはタンパク質の組合せを含んでもよい。

【０２６４】

本開示の医薬組成物はまた、組合せ療法において、すなわち、他の薬剤と組み合わせて投与することもできる。例えば、組合せ療法は、少なくとも１つの他の抗炎症剤または別の化学療法剤、例えば、免疫抑制剤と組み合わせた、本開示の抗ＩＬ－１７Ａ抗体またはタンパク質、例えば、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５からなる群から選択される１つの抗体を含んでもよい。組合せ療法において用いることができる治療剤の例は、本開示の抗体またはタンパク質の使用に関する以下のセクションにより詳細に記載される。

【０２６５】

本明細書で用いられる場合、「医薬的に許容される担体」は、生理的に適合する任意かつ全ての溶媒、分散媒体、コーティング、抗細菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などを含む。担体は、静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄または表皮投与（例えば、注射または輸注による）に好適であるべきである。一実施形態においては、担体は、皮下経路に好適であるべきである。投与経路に応じて、活性化合物、すなわち、抗体、イムノコンジュゲート、または二特異的分子を材料中で被覆して、酸の作用および化合物を不活化し得る他の自然条件から化合物を保護することができる。

【０２６６】

本開示の医薬組成物は、１つまたは複数の医薬的に許容される塩を含んでもよい。「医薬的に許容される塩」とは、親化合物の所望の生物活性を保持し、任意の望ましくない毒性効果に影響しない塩を指す（例えば、Berge, S.M., et al. 1977, J. Pharm. Sci. 66: 1-19を参照されたい）。そのような塩の例としては、酸付加塩および塩基付加塩が挙げられる。酸付加塩としては、塩酸、硝酸、リン酸、硫酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、亜リン酸などの非毒性無機酸、ならびに脂肪族モノ－およびジ－カルボン酸、フェニル置換アルカン酸、ヒドロキシアルカン酸、芳香族酸、脂肪族および芳香族スルホン酸などの非毒性有機酸から誘導されるものが挙げられる。塩基付加塩としては、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムなどのアルカリ土類金属、ならびにＮ，Ｎ’－ジベンジルエチレンジアミン、Ｎ－メチルグルカミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、プロカインなどの非毒性有機アミンから誘導されるものが挙げられる。

【０２６７】

本開示の医薬組成物はまた、医薬的に許容される酸化防止剤を含んでもよい。医薬的に許容される酸化防止剤の例としては、アスコルビン酸、塩酸システイン、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウムなどの水溶性酸化防止剤；パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール（ＢＨＡ）、ブチル化ヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、レシチン、没食子酸プロピル、アルファ－トコフェロールなどの油溶性酸化防止剤；およびクエン酸、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）、ソルビトール、酒

石酸、リン酸などの金属キレート剤が挙げられる。

【０２６８】

本開示の医薬組成物中で用いることができる好適な水性および非水性担体の例としては、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、およびその好適な混合物、オリーブ油などの植物油、ならびにオレイン酸エチルなどの注入可能な有機エステルが挙げられる。例えば、レシチンなどのコーティング材料の使用により、分散物の場合は必要な粒径の維持により、および界面活性剤の使用により、適切な流動性を維持することができる。

【０２６９】

これらの組成物はまた、保存剤、湿潤剤、乳化剤および分散剤などのアジュバントを含有してもよい。滅菌手順と、様々な抗細菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノールソルビン酸などの含有との両方により、微生物の存在の防止を確保することができる。また、糖、塩化ナトリウムなどの等張剤を組成物中に含有させることも望ましい場合がある。さらに、注射可能な医薬形態の吸収の延長を、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンなどの吸収を遅延させる薬剤の含有によりもたらすことができる。

【０２７０】

医薬的に許容される担体は、滅菌注射溶液または分散物の即興の調製のための滅菌水溶液または分散物および滅菌粉末を含む。医薬的に活性な物質のためのそのような媒体および薬剤の使用は、当技術分野で公知である。従来の媒体または薬剤が活性化合物と適合しない場合を除いて、本開示の医薬組成物におけるその使用が企図される。また、追加活性化合物を組成物中に含有させることもできる。

【０２７１】

治療組成物は、典型的には、製造および保存の条件下で無菌かつ安定でなければならない。組成物を、溶液、マイクロエマルジョン、リポソーム、または高い薬物濃度にとって好適な他の規則的構造（ordered structure）として製剤化することができる。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）、およびその好適な混合物を含有する、溶媒または分散媒体であってもよい。例えば、レシチンなどのコーティングの使用により、分散物の場合は必要な粒径の維持により、および界面活性剤の使用により、適切な流動性を維持することができる。多くの場合、当業者は、等張剤、例えば、糖、マンニトール、ソルビトールなどのポリアルコール、または塩化ナトリウムを組成物中に含有させることができる。吸収を遅延させる薬剤、例えば、モノステアリン酸塩およびゼラチンを組成物中に含有させることにより、注射可能な組成物の吸収の延長をもたらすことができる。

【０２７２】

安定なタンパク質（例えば、抗体）製剤の開発に関する概説は、Cleland et al. 1993, Crit. Reviews. Ther. Drug Carrier Systems 10(4):307-377およびWei Wang 1999, Int. J. Pharmaceutcs 185:129-88に見出すことができる。抗体に関するさらなる製剤の考察は、例えば、Daugherty and Mrsny 2006, Advanced Drug Delivery Reviews 58: 686-706；米国特許第６，１７１，５８６号、第４，６１８，４８６号、米国特許出願公開第２００６０２８６１０３号、ＰＣＴ公開ＷＯ　０６／０４４９０８、ＷＯ０７／０９５３３７、ＷＯ０４／０１６２８６、Colandene et al. 2007, J. Pharm. Sci 96: 1598-1608；Schulman 2001, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 164:S6-S11および他の公知の参考文献に見出すことができる。

【０２７３】

皮内または皮下適用のために用いられる溶液または懸濁液は、典型的には、以下の成分：注射用水、塩水溶液（saline solution）、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒などの滅菌希釈剤、ベンジルアルコールまたはメチルパラベンなどの抗細菌剤、アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムなどの酸化防止剤、エチレンジアミン四酢酸などのキレート剤、酢酸塩、クエン酸塩またはリ

ン酸塩などのバッファー、および塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの等張性の調整のための薬剤のうちの１つまたは複数を含む。塩酸または水酸化ナトリウムなどの、酸または塩基を用いてｐＨを調整することができる。そのような調製物を、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射筒または複数用量バイアル中に封入することができる。

【０２７４】

適切な溶媒中に必要な量の活性化合物を、必要に応じて上記で列挙された成分の１つまたは組合せと共に含有させた後、滅菌マイクロ濾過を行うことにより、滅菌注射溶液を調製することができる。一般的には、分散物は、本開示の抗体またはタンパク質を、基本分散媒体と、上記で列挙されたものに由来する必要な他の成分とを含有する滅菌ビヒクル中に含有させることにより調製される。滅菌注射溶液の調製のための滅菌粉末の場合、調製方法は、活性成分の粉末と、予め滅菌濾過されたその溶液に由来する任意のさらなる所望の成分とをもたらす減圧乾燥および凍結（フリーズ）－乾燥（凍結乾燥）である。

【０２７５】

１つの特定の実施形態においては、抗体ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＢＡ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５を、バイアル中の液体製剤として投与した。バイアルあたりの薬物の量は、１５０ｍｇであった。液体は、１５０ｍｇ／ｍＬの抗体、４．８ｍＭのＬ－ヒスチジン、１５．２ｍＭのＬ－ヒスチジン－ＨＣｌ、２２０ｍＭのスクロースおよび０．０４％のポリソルベート２０、ｐＨ６．０±０．５を含有していた。２０％の過剰充填（overfill）を添加して、意図される用量の完全な取り出しを可能にした。

【０２７６】

単一剤形（single dosage form）を生成するために担体材料と組み合わせることができる活性成分の量は、処置される対象、および特定の投与様式に応じて変化する。単一剤形を生成するために担体材料と組み合わせることができる活性成分の量は、一般的には、治療効果をもたらす組成物の量である。一般に、１００％のうち、この量は、医薬的に許容される担体と組み合わせた、約０．０１％～約９９％の活性成分、約０．１％～約７０％、または約１％～約３０％の活性成分である。

【０２７７】

投薬レジメン（dosage regimen）は、最適な所望の応答（例えば、治療応答）を提供するように調整される。例えば、単一ボーラスを投与し、数回に分割された用量を経時的に投与するか、または治療状況の要件によって示されるように用量を比例的に減少もしくは増加させることができる。投与の容易性および投薬の均一性のために、単位剤形（dosage unit form）中に非経口組成物を製剤化することが特に有利である。本明細書で用いられる単位剤形とは、処置される対象のために単一の投薬として適合させた物理的に個別の単位を指す；各単位は、必要とされる医薬的担体と共に、所望の治療効果をもたらすように算出された所定量の活性化合物を含有する。本開示の単位剤形に関する明細は、活性化合物の独特の特徴および達成しようとする特定の治療効果、個体における感受性の処置のためのそのような活性化合物を組み合わせる際の当技術分野において固有の制限によって決定され、それに直接依存する。

【０２７８】

抗体またはタンパク質の投与のために、投薬範囲は、宿主体重の５、１５および５０ｍｇ／ｋｇ皮下投与、より通常は０．０１～５ｍｇ／ｋｇなどの約０．０００１～１５０ｍｇ／ｋｇである。例えば、投薬量（dosage）は、０．３ｍｇ／ｋｇ体重、１ｍｇ／ｋｇ体重、３ｍｇ／ｋｇ体重、５ｍｇ／ｋｇ体重または１０ｍｇ／ｋｇ体重または１～１０ｍｇ／ｋｇの範囲内であってもよい。例示的な処置レジメンは、週１回、２週間毎に１回、３週間毎に１回、４週間毎に１回、月１回、３カ月毎に１回または３～６カ月毎に１回の投与を必要とする。本開示の抗ＩＬ－１７Ａ抗体またはタンパク質のための投薬レジメンは、静脈内投与による１ｍｇ／ｋｇ体重、３ｍｇ／ｋｇ体重、５ｍｇ／ｋｇ、１０ｍｇ／ｋｇ、２０ｍｇ／ｋｇまたは３０ｍｇ／ｋｇを含み、抗体は以下の投与スケジュール（dosing schedule）の１つ：６つの投薬について４週間毎、次いで、３カ月毎；３週間毎；３

ｍｇ／ｋｇ体重で１回、次いで、１ｍｇ／ｋｇ体重で３週間毎を用いて与えられる。

【０２７９】

いくつかの方法においては、異なる結合特異性を有する２つ以上の抗体が同時に投与され、その場合、投与される各抗体の投薬量は指示される範囲内にある。本開示の抗体またはタンパク質は通常、複数の機会に投与される。単一投薬間の間隔は、例えば、毎週、毎月、３カ月毎または毎年であってもよい。また、間隔は患者における標的抗原に対する抗体の血中レベルを測定することにより示される通り、不規則であってもよい。いくつかの方法においては、投薬量は、約１～１０００μｇ／ｍｌおよびいくつかの方法においては約２５～３００μｇ／ｍｌの血漿抗体濃度を達成するように調整される。

【０２８０】

あるいは、抗体またはタンパク質を、持続放出製剤として投与することができ、この場合、低頻度の投与が必要とされる。投薬量および頻度は、患者における抗体の半減期に応じて変化する。一般に、ヒト抗体が、最長の半減期を示し、次いで、ヒト化抗体、キメラ抗体、および非ヒト抗体である。投与の投薬量および頻度は、処置が予防的であるか、または治療的であるかどうかに応じて変化してもよい。予防的適用においては、比較的低い投薬量が比較的頻繁でない間隔で、長期間にわたって投与される。いくらかの患者は、その余生にわたって処置を受け続ける。治療的適用においては、比較的短い間隔での比較的高い投薬量が、疾患の進行が低下もしくは終結するまで、または患者が疾患症状の部分的もしくは完全な改善を示すまで必要となることもある。その後、患者を予防的レジメで投与することができる。

【０２８１】

本開示の医薬組成物中の活性成分の実際の投薬量レベルは、患者に対して毒性であることなく、特定の患者、組成物、および投与様式に関する所望の治療応答を達成するのに有効である、活性成分の量を取得するために変化させることができる。選択される投薬量レベルは、用いられる本開示の特定の組成物、またはそのエステル、塩もしくはアミド、投与経路、投与時間、用いられる特定の化合物の排出速度、処置の持続期間、用いられる特定の組成物と組み合わせて用いられる他の薬物、化合物および／または材料、処置される患者の年齢、性別、体重、状態、一般的健康および以前の病歴、ならびに医学界で周知の同様の因子などの、様々な薬物動態因子に依存する。

【０２８２】

本開示の抗ＩＬ－１７Ａ抗体またはタンパク質の「治療上有効な投薬量（therapeutically effective dosage）」は、疾患症状の重症度の低下、無疾患症状期間の頻度および持続期間の増加、または疾患の苦痛に起因する悪化もしくは障害の防止をもたらし得る。

【０２８３】

本開示の組成物は、当技術分野で公知の様々な方法の１つまたは複数を用いて１つまたは複数の投与経路によって投与することができる。当業者には明らかであるように、投与の経路および／または様式は、所望の結果に応じて変化する。本開示の抗体のための投与経路としては、例えば、注射または輸注による、静脈内、筋肉内、皮内、腹腔内、皮下、脊髄または他の非経口投与経路が挙げられる。本明細書で用いられる語句「非経口投与」は、通常は注射による、腸内および局所投与以外の投与様式を意味し、限定されるものではないが、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内（intrathecal）、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内（intraspinal）、硬膜外および胸骨内（intrastemal）注射および輸注が挙げられる。

【０２８４】

あるいは、本開示の抗体またはタンパク質を、局所、表皮または粘膜投与経路、例えば、鼻内、経口、経膣、直腸、舌下または局所などの非経口経路により投与することができる。

【０２８５】

本開示の抗体またはタンパク質を、埋込み体（インプラント）、経皮パッチ、およびマイクロカプセル送達系などの、制御放出製剤などの、迅速な放出に対して抗体を保護する

担体を用いて調製することができる。エチレン酢酸ビニル、ポリアンヒドリド、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸などの、生分解性、生体適合性ポリマーを用いることができる。そのような製剤の調製のための多くの方法が特許されているか、または当業者には一般に公知である。例えば、Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978を参照されたい。

【０２８６】

治療組成物を、当技術分野で公知の医学的デバイスを用いて投与することができる。例えば、一実施形態においては、本開示の治療組成物を、米国特許第５，３９９，１６３号；第５，３８３，８５１号；第５，３１２，３３５号；第５，０６４，４１３号；第４，９４１，８８０号；第４，７９０，８２４号または第４，５９６，５５６号に示されたデバイスなどの、針のない皮下注射デバイスを用いて投与することができる。本開示において有用な周知の埋込み体およびモジュールの例としては、制御された速度で薬剤（medication）を分注するための埋込み可能なマイクロ注入ポンプを示す米国特許第４，４８７，６０３号；皮膚を介して薬剤を投与するための治療デバイスを示す米国特許第４，４８６，１９４号；正確な注入速度で薬剤を送達するための薬剤注入ポンプを示す米国特許第４，４４７，２３３号；連続的薬物送達のための可変流埋込み可能注入装置を示す米国特許第４，４４７，２２４号；マルチチャンバ区画を有する浸透圧薬物送達系を示す米国特許第４，４３９，１９６号；および浸透圧薬物送達系を示す米国特許第４，４７５，１９６号が挙げられる。他の多くのそのような埋込み体、送達系、およびモジュールが、当業者には公知である。

【０２８７】

ある特定の実施形態においては、本開示の抗体またはタンパク質を、ｉｎ　ｖｉｖｏでの適切な分布を確保するために製剤化することができる。例えば、血液脳関門（ＢＢＢ）は、多くの高親水性化合物を排除する。本開示の治療化合物がＢＢＢを通過するのを確保するために（必要に応じて）、例えば、リポソーム中でそれらを製剤化することができる。リポソームを製造する方法については、例えば、米国特許第４，５２２，８１１号；第５，３７４，５４８号；および第５，３９９，３３１号を参照されたい。リポソームは、特定の細胞または器官に選択的に輸送され、かくして、標的化された薬物送達を増強する１つまたは複数の部分を含んでもよい（例えば、V.V. Ranade 1989, J. Cline Pharmacol. 29:685を参照されたい）。例示的標的化部分としては、葉酸またはビオチン（例えば、Ｌｏｗらの米国特許第５，４１６，０１６号を参照されたい）；マンノシド（Umezawa et al. 1988, Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038）；抗体（P.G. Bloeman et al. 1995, FEBS Lett. 357:140; M. Owais et al. 1995, Antimicrob. Agents Chernother. 39:180）；界面活性剤プロテインＡ受容体（Briscoe et al. 1995, Am. J. Physiol.1233:134）；ｐ１２０（Schreier et al. 1994, J. Biol. Chem. 269:9090）が挙げられる；また、Keinanen and Laukkanen 1994, FEBS Lett. 346:123；Killion and Fidler 1994, Immunomethods 4:273も参照されたい。

【０２８８】

本開示の使用および方法

本開示の抗体またはタンパク質は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏでの診断的および治療的有用性を有する。例えば、これらの分子を、培養物中、例えば、ｉｎ　ｖｉｔｒｏもしくはｉｎ　ｖｉｖｏで、または対象中、例えば、ｉｎ　ｖｉｖｏで細胞に投与して、様々な障害を処置、防止または診断することができる。

【０２８９】

方法は、ＩＬ－１７Ａと関連する障害および／または自己免疫性および炎症性障害、例えば、関節リウマチ、または乾癬を処置、防止または診断するのに特に好適である。

【０２９０】

特に、本開示は、ＩＬ－１７Ａと関連する障害および／または自己免疫性および炎症性障害を処置する方法を提供する。ある特定の実施形態においては、方法は、本開示による

、単離された抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質を、それを必要とする対象に投与するステップを含む。

【０２９１】

本開示はまた、細胞を、治療上有効用量（therapeutically effective dose）の本開示の抗体を含む組成物と接触させることによって、標的細胞または組織中でのＩＬ－１７ＡまたはＩＬ－１７ＡＦにより誘導されるシグナリング応答を低下させるか、または抑制するための方法も提供する。

【０２９２】

本開示はまた、細胞を、本開示による抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質などの抗原結合断片と接触させるステップを含む、細胞中のＩＬ６、ＣＸＣＬ１、ＩＬ－８、ＧＭ－ＣＳＦおよび／またはＣＣＬ２のレベルを低下させるための方法も提供する。

【０２９３】

本明細書において、語句「ＩＬ－１７Ａ／ＡＦ媒介性疾患」または「ＩＬ－１７Ａ／ＡＦ関連障害」は、直接的または間接的であっても、疾患または状態の原因、発生、進行、持続性または病理を含む疾患または医学的状態において、ＩＬ－１７ＡまたはＩＬ－１７ＡＦが役割を果たす全ての疾患および医学的状態を包含する。したがって、これらの用語は、異常なＩＬ－１７Ａ／ＡＦレベルと関連するか、もしくはそれを特徴とする状態および／または標的細胞もしくは組織中のＩＬ－１７Ａ／ＡＦにより誘導される活性、例えば、ＩＬ－６もしくはＧＲＯ－アルファの生成を低下させるか、もしくは抑制することによって処置することができる疾患もしくは状態を含む。これらのものは、関節炎、関節リウマチ、または乾癬などの、炎症状態および自己免疫疾患を含む。これらのものは、アレルギーおよびアレルギー状態、過敏性反応、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症および臓器または組織移植拒絶をさらに含む。

【０２９４】

例えば、本開示の抗体またはタンパク質を、同種移植拒絶または異種移植拒絶を含む、心臓、肺、混合心肺、肝臓、腎臓、膵臓、皮膚または角膜移植のレシピエントの処置のために、ならびに骨髄移植後などの移植片対宿主疾患および臓器移植関連動脈硬化症の防止のために用いることができる。

【０２９５】

本開示の抗体またはタンパク質は、限定されるものではないが、自己免疫疾患および炎症状態、特に、関節炎（例えば、関節リウマチ、進行性慢性関節炎および変形性関節炎）および骨量減少、炎症性疼痛、強直性脊椎炎を含む脊椎関節症、ライター症候群、反応性関節炎、乾癬性関節炎、若年性特発性関節炎および腸炎性関節炎を含む炎症状態およびリウマチ疾患を含むリウマチ疾患、腱付着部炎、過敏症（気道過敏症と皮膚過敏症の両方を含む）ならびにアレルギーなどの自己免疫成分を含む病因を有する炎症状態の処置、防止または改善にとって有用である。本開示の抗体を用いることができる特定の自己免疫疾患としては、自己免疫性血液障害（例えば、溶血性貧血、再生不良性貧血、赤芽球癆および特発性血小板減少症など）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、ループス腎炎、炎症性筋疾患（皮膚筋炎）、歯周炎、多発性軟骨炎、強皮症、ウェゲナー肉芽腫症、皮膚筋炎、慢性活動性肝炎、重症筋無力症、乾癬、スティーブンス・ジョンソン症候群、特発性スプルー、自己免疫性炎症性腸疾患（例えば、潰瘍性大腸炎、クローン病および過敏性腸症候群など）、内分泌眼病、グレーブス病、サルコイドーシス、多発性硬化症、全身性硬化症、線維症、原発性胆汁性肝硬変、若年性糖尿病（Ｉ型糖尿病）、ブドウ膜炎、乾性角結膜炎および春季カタル、間質性肺線維症、プロテーゼ周囲骨溶解、糸球体腎炎（ネフローゼ症候群、例えば、特発性ネフローゼ症候群または微小変化ネフローゼ症候群を含む、および含まない）、多発性ミエローマ、他の型の腫瘍、皮膚および角膜の炎症疾患、筋炎、骨埋込み体の緩み、代謝障害（肥満、アテローム性動脈硬化症および拡張型心筋症などの他の心血管疾患、心筋炎、ＩＩ型糖尿病、および脂質異常症など）、および自己免疫性甲状腺疾患（橋本甲状腺炎など）、小血管および中血管原発性血管炎、巨細胞性動脈炎を含む大血管血管炎、汗腺膿瘍、視神経脊髄炎、シェーグレン症候群、ベーチェット病、アトピ

ー性および接触性皮膚炎、細気管支炎、炎症性筋疾患、自己免疫性末梢性ニューロパシー、免疫性腎疾患、肝疾患および甲状腺疾患、炎症およびアテローム血栓症、自己炎症性熱症候群、免疫血液障害、ならびに皮膚および粘膜の水疱性疾患が挙げられる。解剖学的には、ブドウ膜炎は、前部ブドウ膜炎、中間部ブドウ膜炎、後部ブドウ膜炎、または全ブドウ膜炎であってもよい。それは慢性または急性であってもよい。ブドウ膜炎の病因は、全身性疾患と関連する自己免疫性もしくは非感染性、感染性、または白点症候群であってもよい。

【０２９６】

また、本開示の抗体またはタンパク質は、喘息、気管支炎、細気管支炎、特発性間質性肺炎、じん肺症、肺気腫、およびその他の気道の閉塞性または炎症性疾患の処置、防止、または改善にとっても有用であってよい。

【０２９７】

また、本開示の抗体またはタンパク質は、変形性関節症、骨粗鬆症および他の炎症性関節炎、ならびに加齢に伴う骨量減少、特に、歯周病などの一般的な骨量減少を含む骨代謝の疾患を処置するのに有用であってもよい。

【０２９８】

さらに、本開示の抗体またはタンパク質はまた、慢性カンジダ症および他の慢性真菌症を処置するのに有用であってもよく、ならびに寄生虫による感染の合併症、および喫煙の合併症、ならびにウイルス感染およびウイルス感染の合併症は有望な処置手段と考えられる。

【０２９９】

ＩＬ－１７およびその受容体の阻害は、慢性炎症性疾患の処置のための最も有望な新しい作用様式（ＭＯＡ）であり、乾癬が、ＩＬ－１７モジュレーター薬物開発のために現在研究されているいくつかの疾患のうち、最も進んだ適応症である（Miossec P and Kolls JK. 2012, Nat Rev Drug Discov.10:763-76）。いくつかの研究により、中程度から重度の尋常性乾癬を有する患者におけるＩＬ－１７Ａの遮断が短期間で安全であり、非常に顕著な改善を誘導することが一義的に証明された（例えば、Hueber W, Patel DD, Dryja T, et al 2010, Sci Transl Med. ;2:52ra72）。これらの知見は、予想を超えるものであり、ＩＬ－１７Ａが乾癬の発症における鍵となるシグナリング分子であるという仮説を確認するものであった（Garber K. 2012,Nat Biotechnology 30:475-477）。

【０３００】

さらに、最も一般的な多発性硬化症（ＭＳ）モデル実験的自己免疫性脳脊髄炎を含むいくつかの動物モデルにおいて、ＩＬ－１７は炎症プロセスにおいて中枢的なものである（Bettelli E, et al 2008, Nature; 453:1051-57, Wang HH, et al 2011, J Clin Neurosci; 18(10):1313-7, Matsushita T, et al 2013, PLoS One; 8(4):e64835）。ＩＬ－１７の効果は主に炎症促進性であり、他のサイトカインと相乗作用する。上皮細胞によるケモカイン生成の誘導、マクロファージにおけるインターロイキン（ＩＬ）－１ｂ、腫瘍壊死因子アルファ（ＴＮＦａ）およびマトリックスメタロプロテイナーゼ（ＭＭＰ）－９の上方調節、ならびにＩＬ６、ＩＬ－８およびプロスタグランジンＥ２の分泌の誘導などのＩＬ－１７の効果は、ＭＳ病理の多くの態様と良好に適合する。また、マウスにおけるトランスジェニック過剰発現モデルを含む、神経炎症におけるＩＬ－１７の中枢的役割に反論するデータもある（Haak S et al 2009, JCI; 119:61-69）。

【０３０１】

喘息は、気道閉塞の症状により臨床的に示される気道の異質性炎症疾患（heterogeneous inflammatory disease）であり、自発的に、または処置に応答して重症度が変化する。喘息は２型ヘルパーＴ細胞（Ｔｈ２）およびその生成物により誘導されると考えられるが、最近のデータにより、Ｔｈ２の高い遺伝子特性は喘息を有する対象の約５０％のみの気道に存在することが示唆されている（Woodruff PG et al 2009, Am J Respir Crit Care Med 180:388-95）。好中球炎症は急性重症喘息において優勢である；喘息を有するいくらかの個体は顕著な喀痰好中球増加症および吸入ステロイドに対する弱い臨床応答を示す；

ならびに喀痰好中球増加症は、高用量の吸入および／または経口ステロイドを摂取する喘息個体において顕著である（Wenzel 2012, Nature Med 18:716-25）。

【０３０２】

喘息の重症度と相関するＩＬ－１７Ａのレベルの増加が、健康な対照と比較して喘息を有する個体の循環および気道中で報告されている。アレルギー性肺炎症のマウスモデルにおける前臨床試験は、好中球性気道炎症およびステロイド耐性気道過敏性におけるＩＬ－１７Ａおよびその受容体（ＩＬ－１７ＲＡ）に関する要件を包含していた。かくして、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでのＩＬ－１７Ａの特性、喘息における量の増加の存在、および疾患の前臨床モデルは、ステロイドに対してあまり応答しない好中球および／または低Ｔｈ２型の疾患におけるＩＬ－１７Ａの役割を支援する（Cosmi L et al 2009, Am J Respir Crit Care Med 180:388-95）。

【０３０３】

かくして、以下の状態一覧は、本開示による抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質を用いる処置のための特に好ましい標的を含む：多発性硬化症、乾癬、喘息、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、およびループス腎炎。

【０３０４】

本開示の抗体またはタンパク質を、唯一の活性成分として、または例えば、上記の疾患の処置または防止のために、他の薬物、例えば、免疫抑制剤もしくは免疫調節剤または他の抗炎症剤または他の細胞傷害剤もしくは抗がん剤と一緒に、例えば、それに対するアジュバントとして、またはそれと組み合わせて投与することができる。例えば、本開示の抗体を、ＤＭＡＲＤ、例えば、金塩、スルファサラジン、抗マラリア剤、メトトレキサート、Ｄ－ペニシラミン、アザチオプリン、ミコフェノール酸、タクロリムス、シロリムス、ミノサイクリン、レフルノミド、糖質コルチコイド；カルシニューリン阻害剤、例えば、シクロスポリンＡまたはＦＫ５０６；リンパ球再循環のモジュレーター、例えば、ＦＴＹ７２０およびＦＴＹ７２０類似体；ｍＴＯＲ阻害剤、例えば、ラパマイシン、４０－Ｏ－（２－ヒドロキシエチル）－ラパマイシン、ＣＣＩ７７９、ＡＢＴ５７８、ＡＰ２３５７３またはＴＡＦＡ－９３；免疫抑制特性を有するアスコマイシン、例えば、ＡＢＴ－２８１、ＡＳＭ９８１など；コルチコステロイド；シクロホスファミド；アザチオプリン；レフルノミド；ミゾリビン；ミコフェノール酸モフェチル；１５－デオキシスペルグアリンまたはその免疫抑制相同体、類似体もしくは誘導体；免疫抑制モノクローナル抗体、例えば、白血球受容体に対するモノクローナル抗体、例えば、ＭＨＣ、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ７、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＤ２８、ＣＤ４０、ＣＤ４５、ＣＤ５８、ＣＤ８０、ＣＤ８６またはそのリガンド；他の免疫調節化合物、例えば、ＣＴＬＡ４の細胞外ドメインの少なくとも一部またはその変異体、例えば、非ＣＴＬＡ４タンパク質配列、例えば、ＣＴＬＡ４Ｉｇ（例えば、ＡＴＣＣ６８６２９と指定される）またはその変異体、例えば、ＬＥＡ２９Ｙに連結されたＣＴＬＡ４の少なくとも細胞外部分またはその変異体を有する組換え結合分子；接着分子阻害剤、例えば、ＬＦＡ－１アンタゴニスト、ＩＣＡＭ－１または－３アンタゴニスト、ＶＣＡＭ－４アンタゴニストまたはＶＬＡ－４アンタゴニスト；または化学療法剤、例えば、パクリタキセル、ゲムシタビン、シスプラチン、ドキソルビシンもしくは５－フルオロウラシル；抗ＴＮＦ剤、例えば、ＴＮＦに対するモノクローナル抗体、例えば、インフリキシマブ、アダリムマブ、ＣＤＰ８７０、またはＴＮＦ－ＲＩもしくはＴＮＦ－ＲＩＩに対する受容体構築物、例えば、エタネルセプト、ＰＥＧ－ＴＮＦ－ＲＩ；炎症促進性サイトカインの遮断剤、ＩＬ１遮断剤、例えば、アナキンラまたはＩＬ１トラップ、カナキヌマブ、ＩＬ１３遮断剤、ＩＬ４遮断剤、ＩＬ６遮断剤、他のＩＬ１７遮断剤（セクキヌマブ、ブロアダルマブ、イクセキズマブなど）；ケモカイン遮断剤、例えば、プロテアーゼ、例えば、メタロプロテアーゼの阻害剤または活性化因子、抗ＩＬ１５抗体、抗ＩＬ６抗体、抗ＩＬ４抗体、抗ＩＬ１３抗体、抗ＣＤ２０抗体、ＮＳＡＩＤ、例えば、アスピリンまたは抗感染剤（一覧は上記の薬剤に限定されない）と組み合わせて用いることができる。

【０３０５】

上記により、本開示はさらなる態様において、
本明細書に開示される治療上有効量の抗ＩＬ－１７Ａ抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質と、例えば、上記に示されたような、免疫抑制剤／免疫調節剤、抗炎症性化学療法剤または抗感染剤である、少なくとも１つの第２の薬物物質とを、例えば、同時に、または連続的に同時投与する（co-administration）工程を含む上記で定義された方法、
【０３０６】
または、治療上有効量のａ）本明細書に開示される抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質と、ｂ）例えば、上記に示されたような、免疫抑制剤／免疫調節剤、抗炎症性化学療法剤または抗感染剤から選択される少なくとも１つの第二の物質とを含む、治療的組合せ（therapeutic combination）、例えば、キット
を提供する。キットは、その投与のための説明書を含んでもよい。
【０３０７】
本明細書に開示される抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質を他の免疫抑制／免疫調節剤、抗炎症性化学療法または抗感染療法と共に投与する場合、同時投与される組合せ化合物の投薬量は勿論、用いられる同時薬物（co-drug）の種類、例えば、それがＤＭＡＲＤ、抗ＴＮＦ、ＩＬ１遮断剤その他であるかどうか、用いられる特定の薬物、処置される状態などに応じて変化する。
【０３０８】
一実施形態においては、抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質を用いて、ＩＬ－１７Ａのレベル、またはＩＬ－１７Ａを含有する細胞のレベルを検出することができる。これは、例えば、試料（ｉｎ　ｖｉｔｒｏの試料など）および対照試料を、抗ＩＬ－１７Ａ抗体（またはタンパク質）と、抗体とＩＬ－１７Ａとの間の複合体の形成を可能にする条件下で接触させることにより達成することができる。抗体（またはタンパク質）とＩＬ－１７Ａとの間で形成される任意の複合体を、試料および対照中で検出および比較する。例えば、ＥＬＩＳＡおよびフローサイトメトリーアッセイなどの、当技術分野で周知の標準的な検出方法を、本開示の組成物を用いて実施することができる。
【０３０９】
したがって、一態様において、本開示は、試料中のＩＬ－１７Ａ（例えば、ヒトＩＬ－１７Ａ抗原）の存在を検出するため、またはＩＬ－１７Ａの量を測定するための方法であって、試料、および対照試料を、抗体またはその部分とＩＬ－１７Ａとの間の複合体の形成を可能にする条件下で、ＩＬ－１７Ａに特異的に結合する、本開示の抗体もしくはタンパク質、またはその抗原結合部分と接触させる工程を含む、前記方法をさらに提供する。次いで、試料と対照試料との間の複合体形成の差異が試料中のＩＬ－１７Ａの存在を示す、複合体の形成を検出する。
【０３１０】
また、本開示の組成物（例えば、抗体、タンパク質、ヒト抗体および二特異的分子）と、使用のための説明書とからなるキットも本開示の範囲内にある。キットは、少なくとも１つのさらなる試薬、または本開示の１つもしくは複数のさらなる抗体もしくはタンパク質（例えば、第１の抗体とは異なる標的抗原上のエピトープに結合する相補的活性を有する抗体）をさらに含有してもよい。キットは、典型的には、キットの内容物の意図される使用を示すラベルを含む。ラベルという用語は、キット上で、もしくはそれと共に供給される、またはそうでなければキットに付随する任意の文書（writing）、または記録された材料を含む。キットは、患者が上記で定義されたような抗ＩＬ－１７Ａ抗体処置に応答する群に属するかどうかを診断するための手段をさらに含んでもよい。
【０３１１】
完全に説明された本開示を、以下の実施例および特許請求の範囲によってここでさらに例示するが、これらは例示的なものであり、さらなる限定を意味するものではない。
【図面の簡単な説明】
【０３１２】

【図１】ＸＡＢ１　Ｆａｂの三次元構造を提供する図である。図１Ａは空間充填表示である。図１Ｂは略画表示である。
【図２】ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ１　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する図である。図２Ａは空間充填表示における２つのＸＡＢ１　Ｆｖ断片を示し、図２Ｂは略画表示における２つのＸＡＢ１　Ｆｖ断片を示す。
【図３－１】実施例に記載のＥＬＩＳＡ結果のグラフを示す図である。グラフ番号は以下のような候補指定に対応する：１はＭＢ４４０である；２はＭＢ４６４である；３はＭＢ４６８である；４はＭＢ４４４である；５はＭＢ４３５である；６はＭＢ４６３である；７はＸＡＢ１である。図３Ａは正規化されたシグナル　対　Ｆａｂ濃度（Ｍ）を示すグラフである。図３Ｂは正規化された残存シグナル　対　洗浄インキュベーション時間（時間）を示すグラフである。図３Ｃは正規化されたシグナル　対　Ｆａｂ競合剤濃度（Ｍ）を示すグラフである。
【図３－２】実施例に記載のＥＬＩＳＡ結果のグラフを示す図である。グラフ番号は以下のような候補指定に対応する：１はＭＢ４４０である；２はＭＢ４６４である；３はＭＢ４６８である；４はＭＢ４４４である；５はＭＢ４３５である；６はＭＢ４６３である；７はＸＡＢ１である。図３Ａは正規化されたシグナル　対　Ｆａｂ濃度（Ｍ）を示すグラフである。図３Ｂは正規化された残存シグナル　対　洗浄インキュベーション時間（時間）を示すグラフである。図３Ｃは正規化されたシグナル　対　Ｆａｂ競合剤濃度（Ｍ）を示すグラフである。
【図４】ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ２　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する図である。図４Ａは空間充填表示における２つのＸＡＢ２　Ｆｖ断片を示し、図４Ｂは略画表示において示される２つのＸＡＢ２　Ｆｖ断片を示す。
【図５】詳細図としてのヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ２　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する図である。
【図６】ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ５　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する図である。図６Ａは空間充填表示における２つのＸＡＢ５　Ｆｖ断片を示し、図６Ｂは略画表示における２つのＸＡＢ５　Ｆｖ断片を示す。
【図７】抗体Ｌ－ＣＤＲ１の詳細図としての、ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ５　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する図である。
【図８】ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ４　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する図である。図８Ａは空間充填表示における２つのＸＡＢ４　Ｆｖ断片を示し、図８Ｂは略画表示における２つのＸＡＢ４　Ｆｖ断片を示す。
【図９】抗体Ｌ－ＣＤＲ１の詳細図としての、ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ４　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する図である。
【図１０】抗体Ｌ－ＣＤＲ２の詳細図としての、ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ４　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する図である。
【図１１】実験的自己免疫性脳脊髄炎（ＥＡＥ）モデルにおけるＸＡＢ４に関する治療スコアを示すグラフである。
【図１２】ＥＡＥモデルにおける動物の治療体重変化（％）を示すグラフである。
【図１３】ＥＡＥモデルにおける累積治療スコアを示すグラフである。
【図１４】ＥＡＥモデルにおける処置前後の治療スコアの比較を示すグラフである。
【図１５】ＥＡＥモデルにおける処置前後の治療スコアの比較を示すグラフである。
【図１６】ＥＡＥモデルにおけるＸＡＢ４に関する予防スコアを示すグラフである。
【図１７】ＥＡＥモデルにおける動物の予防体重変化（％）を示すグラフである。
【図１８】ＥＡＥモデルにおける累積予防スコアを示すグラフである。
【図１９】ＥＡＥモデルにおける最大予防スコアを示すグラフである。
【図２０】ＥＡＥモデルにおけるＥＡＥ発症（開始（onset））を示すグラフである。
【図２１】ヒトアストロサイトモデルにおけるＩＬ－６放出に対するＸＡＢ４の拮抗効果を示すグラフである。
【図２２】ヒトアストロサイトモデルにおけるＣＸＣＬ１放出に対するＸＡＢ４の拮抗効

果を示すグラフである。
【図２３】ヒトアストロサイトモデルにおけるＩＬ－８放出に対するＸＡＢ４の拮抗効果を示すグラフである。
【図２４】ヒトアストロサイトモデルにおけるＧＭ－ＣＳＦ放出に対するＸＡＢ４の拮抗効果を示すグラフである。
【図２５】ヒトアストロサイトモデルにおけるＣＣＬ２放出に対するＸＡＢ４の拮抗効果を示すグラフである。
【実施例】
【０３１３】
ＸＡＢ１は、ヒトＩｇＧ１／κモノクローナル抗体である。それを標準的な分子生物学技術を用いて作製した。簡単に述べると、Ｍｅｄａｒｅｘシステムを用いた。マウスを、組換えヒトＩＬ－１７Ａで免疫した。マウスを、CO_2吸入により安楽死させ、脾細胞を収獲し、ＰＥＧ４０００を用いてミエローマ細胞系と融合させた。融合した細胞を腹膜細胞のフィーダー層と共にウェル中に播種した。培養細胞から上清を取得し、ＥＬＩＳＡによりＩＬ－１７Ａ反応性ｍＡｂについてアッセイした。ＩＬ－１７Ａ　ｍＡｂの生成について陽性のクローンを選択し、取り出した。
【０３１４】
ｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイにおけるＩＬ－１７Ａに対する結合親和性、ＩＬ－１７Ａのその受容体への結合を遮断する能力、およびＩＬ－１７Ａにより媒介される生物効果を遮断する能力などの、初期の有望な抗体／抗原結合特性に基づいて、ＸＡＢ１の分泌を担うハイブリドーマをさらなる特徴付けのために同定した。
【０３１５】
ＸＡＢ１のアミノ酸配列は、配列番号１４（重鎖）および配列番号１５（軽鎖）である。ＸＡＢ１を、その後の親和性成熟のために選択した。
【０３１６】
構造誘導性親和性成熟に対する第１のステップとして、遊離状態のＸＡＢ１　ＦａｂならびにヒトｌＬ－１７Ａとの対応するＦｖ複合体の結晶構造を、以下に記載のように決定した。ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ１　Ｆｖ複合体の三次元構造の分析により、合理的な親和性成熟プロセスと同時に、その代わりとして、より無作為化されたプロセスを実行することができた。さらなる詳細を以下に提供する。
【０３１７】
さらに、Ｘ線結晶学を用いて、作製されたいくつかの親和性成熟したバリアント抗体を特徴付けた。親和性成熟したバリアントからの結晶データの分析により、バリアント抗体の結合挙動のより深い理解が可能になり、以下でさらに説明されるように、いくつかの予想外の特性が発見された。
【０３１８】
実施例１　遊離状態のＸＡＢ１　Ｆａｂの結晶構造
（ｉ）材料および方法
標準的な分子生物学プロトコールを用いて、ＸＡＢ１　Ｆａｂ抗体断片を取得した。簡単に述べると、Ｆａｂをクローニングし、重鎖上にＣ末端ヘキサヒスチジンタグと共に大腸菌（E.coli）Ｗ３１１０中で発現させた。組換えタンパク質を、Ｎｉ－キレートクロマトグラフィー、次いで、１０ｍＭ　ＴＲＩＳ　ｐＨ７．４、２５ｍＭ　ＮａＣｌ中、ＳＰＸ－７５カラム上でのサイズ排除クロマトグラフィーにより精製した。次いで、ＸＡＢ１　Ｆａｂを限外濾過により１０．４ｍｇ／ｍｌまで濃縮し、結晶化させた。
【０３１９】
標準的な結晶化プロトコールを行った。簡単に述べると、結晶を、シッティングドロップ中での蒸気拡散法を用いて、ＳＤ２　９６穴プレート中、１９℃で成長させた。タンパク質ストックを、４０％ＰＥＧ３００、０．１Ｍリン酸－クエン酸ナトリウムｐＨ４．２を含有する結晶化バッファーと１：１で混合した。全液滴サイズは０．４μｌであった。Ｘ線データ収集の前に、１つの結晶をナイロン製ｃｒｙｏ－ｌｏｏｐ中に載せ、液体窒素

中で直接的に簡易冷却した。

【０３２０】

Ｘ線データ収集およびプロセッシングを、標準的なプロトコールを用いて実行した。簡単に述べると、２．１Å解像度のＸ線データを、Ｓｗｉｓｓ　Ｌｉｇｈｔ　Ｓｏｕｒｃｅ、ビームラインＸ１０ＳＡで、ＭＡＲ２２５　ＣＣＤ検出器、１．０００００ÅのＸ線照射を用いて収集した。合計で、それぞれ１．０°の振動の１８０の画像を、１９０ｍｍの結晶－検出器距離で記録し、ＨＫＬ２０００ソフトウェアパッケージを用いてプロセッシングした。結晶は、セルパラメータａ＝５１．６３Å、ｂ＝１３２．０９Å、ｃ＝７７．２５Å、α＝９０．００°、β＝９８．８８°、γ＝９０．００°および非対称単位中の１個のＸＡＢ１　Ｆａｂ分子を有する空間群Ｃ２に属していた。２．１Å解像度でのＲ－ｓｙｍは１０．４％であり、データ完全性は９９．０％であった。

【０３２１】

構造を、プログラムＰＨＡＳＥＲを用いる分子置換により決定した。V_H／V_LおよびC_{H1}／C_Lドメインの検索モデルを、ＰＤＢエントリー１ＨＥＺから作成した。反復モデルの構築および精密化を、さらなる有意な改善をモデルに対して行うことができなくなるまで、プログラムＣｏｏｔ（Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃ　Ｏｂｊｅｃｔ－Ｏｒｉｅｎｔｅｄ　Ｔｏｏｌｋｉｔ）およびＣＮＸ（Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｙ　＆　ＮＭＲ　ｅＸｐｌｏｒｅｒ）バージョン２００２を用いて実施した。全てのデータに関する最終的なＲ－およびＲ－フリーは、それぞれ、０．１８８および０．２３１であった。最終的な精密化されたモデルは、それぞれ、０．００４Åおよび０．９°の理想的な結合長および結合角に由来する平均二乗偏差（ＲＭＳＤ）を示した。

【０３２２】

（ｉｉ）結果

ＸＡＢ１　ＦａｂのＸ線精密化の結果を表９に提供し、三次元構造を図１に示す。

【０３２３】

【表９】

表 9. プログラムCNXを用いるXAB1 FabのX線精密化（ refinement ）

```
REMARK   3
REMARK   3 REFINEMENT.
REMARK   3   PROGRAM     : CNX 2002
REMARK   3   AUTHORS     : Brunger, Adams, Clore, Delano,
REMARK   3                 Gros, Grosse-Kunstleve, Jiang,
REMARK   3                 Kuszewski, Nilges, Pannu, Read,
REMARK   3                 Rice, Simonson, Warren
REMARK   3                   and
REMARK   3                 Accelrys Inc.,
REMARK   3                  Yip, Dzakula).
REMARK   3
REMARK   3  DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK   3   RESOLUTION RANGE HIGH (ANGSTROMS) : 2.10
REMARK   3   RESOLUTION RANGE LOW  (ANGSTROMS) :  33.33
REMARK   3   DATA CUTOFF            (SIGMA(F)) : 0.0
REMARK   3   DATA CUTOFF HIGH         (ABS(F)) : 19645630.62
REMARK   3   DATA CUTOFF LOW          (ABS(F)) :   0.000000
```

```
REMARK   3  COMPLETENESS (WORKING+TEST)   (%) : 98.2
REMARK   3  NUMBER OF REFLECTIONS             : 29298
REMARK   3
REMARK   3 FIT TO DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK   3  CROSS-VALIDATION METHOD        : THROUGHOUT
REMARK   3  FREE R VALUE TEST SET SELECTION  : RANDOM
REMARK   3  R VALUE          (WORKING SET) : 0.188
REMARK   3  FREE R VALUE                    : 0.231
REMARK   3  FREE R VALUE TEST SET SIZE   (%) :  4.9
REMARK   3  FREE R VALUE TEST SET COUNT      :  1436
REMARK   3  ESTIMATED ERROR OF FREE R VALUE  : 0.006
REMARK   3
REMARK   3 FIT IN THE HIGHEST RESOLUTION BIN.
REMARK   3  TOTAL NUMBER OF BINS USED          :  6
REMARK   3  BIN RESOLUTION RANGE HIGH       (A) : 2.10
REMARK   3  BIN RESOLUTION RANGE LOW        (A) : 2.23
REMARK   3  BIN COMPLETENESS (WORKING+TEST) (%) : 94.7
REMARK   3  REFLECTIONS IN BIN    (WORKING SET) :  4478
REMARK   3  BIN R VALUE          (WORKING SET) : 0.201
REMARK   3  BIN FREE R VALUE                    : 0.241
REMARK   3  BIN FREE R VALUE TEST SET SIZE  (%) :  4.5
REMARK   3  BIN FREE R VALUE TEST SET COUNT     :  213
REMARK   3  ESTIMATED ERROR OF BIN FREE R VALUE : 0.016
REMARK   3
REMARK   3 NUMBER OF NON-HYDROGEN ATOMS USED IN REFINEMENT.
REMARK   3  PROTEIN ATOMS            : 3311
REMARK   3  NUCLEIC ACID ATOMS       :    0
REMARK   3  HETEROGEN ATOMS          :    5
REMARK   3  SOLVENT ATOMS            :  313
REMARK   3
REMARK   3 B VALUES.
REMARK   3  FROM WILSON PLOT          (A**2) : 21.1
REMARK   3  MEAN B VALUE      (OVERALL, A**2) : 27.4
REMARK   3  OVERALL ANISOTROPIC B VALUE.
REMARK   3   B11 (A**2) : -6.02
REMARK   3   B22 (A**2) :  3.30
REMARK   3   B33 (A**2) :  2.73
REMARK   3   B12 (A**2) :  0.00
REMARK   3   B13 (A**2) :  3.82
REMARK   3   B23 (A**2) :  0.00
REMARK   3
REMARK   3 BULK SOLVENT MODELING.
REMARK   3  METHOD USED : FLAT MODEL
REMARK   3  KSOL        : 0.399279
REMARK   3  BSOL        : 54.4727 (A**2)
REMARK   3
REMARK   3 ESTIMATED COORDINATE ERROR.
REMARK   3  ESD FROM LUZZATI PLOT        (A) : 0.21
REMARK   3  ESD FROM SIGMAA              (A) : 0.12
REMARK   3  LOW RESOLUTION CUTOFF        (A) : 5.00
REMARK   3
REMARK   3 CROSS-VALIDATED ESTIMATED COORDINATE ERROR.
REMARK   3  ESD FROM C-V LUZZATI PLOT    (A) : 0.29
REMARK   3  ESD FROM C-V SIGMAA          (A) : 0.14
REMARK   3
REMARK   3 RMS DEVIATIONS FROM IDEAL VALUES.
REMARK   3  BOND LENGTHS                 (A) : 0.004
REMARK   3  BOND ANGLES            (DEGREES) : 0.9
REMARK   3  DIHEDRAL ANGLES        (DEGREES) : 21.4
REMARK   3  IMPROPER ANGLES        (DEGREES) : 0.58
```

```
REMARK   3
REMARK   3  ISOTROPIC THERMAL MODEL : RESTRAINED
REMARK   3
REMARK   3  ISOTROPIC THERMAL FACTOR RESTRAINTS.   RMS    SIGMA
REMARK   3   MAIN-CHAIN BOND          (A**2) :  1.41 ;  1.50
REMARK   3   MAIN-CHAIN ANGLE         (A**2) :  2.21 ;  2.00
REMARK   3   SIDE-CHAIN BOND          (A**2) :  2.31 ;  2.00
REMARK   3   SIDE-CHAIN ANGLE         (A**2) :  3.44 ;  2.50
REMARK   3
REMARK   3  NCS MODEL : NONE
REMARK   3
REMARK   3  NCS RESTRAINTS.                    RMS   SIGMA/WEIGHT
REMARK   3   GROUP  1  POSITIONAL         (A) : NULL  ; NULL
REMARK   3   GROUP  1  B-FACTOR         (A**2) : NULL  ; NULL
REMARK   3
REMARK   3  PARAMETER FILE  1  : protein_rep.param
REMARK   3  PARAMETER FILE  2  : water_rep.param
REMARK   3  TOPOLOGY FILE  1   : protein_no_cter.top
REMARK   3  TOPOLOGY FILE  2   : water.top
REMARK   3
REMARK   3  OTHER REFINEMENT REMARKS: NULL
SSBOND   1 CYS L   23    CYS L   88
SSBOND   2 CYS L  134    CYS L  194
SSBOND   3 CYS H   22    CYS H   96
SSBOND   4 CYS H  143    CYS H  199
CRYST1   51.627  132.089   77.247  90.00  98.88  90.00 C 1 2 1      8
ORIGX1      1.000000  0.000000  0.000000        0.00000
ORIGX2      0.000000  1.000000  0.000000        0.00000
ORIGX3      0.000000  0.000000  1.000000        0.00000
SCALE1      0.019370  0.000000  0.003027        0.00000
SCALE2      0.000000  0.007571  0.000000        0.00000
SCALE3      0.000000  0.000000  0.013103        0.00000
```

【０３２４】

図１は、実施例１で得られたＸＡＢ１　Ｆａｂの三次元構造を提供する。図１Ａは、空間充填表示である。図１Ｂは、略画表示である。ＸＡＢ１　Ｆａｂの重鎖および軽鎖は、それぞれ暗灰色および明灰色で見える。

【０３２５】

実施例２　ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ１　Ｆｖ複合体の結晶構造：構造誘導性親和性成熟（structure-guided affinity maturation）のためのパラトープの分析

（ｉ）材料および方法

標準的な分子生物学プロトコールを用いて、ＸＡＢ１　Ｆｖ抗体断片を取得した。簡単に述べると、Ｆｖをクローニングし、重鎖上のＣ末端へキサヒスチジンタグおよび軽鎖上のＣ末端Ｓｔｒｅｐタグと共に大腸菌（E.coli）Ｗ３１１０中で発現させた。組換えタンパク質を、Ｎｉ－キレートクロマトグラフィーにより精製した。

【０３２６】

次いで、ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ１　Ｆｖ断片複合体を、標準的な方法を用いて調製した。簡単に述べると、ヒトＩＬ－１７Ａ（１．１ｍｇ）を過剰のＦｖ（２．７ｍｇ）と混合し、複合体を、１０ｍＭ　ＴＲＩＳ　ｐＨ７．４、２５ｍＭ　ＮａＣｌ中でのＳ１００サイズ排除クロマトグラフィー上で泳動した。次いで、タンパク質複合体を限外濾過により２１．２ｍｇ／ｍｌまで濃縮し、結晶化させた。

【０３２７】

標準的な結晶化プロトコールを行った。簡単に述べると、結晶を、シッティングドロップ中での蒸気拡散法を用いて、ＳＤ２　９６穴プレート中、１９℃で成長させた。タンパク質ストックを、１０％ＰＥＧ２０，０００、０．１Ｍビシンｐ９．０、２．０％（ｖ／ｖ）ジオキサンを含有する結晶化バッファーと１：１で混合した。全液滴サイズは０．４μｌであった。Ｘ線データ収集の前に、１つの結晶を結晶化バッファーと２０％ＰＥＧ

２０，０００、３０％グリセロールとの１：１混合物中に簡単に移した後、液体窒素中で簡易冷却した。

【０３２８】

Ｘ線データ収集およびプロセッシングを、標準的なプロトコールを用いて実行した。簡単に述べると、３．０Å解像度のＸ線データを、Ｓｗｉｓｓ　Ｌｉｇｈｔ　Ｓｏｕｒｃｅ、ビームラインＸ１０ＳＡで、ＭＡＲ２２５　ＣＣＤ検出器、１．０００００ÅのＸ線照射を用いて収集した。合計で、それぞれ１．０°の振動の１１０の画像を、３００ｍｍの結晶－検出器距離で記録し、ＨＫＬ２０００ソフトウェアパッケージを用いてプロセッシングした。結晶は、セルパラメータａ＝１８４．３１Å、ｂ＝５５．８１Å、ｃ＝７０．９９Å、α＝β＝γ＝９０°を有する空間群$P2_12_12$に属していた。３．０Å解像度でのＲ－ｓｙｍは１１．２％であり、データ完全性は９９．９％であった。

【０３２９】

構造を、プログラムＰＨＡＳＥＲを用いる分子置換により決定した。ＸＡＢ１　Ｆｖの検索モデルを、以前に決定されたＸＡＢ１　Ｆａｂの結晶構造から作成した（実施例１を参照されたい）。ＩＬ－１７Ａの検索モデルを、公開されたヒトＩＬ－１７Ｆ結晶構造（ＰＤＢエントリー１ｊｐｙ）から作成した。反復モデルの構築および精密化を、さらなる有意な改善をモデルに対して行うことができなくなるまで、Ｃｏｏｔ（Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃ　Ｏｂｊｅｃｔ－Ｏｒｉｅｎｔｅｄ　Ｔｏｏｌｋｉｔ）およびＣＮＸ（Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｙ　＆　ＮＭＲ　ｅＸｐｌｏｒｅｒ）バージョン２００２を用いて実施した。全てのデータに関する最終的なＲ－およびＲ－フリーは、それぞれ、０．２１５および０．２６９であった。最終的な精密化されたモデルは、それぞれ、０．００７Åおよび１．０°の理想的な結合長および結合角に由来する平均二乗偏差（ＲＭＳＤ）を示した。

【０３３０】

（ｉｉ）結果

分子置換計算により、１個のＩＬ－１７Ａホモ二量体と、結合した２個のＸＡＢ１　Ｆｖ断片とを含む二量体複合体が示された。ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ１　Ｆｖ複合体のＸ線精密化の結果を表１０に提供し、この複合体の三次元構造を図２に示す。それぞれのＸＡＢ１　Ｆｖは両方のＩＬ－１７Ａサブユニットへの接触を作るが、分子間接触の大部分（埋まった表面の約９６％）は１つのＩＬ－１７Ａサブユニットのみによって寄与される。

【０３３１】

【表１０】

表 10. プログラムCNXにより得られるIL-17AとのXAB1 Fv複合体のX線精密化

```
REMARK   3
REMARK   3 REFINEMENT.
REMARK   3   PROGRAM     : CNX 2002
REMARK   3   AUTHORS     : Brunger, Adams, Clore, Delano,
REMARK   3                 Gros, Grosse-Kunstleve, Jiang,
REMARK   3                 Kuszewski, Nilges, Pannu, Read,
REMARK   3                 Rice, Simonson, Warren
REMARK   3                   and
REMARK   3                 Accelrys Inc.,
REMARK   3                 (Badger, Berard, Kumar, Szalma,
REMARK   3                  Yip, Dzakula).
REMARK   3
REMARK   3  DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK   3   RESOLUTION RANGE HIGH (ANGSTROMS) : 3.01
REMARK   3   RESOLUTION RANGE LOW  (ANGSTROMS) :  47.74
REMARK   3   DATA CUTOFF           (SIGMA(F)) : 0.0
REMARK   3   DATA CUTOFF HIGH         (ABS(F)) : 15276175.80
REMARK   3   DATA CUTOFF LOW          (ABS(F)) :    0.000000
REMARK   3   COMPLETENESS (WORKING+TEST)   (%) : 99.5
REMARK   3   NUMBER OF REFLECTIONS             : 15190
REMARK   3
REMARK   3  FIT TO DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK   3   CROSS-VALIDATION METHOD         : THROUGHOUT
REMARK   3   FREE R VALUE TEST SET SELECTION  : RANDOM
REMARK   3   R VALUE           (WORKING SET) : 0.215
REMARK   3   FREE R VALUE                     : 0.269
REMARK   3   FREE R VALUE TEST SET SIZE   (%) :  4.9
REMARK   3   FREE R VALUE TEST SET COUNT      :   748
REMARK   3   ESTIMATED ERROR OF FREE R VALUE  : 0.010
REMARK   3
REMARK   3  FIT IN THE HIGHEST RESOLUTION BIN.
REMARK   3   TOTAL NUMBER OF BINS USED           :  6
REMARK   3   BIN RESOLUTION RANGE HIGH       (A) : 3.00
REMARK   3   BIN RESOLUTION RANGE LOW        (A) : 3.19
REMARK   3   BIN COMPLETENESS (WORKING+TEST) (%) : 94.6
REMARK   3   REFLECTIONS IN BIN    (WORKING SET) :  2234
REMARK   3   BIN R VALUE           (WORKING SET) : 0.301
REMARK   3   BIN FREE R VALUE                    : 0.350
REMARK   3   BIN FREE R VALUE TEST SET SIZE  (%) :  5.3
```

```
REMARK   3  BIN FREE R VALUE TEST SET COUNT     :  124
REMARK   3  ESTIMATED ERROR OF BIN FREE R VALUE : 0.031
REMARK   3
REMARK   3  NUMBER OF NON-HYDROGEN ATOMS USED IN REFINEMENT.
REMARK   3  PROTEIN ATOMS          : 5007
REMARK   3  NUCLEIC ACID ATOMS     :   0
REMARK   3  HETEROGEN ATOMS        :   0
REMARK   3  SOLVENT ATOMS          :  33
REMARK   3
REMARK   3  B VALUES.
REMARK   3  FROM WILSON PLOT          (A**2) : 54.9
REMARK   3  MEAN B VALUE      (OVERALL, A**2) : 44.8
REMARK   3  OVERALL ANISOTROPIC B VALUE.
REMARK   3   B11 (A**2) :  5.66
REMARK   3   B22 (A**2) :  0.97
REMARK   3   B33 (A**2) : -6.63
REMARK   3   B12 (A**2) :  0.00
REMARK   3   B13 (A**2) :  0.00
REMARK   3   B23 (A**2) :  0.00
REMARK   3
REMARK   3  BULK SOLVENT MODELING.
REMARK   3   METHOD USED : FLAT MODEL
REMARK   3   KSOL        : 0.313124
REMARK   3   BSOL        : 20.608 (A**2)
REMARK   3
REMARK   3  ESTIMATED COORDINATE ERROR.
REMARK   3   ESD FROM LUZZATI PLOT       (A) : 0.33
REMARK   3   ESD FROM SIGMAA             (A) : 0.39
REMARK   3   LOW RESOLUTION CUTOFF       (A) : 5.00
REMARK   3
REMARK   3  CROSS-VALIDATED ESTIMATED COORDINATE ERROR.
REMARK   3   ESD FROM C-V LUZZATI PLOT   (A) : 0.44
REMARK   3   ESD FROM C-V SIGMAA         (A) : 0.51
REMARK   3
REMARK   3  RMS DEVIATIONS FROM IDEAL VALUES.
REMARK   3   BOND LENGTHS                (A) : 0.007
REMARK   3   BOND ANGLES           (DEGREES) : 1.0
REMARK   3   DIHEDRAL ANGLES       (DEGREES) : 22.1
REMARK   3   IMPROPER ANGLES       (DEGREES) : 0.78
REMARK   3
REMARK   3  ISOTROPIC THERMAL MODEL : RESTRAINED
REMARK   3
REMARK   3  ISOTROPIC THERMAL FACTOR RESTRAINTS.    RMS    SIGMA
REMARK   3   MAIN-CHAIN BOND              (A**2) :  1.46 ;  1.50
REMARK   3   MAIN-CHAIN ANGLE             (A**2) :  2.62 ;  2.00
REMARK   3   SIDE-CHAIN BOND              (A**2) :  1.63 ;  2.00
REMARK   3   SIDE-CHAIN ANGLE             (A**2) :  2.62 ;  2.50
REMARK   3
REMARK   3  NCS MODEL : NONE
REMARK   3
REMARK   3  NCS RESTRAINTS.                         RMS   SIGMA/WEIGHT
REMARK   3   GROUP  1  POSITIONAL           (A) : NULL  ; NULL
REMARK   3   GROUP  1  B-FACTOR           (A**2) : NULL  ; NULL
REMARK   3
REMARK   3  PARAMETER FILE  1  : protein_rep.param
REMARK   3  PARAMETER FILE  2  : water_rep.param
REMARK   3  TOPOLOGY FILE  1   : protein_no_cter.top
REMARK   3  TOPOLOGY FILE  2   : water.top
REMARK   3
REMARK   3  OTHER REFINEMENT REMARKS: NULL
```

```
SSBOND  1 CYS L  23   CYS L  88
SSBOND  2 CYS H  22   CYS H  96
SSBOND  3 CYS A  23   CYS A  88
SSBOND  4 CYS B  22   CYS B  96
SSBOND  5 CYS C  94   CYS C 144
SSBOND  6 CYS C  99   CYS C 146
SSBOND  7 CYS D  94   CYS D 144
SSBOND  8 CYS D  99   CYS D 146
CRYST1 184.306  55.813  70.991 90.00  90.00 90.00 P 21 21 2   24
ORIGX1    1.000000 0.000000 0.000000      0.00000
ORIGX2    0.000000 1.000000 0.000000      0.00000
ORIGX3    0.000000 0.000000 1.000000      0.00000
SCALE1    0.005426 0.000000 0.000000      0.00000
SCALE2    0.000000 0.017917 0.000000      0.00000
SCALE3    0.000000 0.000000 0.014086      0.00000
```

【０３３２】

図２は、実施例２で得られたような、ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ１　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する。図２Ａは、空間充填表示における２つのＸＡＢ１　Ｆｖ断片を示す；ＩＬ－１７Ａホモ二量体は略画表示で示される。図２Ｂは、略画表示における２つのＸＡＢ１　Ｆｖ断片を示す；ＩＬ－１７Ａホモ二量体は空間充填表示で示される。ＸＡＢ１　Ｆｖの重鎖および軽鎖は、それぞれ、暗灰色および明灰色で示される。ＩＬ－１７Ａホモ二量体の一方の鎖は明灰色で示され、他方は暗灰色で示される。

【０３３３】

複合体の詳細な分析を実施した。プログラムＣｏｏｔおよびＰｙｍｏｌを用いる結晶構造の注意深い視覚的検査を実行し、抗体－抗原境界面に埋まったタンパク質表面の量を、ＣＣＰ４プログラムスイートのプログラムＡＲＥＡＩＭＯＬを用いて算出した。抗体と抗原の原子間の３．９Åのカットオフ距離を用いて、分子間接触を定義した。結合の概要を以下のようにまとめることができる。ＸＡＢ１の結合は対称的である；それぞれのＦｖ断片はＩＬ－１７Ａホモ二量体上の等価なエピトープに結合する。

【０３３４】

それぞれのＦｖ断片の結合は、平均１７３２Å^{2}の組み合わせた表面上に埋まっており、３０の抗体および２５のＩＬ－１７Ａアミノ酸残基を含んでいた。ＸＡＢ１軽鎖（約５６０Å^2）の埋まった表面への寄与は、重鎖のもの（約２７５Å^2）よりも大きかった。さらに、ＣＤＲＨ２はＩＬ－１７Ａへの直接的接触を作らず、親和性成熟のための機会を提供するにはタンパク質抗原から遠すぎると考えられた。ＣＤＲＨ１の寄与は１個のアミノ酸側鎖のみ（Ｔｙｒ３２）に限られると考えられた；このＣＤＲも、アミノ酸置換を介する親和性成熟のための機会を提供するにはＩＬ－１７Ａから遠すぎた。ＸＡＢ１　ＣＤＲＨ３は、ＩＬ－１７Ａと複数の緊密な接触を作った。しかしながら、この領域における構造の注意深い検査は、点突然変異によりこれらの接触をさらに増強するための機会を示すことができなかった；したがって、ＣＤＲＨ３は、親和性増強のための標的領域として好適ではないと見なされた。対照的に、軽鎖ＣＤＲの検査により、親和性成熟のための複数の機会が示された。３つの軽鎖ＣＤＲのうち、ＣＤＲＬ１は最も有望であると考えられ、この観察に基づいて、本発明者らはＩＬ－１７Ａ残基Ａｒｇ１２４、Ｐｈｅ１３３およびＴｙｒ８５への接触を強化する試みにおいて軽鎖の位置３０～３２を無作為化することを提唱した。

【０３３５】

合理的設計による親和性成熟

上記の結果に基づいて、ホモ二量体ＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ１境界面が比較的小さく、軽鎖からの優勢な寄与、ＣＤＲＨ２からの関与がなく、ＣＤＲＨ１により主に間接的な寄与（すなわち、ＣＤＲＨ３の安定化による）を特徴とすることが見出された。したがって、ＸＡＢ１の重鎖は親和性成熟のための有望な機会を提供するとは考えられなかった。

【０３３６】

対照的に、ＸＡＢ１軽鎖は、最大４個のアミノ酸残基の任意の挿入を有するアミノ酸残基３０～３２（ＣＤＲＬ１）、アミノ酸５１～５３および５６（ＣＤＲＬ２）ならびに最大４個のアミノ酸残基の任意の挿入を有するアミノ酸残基９２および９３においていくらかの機会を提供した。

【０３３７】

ホモ二量体ヒトＩＬ－１７Ｆに関する公開された結晶構造、およびヒト受容体ＩＬ－１７ＲＡとの複合体にあるホモ二量体ＩＬ－１７Ｆの構造の利用可能性により、結晶化されたＩＬ－１７ＡおよびＸＡＢ１（およびそのバリアント）と複合体にあるＩＬ－１７Ａの観察された構造に基づいて予測を行うことができた。

【０３３８】

ＩＬ－１７ＦとＩＬ－１７Ａとの間で予測された構造類似体（配列同一性および相同性に基づく）を精査した。ＩＬ－１７ＦおよびＩＬ－１７Ａは、構造的類似性を担持していた。本発明者らは、ＩＬ－１７Ａが公開されたＩＬ－１７Ｆ／ＩＬ－１７ＲＡ複合体について示されたもの（Ely LK et al 2009, Nat Immunol. 10:1245-51）と同じ様式でその受容体のＮ末端ドメインに結合するとの仮説を立てた。

【０３３９】

他の種から誘導されるＩＬ－１７Ａの配列と共に、ヒトＩＬ－１７ＡおよびＩＬ－１７Ｆの既知の配列の観察された構造および比較に基づいて、本発明者らは、いくつかのさらなる予測を行った。

【０３４０】

ＸＡＢ１（およびＸＡＢ１により標的とされるエピトープに対する親和性が改善された、それから誘導される抗体バリアント）は、ヒトＩＬ－１７Ａに高度に特異的であると予想された。そのような抗体は他の種に由来するＩＬ－１７Ａとのいくらかの交差反応性を保持すると仮定された（種間の高い程度の保存された配列同一性または相同性に基づく）。しかしながら、利用可能な配列データおよび構造予測に基づいて、ＩＬ－１７Ａの種バリアントとのどの程度の交差反応性を予想することができるかは明らかではなかった。他のインターロイキンとの構造的類似性の欠如を考慮すれば、そのような分子（ヒトまたは他の種に由来する）との交差反応性は非常に可能性が低いと予想された。

【０３４１】

さらに、ＩＬ－１７ＡとＩＬ－１７Ｆの配列間の差異（特に、Ｎ末端領域）により、本開示の抗ＩＬ－１７Ａ抗体がＩＬ－１７Ｆに結合しないという予測が得られた。例えば、２つの結晶構造の重ね合わせにより、立体障害がこれらの抗体とＩＬ－１７Ｆとの間の結合を阻害することが示された。さらに、ＩＬ－１７ＡＦヘテロ二量体の構造への外挿により、特に、Ｎ末端領域におけるそのような干渉が抗体のＩＬ－１７ＡＦヘテロ二量体への結合を阻害し、それによって、ＩＬ－１７ＡＦへの結合の欠如、すなわち、ＩＬ－１７ＡＦヘテロ二量体に関するこれらの抗体による交差反応性の欠如をもたらすことも示唆された。

【０３４２】

実施例３　親和性成熟抗体バリアントの作製

初期抗体ＸＡＢ１の実際の親和性成熟は、上記で考察された理由のため、軽鎖に焦点を当てたものであった。本研究は、３つのステップ：（ｉ）ライブラリー作製、（ｉｉ）ライブラリースクリーニング、および（ｉｉｉ）候補特徴付けで実行された。

【０３４３】

取り扱いが容易であるため、タンパク質工学研究（すなわち、親和性成熟）を、Ｆａｂ断片形式で実行した。操作の後に候補を完全なＩｇＧに初期化して戻した。

【０３４４】

（ｉ）ライブラリー作製

軽鎖の可変ドメインをコードするＤＮＡ配列を変異させて、遺伝子バリアントのライブラリーを作出した。２つの異なる手法（ＡおよびＢ）を、ライブラリー作製のために用い、２つの別々のライブラリーを提供した。

【０３４５】
１）方法Ａ－エラープローンＰＣＲによる無作為変異：
ＸＡＢ１の軽鎖の可変ドメインをコードするＤＮＡ領域を、エラープローンＰＣＲを用いて無作為に変異させた。より詳細には、この領域を、高頻度で変異を導入するポリメラーゼＭｕｔａｚｙｍｅ　ＩＩを用いて増幅させた（さらなる詳細については、Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ　＃２００５５０により供給されるＧｅｎｅＭｏｒｐｈ　ＩＩ無作為突然変異誘発キットと共に供給される指針を参照されたい）。しかしながら、任意の好適な無作為変異技術または戦略を用いることができる。
【０３４６】
次いで、ＸＡＢ１の発現ベクター中に切断および貼付することにより、ＰＣＲ断片バリアントのプールをクローニングした。本質的には、親である非変異配列を発現ベクターから切出し、その場所に貼付された無作為突然変異誘発された配列で置き換えた。標準的な分子生物学技術を用いて、これを達成した。
【０３４７】
この結果、様々な無作為に変異した可変ドメイン配列を含む発現ベクターバリアントのライブラリーが得られた。
【０３４８】
２）方法Ｂ－合理的設計による変異：
この手法の下では、ライブラリーの作製を、親和性成熟の先駆けとして実行された構造分析により誘導した。特定のアミノ酸残基（特に、ＸＡＢ１の軽鎖のＣＤＲ１中の）を、上記の結晶構造から誘導されるエピトープおよびパラトープ情報に基づいて標的化した。
【０３４９】
結晶構造情報に基づいて選択された、３つのアミノ酸残基を完全に無作為化した。標準的な分子生物学的手法を、構築のために用いた。
【０３５０】
第１に、縮重オリゴヌクレオチドを用いて、適切なＣＤＲをコードする可変領域の断片と、軽鎖フレームワークの第１の部分とをＰＣＲにより増幅した。すなわち、ＣＤＲをコードするオリゴヌクレオチドを、規定の位置（複数可）に様々な塩基を提供するような方法で合成した。オリゴヌクレオチドの設計により、ＮＮＫ縮重コドン（Ｎは４つ全ての塩基、Ａ、Ｔ、ＣおよびＧを表し、ＫはＧおよびＴを表す）によるＣＤＲ中の特異的に標的化されたアミノ酸位置の無作為化が可能になり、これらの位置で２０種全部の天然アミノ酸が可能になった。
【０３５１】
この第１のステップの後、第１のものと重複し、残りの部分の軽鎖をコードする第２の断片も、ＰＣＲにより増幅した。次いで、両断片を「アセンブリ」ＰＣＲにより集合させ、完全な可変軽鎖を作製し、「切断および貼付」様式で発現ベクター中にクローニングし戻した。それにより、親配列を、一定範囲の合理的に変異した配列と置き換え、それによって特定のアミノ酸位置で、２０種全部のアミノ酸を表した。
【０３５２】
（ｉｉ）ライブラリースクリーニング
一度、ＸＡＢ１バリアントをコードする配列を含むライブラリーが作製されたら、それらをスクリーニングして、親ＸＡＢ１配列よりも優れた特徴、例えば、ＩＬ－１７Ａに対するより高い親和性を有するものを選択した。
【０３５３】
２つのスクリーニング技術を用いた。第１に、高効率スクリーニングを、「コロニー濾過スクリーニング」（ＣＦＳ）により行った。このアッセイにより、多数のクローンの好都合のスクリーニングが可能になった。それはＥＬＩＳＡスクリーニング前に陽性ヒットを減少させ、特に、ライブラリーサイズが「方法Ｂ」におけるライブラリーサイズ（８０００のみ）と比較してはるかに大きい（＞10^5）ため、無作為手法「方法Ａ」にとって有用であった。ＥＬＩＳＡスクリーニングは、10^4個以下のクローンにとって好都合で

あり、より定量的な結果を与える。

【０３５４】

１）コロニー濾過スクリーニング（ＣＦＳ）：

ＣＦＳのプロトコールは、Skerra et al. 1991, Anal Biochem 196:151-155に基づくものであった。いくつかの適合化を行った。

【０３５５】

Ｆａｂバリアントライブラリーを発現する大腸菌（E.coli）を、ＬＢ寒天およびグルコースを含有するペトリ皿の上、フィルター上で増殖させた。同時に、ＰＶＤＦ膜を標的タンパク質（ＩＬ－１７Ａ）で被覆した。被覆された膜を寒天プレート上に置いた。大腸菌（E.coli）を発現するＦａｂ断片のコロニーを含むフィルターを、膜の上に置いた。細胞により発現されたＦａｂ断片はコロニーから拡散し、標的ＩＬ－１７Ａに結合した。次いで、かくしてＰＶＤＦ膜上に捕捉されたＦａｂ断片を、ウェスタン染色のためにアルカリホスファターゼとコンジュゲートさせた二次抗体を用いて検出した。結合特性が改善されたバリアントのみを選択するための条件は、参照としてＸＡＢ１を用いて以前に確立されたものであった。

【０３５６】

より具体的には、大腸菌（E.coli）をライブラリーで形質転換した後、細胞を、ＬＢ寒天＋１％グルコース＋対象の抗生物質を含有するペトリ皿上に置いたＤｕｒａｐｏｒｅ（商標）膜フィルター（０．２２μｍ　ＧＶ、Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ（登録商標）、カタログ番号ＧＶＷＰ０９０５０）上に塗布した。プレートを３０℃で一晩インキュベートした。

【０３５７】

ＰＶＤＦ膜（Ｉｍｍｏｂｉｌｏｎ－Ｐ、Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ（登録商標）、カタログ番号ＩＰＶＨ０８１００）をメタノール中で予め湿らせ、ＰＢＳ中で洗浄し、ＰＢＳ中の１μｇ／ｍｌのｈｕＩＬ－１７Ａ溶液で被覆した。膜を室温で一晩インキュベートした。被覆後、膜をＴｒｉｓ緩衝生理食塩水（ＴＢＳ）＋０．０５％Ｔｗｅｅｎ（ＴＢＳＴ）中で２回洗浄し、５％ミルクＴＢＳＴ中、室温で２時間遮断した。次いで、膜をＴＢＳＴ中で４回洗浄し、１ｍＭ　ＩＰＴＧを含む２ｘＹＴ培地中に浸した。捕捉膜と呼ばれるこの膜を、１ｍＭ　ＩＰＴＧ＋対象の抗生物質を含むＬＢ寒天プレート上に置き、上にコロニーを含むＤｕｒａｐｏｒｅ膜で覆った。得られるサンドイッチを３０℃で４時間インキュベートした。

【０３５８】

このインキュベーションの後、捕捉膜をＴＢＳＴで４回洗浄し、室温で１時間、５％ミルクＴＢＳＴ中でブロッキングした。次いで、膜をＴＢＳＴで１回洗浄し、室温で１時間、二次抗体（抗ｈｕカッパ軽鎖抗体、アルカリホスファターゼ（ＡＰ）コンジュゲート、Ｓｉｇｍａ＃Ａ３８１３、２％ミルクＴＢＳＴ中で１：５０００に希釈）と共にインキュベートした。その後、膜をＴＢＳＴで４回、ＴＢＳ中で１回洗浄し、基質溶液（ＳｉｇｍａＦａｓｔ　ＢＣＩＰ／ＮＢＴタブレット、１０ｍｌ　H_2O中で１タブレット）中でインキュベートした。シグナルが予想された強度に達した時、膜を水で洗浄し、乾燥させた。

【０３５９】

捕捉膜上でシグナルを展開させた後、親ＸＡＢ１よりも強いシグナルを与えるコロニーを拾い、以下に記載の２回目のＥＬＩＳＡスクリーニングに進めさせた。

【０３６０】

２）ＥＬＩＳＡスクリーニング：

ＣＦＳの後、ＥＬＩＳＡを用いて、ＣＦＳにより選択された候補をスクリーニングした。簡単に述べると、エラープローンＰＣＲ突然変異誘発により同定された比較的少数のバリアント（すなわち、ライブラリーＡ）について、ＥＬＩＳＡを９６穴形式で手動で行った。対照的に、合理的設計（方法Ｂ）により構築されたライブラリーについては、ＩＬ－１７Ａに対するその異なる結合親和性を識別し、最も高い親和性を有するクローンを同定することができるために、より多数の改善されたクローンをＥＬＩＳＡレベルでスクリー

ニングする必要があった。３８４穴プレート形式でその目的のためにＥＬＩＳＡロボットを用いた。しかしながら、ＥＬＩＳＡプロトコールはそれぞれ同じであったが、唯一の相違は試薬の量であった。

【０３６１】

ａ）細胞培養：

クローンを、最初に２ｘＹＴ培地＋１％グルコース＋対象の抗生物質中、３０℃、９００ｒｐｍで一晩増殖させた。これらの培養物を含有するプレートを、マスタープレートと呼んだ。次の日、マスタープレートからの培養物のアリコートを、２ｘＹＴ培地＋０．１％グルコース＋対象の抗生物質を含有する発現プレートに移した。これらのプレートを３０℃、９００ｒｐｍで約３時間インキュベートした。次いで、イソプロピルβ－Ｄ－１－チオガラクトピラノシド（ＩＰＴＧ）溶液を０．５ｍＭの最終濃度で添加した。プレートを３０℃、９００ｒｐｍで一晩インキュベートした。

【０３６２】

次の日、溶解バッファー（（２ｘ）ホウ酸緩衝生理食塩水（ＢＢＳ）溶液（Ｔｅｋｎｏｖａ＃Ｂ０２０５）＋２．５ｍｇ／ｍｌリゾチーム＋１０ｕ／ｍｌベンゾナーゼ）を培養物に添加した。プレートを室温で１時間インキュベートした後、遮断のために１２．５％ミルクＴＢＳＴを添加した。３０ｍｉｎインキュベートした後、細胞溶解物を２％ミルクＴＢＳＴ中で１：１０に希釈し、ＥＬＩＳＡプレート中に移した。

【０３６３】

ｂ）ＥＬＩＳＡ：

ＥＬＩＳＡプレート（Ｎｕｎｃ　Ｍａｘｉｓｏｒｐ）を、１時間、１μｇ／ｍｌのｈｕＩＬ－１７Ａ溶液で被覆した。プレートをＴＢＳＴで１回洗浄し、５％ミルクＴＢＳＴで１時間遮断した。遮断後、プレートをＴＢＳＴで３回洗浄した後、希釈した細胞溶解物をプレート上に載せ、１時間インキュベートした。その後、プレートをＴＢＳＴで３回洗浄し、ＡＰコンジュゲート化二次抗体と共に１時間インキュベートした。

【０３６４】

最後にプレートをＴＢＳＴで３回洗浄した後、基質溶液（ＡｔｔｏＰｈｏｓ基質セット、Ｒｏｃｈｅ＃１１６８１９８２００１）と共にインキュベートした。全プロセスを室温で実施した。

【０３６５】

上記の「古典的」ＥＬＩＳＡに加えて、標的タンパク質に対する非常に高い親和性（ピコモル濃度範囲）を有するクローン間のより良好な識別のために、改変型ＥＬＩＳＡも行った。以下に詳述するように、「オフレート（off-rate）」ＥＬＩＳＡおよび「競合」ＥＬＩＳＡを、この目的のために開発した。

【０３６６】

ｃ）「オフレート」ＥＬＩＳＡ：

このアッセイのために、「古典的」ＥＬＩＳＡプロトコールと比較した改変は、結合ステップ後の洗浄ステップであった（ＥＬＩＳＡプレート中での細胞溶解物のインキュベーション）。「古典的」プロトコールにおいては、プレートをＴＢＳＴで３回洗浄した。洗浄溶液を分注し、インキュベーション時間なしにすぐに吸引した。「オフレート」ＥＬＩＳＡについては、プレートを少なくとも３時間で６回洗浄した。この長い洗浄は、アッセイのストリンジェンシーを増大させ、遅いオフレートを有するクローンを同定することができた。

【０３６７】

ｄ）「競合」ＥＬＩＳＡ：

この改変型ＥＬＩＳＡプロトコールは、結合ステップの後に追加のステップを含んでいた。細胞溶解物のインキュベーション後、プレートをＴＢＳＴで３回洗浄した後、親ＸＡＢ１の溶液（２％ミルクＴＢＳＴ中の２００ｎＭ）を室温で一晩インキュベートした。過剰の親Ｆａｂと一緒のこの長いインキュベーションにより、「オフレート」ＥＬＩＳＡの場合と同様、ピコモル濃度範囲の親和性を有するクローン間のより良好な識別をもたらす

、遅いオフレートを有するクローンを同定することができた。残りのプロトコールは、「古典的」ＥＬＩＳＡプロトコールと同様であった。ライブラリーに由来するＦａｂバリアントは、競合のために用いられた親ＸＡＢ１　Ｆａｂではなく、重鎖のＣ末端にＦｌａｇタグを有していたため、この場合に用いられた二次抗体は、ＡＰコンジュゲート化抗Ｆｌａｇタグ抗体であった。

【０３６８】

（ｉｉｉ）候補特徴付け

スクリーニング中に同定されたヒットを、さらなる物理化学的特徴付けのために、ＩＬ－１７Ａに結合する高い親和性を確認するため、および／またはさらなるアッセイにおける他の有利な特性のため、より大規模で生成した。これらのものは以下により詳細に記載される。

【０３６９】

（ｉｖ）結果：ＸＡＢ１の親和性成熟後の候補のスクリーニングおよび初期特徴付け

１）無作為突然変異誘発手法（方法Ａ）：

エラープローンＰＣＲライブラリー作製後の変異率は、遺伝子あたり２～３個の変異でピークに達することがわかった。約$3x10^4$個のクローンを、コロニー濾過スクリーニングによりスクリーニングし、いくつかの９４のクローンを改善されたものと同定し、結合、オフレートおよび競合ＥＬＩＳＡに進行させた。配列決定の結果と組み合わせたＥＬＩＳＡデータは、改善のための３つの潜在的なホットスポット、ＬＣＤＲ１中の位置２８のＧｌｙからＶａｌ（Ｇ２８Ｖ）；フレームワーク３中の位置６６のＧｌｙからＶａｌ（Ｇ６６Ｖ）またはＳｅｒ（Ｇ６６Ｓ）；ＬＣＤＲ３中のＡｓｎ９２からＡｓｐ（Ｎ９２Ｄ）（データは示さないが、位置はＸＡＢ２、ＶＬ、すなわち、配列番号２５のものと同一である）を強調する６つの候補の同定をもたらした。

【０３７０】

用いられた大腸菌（E.coli）株はリードスルーを可能にするアンバーサプレッサーであるため、停止コドンは１つのクローンにおいて観察されたが、関連していなかった。得られたデータに基づいて、Ｇ２８ＶおよびＧ６６Ｖ変異が最良の改善を引き起こすと考えられた。記載の２つの点突然変異を担持するＸＡＢ１のバリアントを、標準的な分子生物学技術によって作製した。潜在的な翻訳後脱アミド化部位（Ｎ９２、Ｓ９３）の除去が有益であるかどうかを試験するために、それに加えてＮ９２Ｄ置換を有するさらなるバリアントをクローニングした。より詳細なプロファイリングを、これらの２つのバリアント、特に、ＸＡＢ２を最終的にもたらすＸＡＢ＿Ａ２と呼ばれる三重変異バリアントに対して行った。ＸＡＢ２においては、Ｋａｂａｔの定義によるアミノ酸番号１～２３はフレームワーク１であり、アミノ酸番号２４～３４（Ｋａｂａｔ）はＬＣＤＲ１であり、アミノ酸番号３５～４９（Ｋａｂａｔ）はフレームワーク２であり、アミノ酸５０～５６（Ｋａｂａｔ）はＬＣＤＲ２であり、アミノ酸５７～８８（Ｋａｂａｔ）はフレームワーク３であり、アミノ酸８９～９７（Ｋａｂａｔ）はＬＣＤＲ３であり、アミノ酸９８～１０７（Ｋａｂａｔ）はフレームワーク４である。本開示の実施形態による他のＶＬ配列の同じ細分も適用される。

【０３７１】

かくして、上記のＧ６６Ｖ置換はフレームワーク領域中にあり、外側ループと呼ばれる。このフレームワーク領域は、いくつかの場合、結合に寄与することができる。利用可能な構造情報に基づいて、この変異が実際にＩＬ－１７Ａの領域と相互作用することができ、結晶構造から分解することができないが、外側ループに近接し得ることが回顧的に示唆された。

【０３７２】

２）合理的突然変異誘発手法（方法Ｂ）：

無作為化された位置でのアミノ酸分布のスナップショットを、３２の無作為に拾ったメンバーの配列決定により作成した。有意な偏りはなかったが、この少数の配列を用いた場合、統計処理を行うことはできない。８０００の理論的ライブラリーサイズをオーバーサ

ンプリングした約４ｘ１０^{4}個のクローンをスクリーニングした。多数のヒットが同定され、２６３０個のクローンをＥＬＩＳＡスクリーニングに進行させた。結合、オフレートおよび競合ＥＬＩＳＡを実施し、最も高い改善を示した６０個のクローンを配列決定した。これらの６０個のクローンの中で、２２個のユニークな配列が見出されたが、その結果を表１１にまとめる。

【０３７３】

【表１１】

表 11. 選択された全部で22のユニークな候補のELISA。値は親Fab XAB1に対して正規化される。表示（representation）は、どれぐらいの頻度である特定の配列が60ヒット以内に見出されるかを示す。アミノ酸配列の差異は3つの最後の列に示す。XAB1はこれらの位置にアミノ酸ISAを有する。ELISAシグナルを大腸菌(E.coli)由来Fab発現培養物の粗抽出物から決定した。

候補名	古典的（Classic）ELISA	ｵﾌﾚｰﾄ ELISA	競合 ELISA	表示 %	30	31	32
MB491	2.1	43.0	44.2	5	F	F	W
MB483	3.1	47.1	45.2	2	F	W	T
MB447	3.0	45.5	57.0	5	F	W	W
MB457	2.7	34.7	41.0	5	I	W	S
MB464	2.7	34.9	36.9	7	I	Y	Q
MB432	2.3	44.2	37.3	12	L	F	A
MB454	2.9	34.2	36.6	2	L	W	A
MB444	3.2	48.9	52.4	2	L	W	E
MB456	2.4	45.1	46.7	2	L	W	H
MB440	2.8	52.5	54.0	5	L	W	Q
MB450	2.9	41.5	53.3	5	M	W	W
MB435	2.7	44.7	44.6	2	N	W	E
MB438	2.7	41.5	41.1	7	P	Y	A
MB453	2.7	43.3	46.4	9	V	F	W
MB448	2.9	40.4	51.5	5	V	W	M
MB486	1.9	58.5	64.9	2	W	W	M
MB434	2.4	44.4	39.5	7	W	W	Y
MB458	2.7	33.0	42.1	5	W	Y	Q
MB463	2.7	34.2	31.6	2	Y	F	E
MB468	2.8	43.9	60.0	5	Y	W	E
MB433	2.3	39.7	29.3	2	Y	W	G
MB461	2.9	49.8	62.8	2	Y	W	T

【０３７４】

２２個のユニークなクローンのうち、６個を、０．５Ｌスケールの標準的な大腸菌（E. coli）発現ならびにＩＭＡＣ（Ｎｉ－ＮＴＡ）およびＳＥＣによる２ステップの精製のために選択した。次いで、精製されたＦａｂを用いて、ＥＬＩＳＡにより結合の改善を確認

した。
【０３７５】
ＸＡＢ１と比較した、選択および精製されたＦａｂ候補のＥＬＩＳＡの結果を図３に示し、ここでグラフ番号は以下のような候補指定に対応する：１はＭＢ４４０である；２はＭＢ４６４である；３はＭＢ４６８である；４はＭＢ４４４である；５はＭＢ４３５である；６はＭＢ４６３である；７はＸＡＢ１である。
【０３７６】
図３Ａは、正規化されたシグナルとＦａｂ濃度（Ｍ）を示すグラフである。全ての選択されたクローンがＸＡＢ１よりも高いシグナルをもたらすことがわかる。図３Ｂは、正規化された残存シグナルと洗浄インキュベーション時間（時間）を示すグラフである。全ての選択されたクローンが、ＸＡＢ１よりも高いシグナルをもたらす。図３Ｃは、正規化されたシグナルとＦａｂ競合剤濃度（Ｍ）を示すグラフである。再度、全ての選択されたクローンがＸＡＢ１よりも高いシグナルをもたらすことがわかる。
【０３７７】
実施例４　潜在的な翻訳後脱アミド化部位の標的化
本発明者らは、アミノ酸モチーフ、アスパラギン、次いでグリシン（ＮＧ）、またはより低い程度で、セリン（ＮＳ）の場合も、翻訳後脱アミド化を受けやすいと仮定した。そのようなモチーフは抗体ＸＡＢ１のＬ－ＣＤＲ２（位置５６／５７）およびＬ－ＣＤＲ３（９２／９３）中に存在する。４つのＩｇＧバリアントを作製して、結合および活性特性に影響することなくＮＧ部位を除去することができるかどうかを試験した。これらの４つの点突然変異バリアントを標準的な分子生物学手順によりクローニングし、１００ｍｌスケールでＨＥＫ細胞の標準的な一過的トランスフェクションにより生成し、プロテインＡカラムにより精製した。
【０３７８】
精製されたＩｇＧバリアントをｉｎ　ｖｉｔｒｏ中和アッセイ（例えば、実施例１２および１３に記載のような）において分析して、その活性を親ＸＡＢ１　ＩｇＧと比較した。その結果、これらの４つのバリアントのうち、３つの活性が低下したことが示された。しかし、候補ＸＡＢ＿Ｂ１２（変異Ｎ５６Ｑ）は、親ＸＡＢ１と比較して活性を保持していた。
【０３７９】

【表１２】

表 12. XAB1に対する配列改変、およびin vitroでの中和に対する対応する効果の概説

Kabat CDR			L-CDR2								IC50(nM)	
残基 #		49	50	51	52	53	54	55	56	57	Hu IL-6	Hu IL-8
Kabat#		49	50	51	52	53	54	55	56	57	sec	sec
IgG バリアント	遺伝子名											
XAB1	XAB1	Y	D	A	S	S	L	E	N	G	4	3
XAB_G57T	XAB_A6	Y	D	A	S	S	L	E	N	T	22	23
XAB_N56Q	XAB_B12	Y	D	A	S	S	L	E	Q	G	2	3
XAB_N56T	XAB_B13	Y	D	A	S	S	L	E	T	G	11	15
XAB_N56S	XAB_B14	Y	D	A	S	S	L	E	S	G	13	17

【０３８０】

かくして最も好適な置換を同定したが、それは親和性成熟プロセス中に同定された最も有望なヒットに導入され、ＸＡＢ２（ＸＡＢ＿Ａ２　Ｎ５６Ｑ）、ＸＡＢ３（ＭＢ４６８　Ｎ５６Ｑ）、ＸＡＢ４（ＭＢ４３５　Ｎ５６Ｑ）が得られた。それらをＨＥＫ細胞の標準的な一過的トランスフェクションにより生成し、ＸＡＢ５（ＭＢ４３５）と共にプロテインＡカラムにより精製したところ、ＮＧ部位を依然として担持していた。

【０３８１】

ＮＧモチーフはＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４について除去（Ｎ５６Ｑ）されたが、ＸＡＢ５には依然として存在していた。無作為親和性成熟手法中に見出されたように、Ｌ－ＣＤＲ３中のＮＳモチーフはＸＡＢ２において除去された（Ｎ９２Ｄ）。したがって、潜在的な部位の脱アミド化に対する感受性を試験するための最適なセットのバリアントが利用可能であった。

【０３８２】

４つの精製された候補をｐＨ８のバッファー中に希釈し、４０℃でインキュベートして、脱アミド化反応を起こさせた。いくつかの時点でアリコートを取得し、当業者には周知の原理に従う陽イオン交換クロマトグラフィー（ＣＥＸ）により脱アミド化の程度を決定し、細胞に基づくアッセイによりｉｎ　ｖｉｔｒｏでの中和活性を決定した（例えば、実施例１２および１３に記載のように）。

【０３８３】

ＣＥＸの結果により、任意のＩｇＧについて予想された通り、おそらくは抗体フレームワーク中の翻訳後改変部位のため、経時的な酸性バリアントの百分率の増加が示されたが、増加の程度は、他の候補よりもＸＡＢ５についてより高かった、すなわち、１週間後で７２％対４６％および４週間後で９４％対８３％であった。最後に、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ中和活性アッセイの結果はＣＥＸの結果と相関し、ＸＡＢ５は強制的な脱アミド化条件中、４週間のインキュベーション後に活性を失ったことを示している。当業者には周知のサイズ排除クロマトグラフィー－多角度光散乱法（ＳＥＣ－ＭＡＬＳ）を用いて、試料中の凝集レベルをモニタリングした。

【０３８４】

そのデータを表１３にまとめる。

【０３８５】
【表１３】

表 13. SEC-MALS、in vitro中和活性およびCEXによる分析

抗体	M[a] [%]	EC_{50}[b] [ng/ml]	CEX[c] [%]	M[a] [%]	EC_{50}[b] [ng/ml]	CEX[c] [%]
	T= 0 週			T= 1 週		
XAB2	99	45	15	98	n.d.	45
XAB3	99	40	14	98	n.d.	44
XAB5	99	45	18	98	n.d.	**72**
XAB4	99	48	15	98	n.d.	48

抗体	M[a] [%]	EC_{50}[b] [ng/ml]	CEX[c] [%]	NG[d] 部位	NS[d] 部位
	T= 4 週				
XAB2	95	47	85	0	0
XAB3	97	40	81	0	1
XAB5	94	**61**	**94**	1	1
XAB4	94	47	84	0	1

[a] *SEC-MALS* による単量体，[b] *80 ng/ml IL-17* を用いる細胞刺激後の *IL-6* 分泌の阻害，
[c] 交換クロマトグラフィーによる酸性バリアント，
[d] *CDR* 中の部位数（フレームワーク領域は考慮されていない）

【０３８６】
これらのデータは、抗体活性に対する効果を有していた潜在的な翻訳後脱アミド化部位の除去の成功を示していた。翻訳後脱アミド化は生成または保存の間に起こり、抗体活性に影響し得るため、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３およびＸＡＢ４はしたがって、ＸＡＢ１よりも均質な生成物を達成する可能性があるため、これは有利である。
【０３８７】
実施例５　親和性成熟により誘導される抗体バリアントのＸ線分析：ＸＡＢ２
簡単に述べると、ＸＡＢ２　Ｆｖをクローニングし、当業者には周知の原理に従って、重鎖上にＣ末端ヘキサヒスチジンタグを有し、軽鎖上にＣ末端Ｓｔｒｅｐタグを有する大腸菌（E.coli）ＴＧｆ１－中で発現させた。組換えタンパク質をＮｉ－キレートクロマトグラフィーおよびサイズ排除クロマトグラフィー（ＳＰＸ－７５）により精製した。
【０３８８】
次いで、ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ２　Ｆｖ断片複合体を、標準的な方法を用いて調製した。簡単に述べると、ヒトＩＬ－１７Ａ（１．５ｍｇ）を、過剰のＸＡＢ２　Ｆｖ（３．７ｍｇ）と混合し、複合体を、１０ｍＭ　ＴＲＩＳ　ｐＨ７．４、２５ｍＭ　ＮａＣｌ中でのＳ１００サイズ排除クロマトグラフィー上で泳動した。次いで、タンパク質複合体を限外濾過により２６．３ｍｇ／ｍｌまで濃縮し、結晶化した。
【０３８９】
標準的な結晶化プロトコールを行った。簡単に述べると、結晶を、シッティングドロッ

プ中での蒸気拡散法を用いて、ＳＤ２　９６穴プレート中、１９℃で成長させた。タンパク質ストックを、０．２Ｍ酢酸カルシウム、２０％ＰＥＧ３，３５０を含有する結晶化バッファーと１：１で混合した。総液滴サイズは０．４μｌであった。Ｘ線データ収集の前に、１つの結晶を、３０％ＰＥＧ３，３５０、３０％グリセロールを含む結晶化バッファーの１：１混合物中に簡単に移した後、液体窒素中で簡易冷却した。

【０３９０】

Ｘ線データ収集およびプロセッシングを、標準的なプロトコールを用いて実行した。簡単に述べると、２．０Å解像度のＸ線データを、Ｓｗｉｓｓ　Ｌｉｇｈｔ　Ｓｏｕｒｃｅ、ビームラインＸ０６ＤＡで、ＭＡＲ２２５　ＣＣＤ検出器、１．０００００ÅのＸ線照射を用いて収集した。合計で、それぞれ０．５°の振動の３６０の画像を、１９０ｍｍの結晶－検出器距離で記録し、ＸＤＳソフトウェアパッケージを用いてプロセッシングした。結晶は、セルパラメータａ＝１８４．７２Å、ｂ＝５５．５６Å、ｃ＝７１．１１Å、α＝β＝γ＝９０°を有する空間群$P2_12_12$に属していた。２．０Å解像度でのＲ－ｓｙｍは５．２％であり、データ完全性は１００．０％であった。

【０３９１】

ＸＡＢ２　Ｆｖ複合体の結晶はＸＡＢ１　Ｆｖ複合体の結晶と高度に同形であったため（実施例２）、後者の構造を、プログラムＣＮＸを用いる結晶学的精密化の初期実行のための入力モデルとして用いた。反復モデルの補正および精密化を、さらなる有意な改善を結晶学的モデルに対して行うことができなくなるまで、Ｃｏｏｔ（Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃ　Ｏｂｊｅｃｔ－Ｏｒｉｅｎｔｅｄ　Ｔｏｏｌｋｉｔ）およびＣＮＸ（Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｙ　＆　ＮＭＲ　ｅＸｐｌｏｒｅｒ）バージョン２００２を用いて実施した。全てのデータに関する最終的なＲ－およびＲ－フリーは、それぞれ、０．２１４および０．２５９であった。最終的な精密化されたモデルは、それぞれ、０．００５Åおよび０．９°の理想的な結合長および結合角に由来する平均二乗偏差（ＲＭＳＤ）を示した。

【０３９２】

結果

ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ２　Ｆｖ複合体のＸ線精密化の結果を表１４に提供し、この複合体の三次元構造を図４に示す。Ｘ線結晶分析により、バリアント抗体ＸＡＢ２が標的特異性を保持し、親ＸＡＢ１抗体と本質的に同じエピトープに対する高い親和性で結合することが確認された。しかしながら、ＸＡＢ１複合体構造においては、Ｇｌｙ６６を含む軽鎖ループは、この残基をバリンに変異させた場合、もはや可能ではないコンフォメーションを採用する。結果として、ＸＡＢ２複合体において、Ｇｌｙ６６のバリン変異（Ｇ６６Ｖ）は、ループに新しいコンフォメーションを採用させ、バリン側鎖はＩＬ－１７ＡのＩｌｅ５１への疎水性接触を作る（図５）。２つのさらなるＩＬ－１７Ａ残基、Ｐｒｏ４２およびＡｒｇ４３は、この結晶構造において見えるようになる（規則的）。これらの抗原残基は、ＸＡＢ２抗体とのさらなる結合相互作用、特に、Ｖａｌ２８との疎水性接触を作る（図５）。

【０３９３】

【表１４】

表 **14.** プログラムCNXにより得られるIL-17AとのXAB2 Fv複合体のX線精密化

REMARK 3
REMARK 3 REFINEMENT.
REMARK 3 PROGRAM : CNX 2002
REMARK 3 AUTHORS : Brunger, Adams, Clore, Delano,
REMARK 3 Gros, Grosse-Kunstleve, Jiang,
REMARK 3 Kuszewski, Nilges, Pannu, Read,
REMARK 3 Rice, Simonson, Warren
REMARK 3 and
REMARK 3 Accelrys Inc.,
REMARK 3 (Badger, Berard, Kumar, Szalma,
REMARK 3 Yip, Dzakula).
REMARK 3
REMARK 3 DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK 3 RESOLUTION RANGE HIGH (ANGSTROMS) : 2.00
REMARK 3 RESOLUTION RANGE LOW (ANGSTROMS) : 71.11
REMARK 3 DATA CUTOFF (SIGMA(F)) : 0.0
REMARK 3 DATA CUTOFF HIGH (ABS(F)) : 2329350.20
REMARK 3 DATA CUTOFF LOW (ABS(F)) : 0.000000
REMARK 3 COMPLETENESS (WORKING+TEST) (%) : 99.8

```
REMARK   3  NUMBER OF REFLECTIONS             : 50409
REMARK   3
REMARK   3  FIT TO DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK   3   CROSS-VALIDATION METHOD          : THROUGHOUT
REMARK   3   FREE R VALUE TEST SET SELECTION  : RANDOM
REMARK   3   R VALUE           (WORKING SET) : 0.214
REMARK   3   FREE R VALUE                     : 0.259
REMARK   3   FREE R VALUE TEST SET SIZE   (%) :  5.0
REMARK   3   FREE R VALUE TEST SET COUNT      :  2521
REMARK   3   ESTIMATED ERROR OF FREE R VALUE  : 0.005
REMARK   3
REMARK   3  FIT IN THE HIGHEST RESOLUTION BIN.
REMARK   3   TOTAL NUMBER OF BINS USED           :  6
REMARK   3   BIN RESOLUTION RANGE HIGH       (A) : 2.00
REMARK   3   BIN RESOLUTION RANGE LOW        (A) : 2.13
REMARK   3   BIN COMPLETENESS (WORKING+TEST) (%) :100.0
REMARK   3   REFLECTIONS IN BIN    (WORKING SET) :  7858
REMARK   3   BIN R VALUE           (WORKING SET) : 0.262
REMARK   3   BIN FREE R VALUE                    : 0.304
REMARK   3   BIN FREE R VALUE TEST SET SIZE  (%) :  5.0
REMARK   3   BIN FREE R VALUE TEST SET COUNT     :  414
REMARK   3   ESTIMATED ERROR OF BIN FREE R VALUE : 0.015
REMARK   3
REMARK   3  NUMBER OF NON-HYDROGEN ATOMS USED IN REFINEMENT.
REMARK   3   PROTEIN ATOMS           : 5055
REMARK   3   NUCLEIC ACID ATOMS      :    0
REMARK   3   HETEROGEN ATOMS         :    0
REMARK   3   SOLVENT ATOMS           :  376
REMARK   3
REMARK   3  B VALUES.
REMARK   3   FROM WILSON PLOT          (A**2) : 27.8
REMARK   3   MEAN B VALUE      (OVERALL, A**2) : 37.3
REMARK   3   OVERALL ANISOTROPIC B VALUE.
REMARK   3    B11 (A**2) : -0.85
REMARK   3    B22 (A**2) :  3.93
REMARK   3    B33 (A**2) : -3.08
REMARK   3    B12 (A**2) :  0.00
REMARK   3    B13 (A**2) :  0.00
REMARK   3    B23 (A**2) :  0.00
REMARK   3
REMARK   3  BULK SOLVENT MODELING.
REMARK   3   METHOD USED : FLAT MODEL
REMARK   3   KSOL        : 0.338594
REMARK   3   BSOL        : 46.0594 (A**2)
REMARK   3
REMARK   3  ESTIMATED COORDINATE ERROR.
REMARK   3   ESD FROM LUZZATI PLOT       (A) : 0.25
REMARK   3   ESD FROM SIGMAA             (A) : 0.19
REMARK   3   LOW RESOLUTION CUTOFF       (A) : 5.00
REMARK   3
REMARK   3  CROSS-VALIDATED ESTIMATED COORDINATE ERROR.
REMARK   3   ESD FROM C-V LUZZATI PLOT   (A) : 0.31
REMARK   3   ESD FROM C-V SIGMAA         (A) : 0.22
REMARK   3
REMARK   3  RMS DEVIATIONS FROM IDEAL VALUES.
REMARK   3   BOND LENGTHS                (A) : 0.005
REMARK   3   BOND ANGLES           (DEGREES) : 0.9
REMARK   3   DIHEDRAL ANGLES       (DEGREES) : 21.0
REMARK   3   IMPROPER ANGLES       (DEGREES) : 0.70
REMARK   3
```

```
REMARK   3  ISOTROPIC THERMAL MODEL : RESTRAINED
REMARK   3
REMARK   3  ISOTROPIC THERMAL FACTOR RESTRAINTS.   RMS    SIGMA
REMARK   3   MAIN-CHAIN BOND          (A**2) :  1.49 ;  1.50
REMARK   3   MAIN-CHAIN ANGLE         (A**2) :  2.44 ;  2.00
REMARK   3   SIDE-CHAIN BOND          (A**2) :  1.95 ;  2.00
REMARK   3   SIDE-CHAIN ANGLE         (A**2) :  2.93 ;  2.50
REMARK   3
REMARK   3  NCS MODEL : NONE
REMARK   3
REMARK   3  NCS RESTRAINTS.                   RMS   SIGMA/WEIGHT
REMARK   3   GROUP  1  POSITIONAL         (A) : NULL  ; NULL
REMARK   3   GROUP  1  B-FACTOR        (A**2) : NULL  ; NULL
REMARK   3
REMARK   3  PARAMETER FILE  1  : protein_rep.param
REMARK   3  PARAMETER FILE  2  : water_rep.param
REMARK   3  PARAMETER FILE  3  : ion.param
REMARK   3  TOPOLOGY FILE  1   : protein.top
REMARK   3  TOPOLOGY FILE  2   : water.top
REMARK   3  TOPOLOGY FILE  4   : ion.top
REMARK   3
REMARK   3  OTHER REFINEMENT REMARKS: NULL
SSBOND   1 CYS L   23    CYS L   88
SSBOND   2 CYS H   22    CYS H   96
SSBOND   3 CYS A   23    CYS A   88
SSBOND   4 CYS B   22    CYS B   96
SSBOND   5 CYS C   94    CYS C  144
SSBOND   6 CYS C   99    CYS C  146
SSBOND   7 CYS D   94    CYS D  144
SSBOND   8 CYS D   99    CYS D  146
CRYST1  184.719   55.558   71.109  90.00  90.00  90.00 P 21 21 2    24
ORIGX1      1.000000  0.000000  0.000000        0.00000
ORIGX2      0.000000  1.000000  0.000000        0.00000
ORIGX3      0.000000  0.000000  1.000000        0.00000
SCALE1      0.005414  0.000000  0.000000        0.00000
SCALE2      0.000000  0.017999  0.000000        0.00000
SCALE3      0.000000  0.000000  0.014063        0.00000
```

【０３９４】

図４は、ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ２　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する。図４Ａは、空間充填表示における２つのＸＡＢ２　Ｆｖを示し、ＩＬ－１７Ａホモ二量体を略画表示で示す。図４Ｂは略画表示における２つのＸＡＢ２　Ｆｖ断片を示し、ＩＬ－１７Ａホモ二量体を空間充填表示で示す。ＸＡＢ２　Ｆｖの重鎖および軽鎖を、それぞれ、暗灰色および明灰色で示す。ＩＬ－１７Ａホモ二量体の一方の鎖を明灰色で示し、他方を暗灰色で示す。

【０３９５】

図５は、グリシンからバリンへの変異（それぞれ、Ｇ２８ＶおよびＧ６６Ｖ）を担持する、抗体Ｌ－ＣＤＲ１および外側ループ領域の詳細図としてのヒトＩＬ－１７AとのＸＡＢ２　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する。Ｇ６６Ｖ変異は、外側ループのコンフォメーション中の変化、ならびにＩＬ－１７Ａ残基Ｐｒｏ４２、Ａｒｇ４３およびＩｌｅ５１とのさらなる抗体－抗原接触をもたらす。ＸＡＢ２　Ｆｖを明灰色の略画で示し、ヒトＩＬ－１７Ａホモ二量体を灰色のより暗い影で示す。Ｉｌｅ５１はＰｒｏ４２およびＡｒｇ４３と同じＩＬ－１７Ａサブユニットに属さない。

【０３９６】

実施例６　親和性成熟により誘導される抗体バリアントのＸ線分析：ＸＡＢ５

ＸＡＢ５　Ｆｖをクローニングし、重鎖上にＣ末端ヘキサヒスチジンタグを有し、軽鎖上にＣ末端Ｓｔｒｅｐタグを有する大腸菌（E.coli）ＴＧｆ１－中で発現させた。組換えタンパク質を、ＰＢＳバッファー中での、Ｎｉ－キレートクロマトグラフィー、次いで、

ＳＰＸ－７５カラム上でのサイズ排除クロマトグラフィーにより精製した。ＬＣ－ＭＳ分析により、重鎖に関する予想された質量（１３７０３．４Ｄａ）、および２つの形態の軽鎖：全長（１１５ａａ；１２６２７．３Ｄａ；約２７％）およびトランケートされたＳｔｒｅｐタグ（Ａ１～Ｑ１１２；１２２２２．８Ｄａ；約７３％）の存在が示された。

【０３９７】

次いで、ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ５　Ｆｖ断片複合体を、標準的な方法を用いて調製した。簡単に述べると、ヒトＩＬ－１７Ａ（１．４ｍｇ）を、過剰のＸＡＢ５　Ｆｖ（３．４ｍｇ）と混合し、複合体を１０ｍＭ　ＴＲＩＳ　ｐＨ７．４、２５ｍＭ　ＮａＣｌ中でのＳ１００サイズ排除クロマトグラフィー上で泳動した。次いで、タンパク質複合体を限外濾過により１６．５ｍｇ／ｍｌまで濃縮し、結晶化した。

【０３９８】

標準的な結晶化プロトコールを行った。簡単に述べると、結晶を、シッティングドロップ中での蒸気拡散法を用いて、ＳＤ２　９６穴プレート中、１９℃で成長させた。タンパク質ストックを、１５％ＰＥＧ５，０００ＭＭＥ、０．１Ｍ　ＭＥＳ　ｐＨ６．５、０．２Ｍ硫酸アンモニウムを含有する結晶化バッファーと１：１で混合した。総液滴サイズは０．４μｌであった。Ｘ線データ収集の前に、１つの結晶を、２０％ＰＥＧ５，０００ＭＭＥ、４０％グリセロールを含む結晶化バッファーの１：１混合物中に簡単に移した後、液体窒素中で簡易冷却した。

【０３９９】

Ｘ線データ収集およびプロセッシングを、標準的なプロトコールを用いて実行した。簡単に述べると、３．１Å解像度のＸ線データを、Ｓｗｉｓｓ　Ｌｉｇｈｔ　Ｓｏｕｒｃｅ、ビームラインＸ１０ＳＡで、Ｐｉｌａｔｕｓ検出器、１．０００００ÅのＸ線照射を用いて収集した。合計で、それぞれ０．２５°の振動の７２０の画像を、５２０ｍｍの結晶－検出器距離で記録し、ＸＤＳソフトウェアパッケージを用いてプロセッシングした。結晶は、セルパラメータａ＝５５．３７Å、ｂ＝８４．０８Å、ｃ＝１５６．３５Å、α＝β＝γ＝９０°を有する空間群$C222_1$に属していた。３．１Å解像度でのＲ－ｓｙｍは８．９％であり、データ完全性は９９．７％であった。

【０４００】

構造を、以前に決定されたＸＡＢ２　Ｆｖ複合体から誘導された検索モデルを用いて、プログラムＰｈａｓｅｒを用いる分子置換により決定した。反復モデルの補正および精密化を、さらなる有意な改善を結晶モデルに対して行うことができなくなるまで、Ｃｏｏｔ（Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃ　Ｏｂｊｅｃｔ－Ｏｒｉｅｎｔｅｄ　Ｔｏｏｌｋｉｔ）およびＣＮＸ（Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｙ　＆　ＮＭＲ　ｅＸｐｌｏｒｅｒ）バージョン２００２を用いて実施した。全てのデータに関する最終的なＲ－およびＲ－フリーは、それぞれ、０．２２２および０．３０５であった。最終的な精密化されたモデルは、それぞれ、０．００８Åおよび１．２°の理想的な結合長および結合角に由来する平均二乗偏差（ＲＭＳＤ）を示した。

【０４０１】

結果

ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ５　Ｆｖ複合体のＸ線精密化の結果を表１５に提供し、この複合体の三次元構造を図６に示す。この結晶構造において、ＸＡＢ５　Ｆｖ複合体は正確な結晶学的２倍対称を有する：結晶の非対称単位は二量体複合体の全体の半分しか含有しない。ＸＡＢ５　Ｆｖは両方のＩＬ－１７Ａサブユニットとの接触を作るが、分子間接触の大部分は一方のサブユニットのみに対するものである（ＸＡＢ５　Ｆｖにより埋められたＩＬ－１７Ａ表面の約９０％は一方のＩＬ－１７Ａサブユニットによって寄与される）。Ｘ線結晶分析により、バリアント抗体ＸＡＢ５が標的特異性を保持し、親ＸＡＢ１抗体と本質的に同じエピトープに高い親和性で結合することが確認された。しかしながら、ＸＡＢ５複合体構造においては、軽鎖ＣＤＲＬ１はヒトＩＬ－１７Ａへの結合が増強された３つの点突然変異を担持する。ＸＡＢ５軽鎖のＴｒｐ３１はＩＬ－１７ＡのＴｙｒ８５、より低い程度で、ＩＬ－１７ＡのＰｈｅ１３３との強い疎水性／芳香族相互作用に関与

する。ＸＡＢ５軽鎖のＡｓｎ３０は、ＩＬ－１７ＡのＰｒｏ１３０の主鎖カルボニルにＨ結合を提供し、Ｌｅｕ４９（同じＩＬ－１７Ａサブユニット）およびＶａｌ４５（他のＩＬ－１７Ａサブユニット）とのｖａｎ　ｄｅｒ　Ｗａａｌｓ接触にある。ＸＡＢ５軽鎖のＧｌｕ３２は、分子内Ｈ結合相互作用を介してＣＤＲＬ１ループを安定化する。さらに、Ｇｌｕ３２は、ＩＬ－１７ＡのＡｒｇ１２４との好ましい静電相互作用を作るが、「ヘッドトゥヘッド」の塩架橋相互作用には関与しない（図７）。

【０４０２】

【表１５】

表 15. プログラムCNXにより得られるIL-17AとのXAB5 Fv複合体のX線精密化

```
REMARK   3
REMARK   3 REFINEMENT.
REMARK   3   PROGRAM     : CNX 2002
REMARK   3   AUTHORS     : Brunger, Adams, Clore, Delano,
REMARK   3                 Gros, Grosse-Kunstleve, Jiang,
REMARK   3                 Kuszewski, Nilges, Pannu, Read,
REMARK   3                 Rice, Simonson, Warren
REMARK   3                   and
REMARK   3                 Accelrys Inc.,
REMARK   3                 (Badger, Berard, Kumar, Szalma,
REMARK   3                  Yip, Dzakula).
REMARK   3
REMARK   3  DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK   3   RESOLUTION RANGE HIGH (ANGSTROMS) : 3.11
REMARK   3   RESOLUTION RANGE LOW  (ANGSTROMS) :  46.25
REMARK   3   DATA CUTOFF           (SIGMA(F)) : 0.0
REMARK   3   DATA CUTOFF HIGH         (ABS(F)) :  3778977.84
REMARK   3   DATA CUTOFF LOW          (ABS(F)) :    0.000000
REMARK   3   COMPLETENESS (WORKING+TEST)   (%) : 99.0
REMARK   3   NUMBER OF REFLECTIONS             :  6801
REMARK   3
REMARK   3  FIT TO DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK   3   CROSS-VALIDATION METHOD         : THROUGHOUT
REMARK   3   FREE R VALUE TEST SET SELECTION  : RANDOM
REMARK   3   R VALUE           (WORKING SET) : 0.222
REMARK   3   FREE R VALUE                    : 0.305
REMARK   3   FREE R VALUE TEST SET SIZE   (%) :  5.0
REMARK   3   FREE R VALUE TEST SET COUNT      :   340
REMARK   3   ESTIMATED ERROR OF FREE R VALUE  : 0.017
REMARK   3
REMARK   3  FIT IN THE HIGHEST RESOLUTION BIN.
REMARK   3   TOTAL NUMBER OF BINS USED           :  6
REMARK   3   BIN RESOLUTION RANGE HIGH       (A) : 3.10
REMARK   3   BIN RESOLUTION RANGE LOW        (A) : 3.29
REMARK   3   BIN COMPLETENESS (WORKING+TEST) (%) : 89.9
REMARK   3   REFLECTIONS IN BIN    (WORKING SET) :   961
REMARK   3   BIN R VALUE           (WORKING SET) : 0.293
REMARK   3   BIN FREE R VALUE                    : 0.403
REMARK   3   BIN FREE R VALUE TEST SET SIZE  (%) :  4.9
REMARK   3   BIN FREE R VALUE TEST SET COUNT     :    50
REMARK   3   ESTIMATED ERROR OF BIN FREE R VALUE : 0.057
REMARK   3
REMARK   3  NUMBER OF NON-HYDROGEN ATOMS USED IN REFINEMENT.
REMARK   3   PROTEIN ATOMS           : 2492
REMARK   3   NUCLEIC ACID ATOMS      :    0
REMARK   3   HETEROGEN ATOMS         :    5
REMARK   3   SOLVENT ATOMS           :    4
REMARK   3
REMARK   3  B VALUES.
REMARK   3   FROM WILSON PLOT           (A**2) : 85.2
REMARK   3   MEAN B VALUE      (OVERALL, A**2) : 71.0
REMARK   3   OVERALL ANISOTROPIC B VALUE.
REMARK   3    B11 (A**2) : 23.21
REMARK   3    B22 (A**2) :  7.23
REMARK   3    B33 (A**2) :-30.44
REMARK   3    B12 (A**2) :  0.00
REMARK   3    B13 (A**2) :  0.00
```

```
REMARK   3   B23 (A**2) :  0.00
REMARK   3
REMARK   3  BULK SOLVENT MODELING.
REMARK   3   METHOD USED : FLAT MODEL
REMARK   3   KSOL        : 0.389339
REMARK   3   BSOL        : 59.5295 (A**2)
REMARK   3
REMARK   3  ESTIMATED COORDINATE ERROR.
REMARK   3   ESD FROM LUZZATI PLOT       (A) : 0.35
REMARK   3   ESD FROM SIGMAA             (A) : 0.42
REMARK   3   LOW RESOLUTION CUTOFF       (A) : 5.00
REMARK   3
REMARK   3  CROSS-VALIDATED ESTIMATED COORDINATE ERROR.
REMARK   3   ESD FROM C-V LUZZATI PLOT    (A) : 0.51
REMARK   3   ESD FROM C-V SIGMAA          (A) : 0.45
REMARK   3
REMARK   3  RMS DEVIATIONS FROM IDEAL VALUES.
REMARK   3   BOND LENGTHS                 (A) : 0.008
REMARK   3   BOND ANGLES            (DEGREES) : 1.2
REMARK   3   DIHEDRAL ANGLES        (DEGREES) : 23.1
REMARK   3   IMPROPER ANGLES        (DEGREES) : 0.73
REMARK   3
REMARK   3  ISOTROPIC THERMAL MODEL : RESTRAINED
REMARK   3
REMARK   3  ISOTROPIC THERMAL FACTOR RESTRAINTS.    RMS    SIGMA
REMARK   3   MAIN-CHAIN BOND              (A**2) :  1.40 ;  1.50
REMARK   3   MAIN-CHAIN ANGLE             (A**2) :  2.49 ;  2.00
REMARK   3   SIDE-CHAIN BOND              (A**2) :  1.82 ;  2.00
REMARK   3   SIDE-CHAIN ANGLE             (A**2) :  2.93 ;  2.50
REMARK   3
REMARK   3  NCS MODEL : NONE
REMARK   3
REMARK   3  NCS RESTRAINTS.                      RMS   SIGMA/WEIGHT
REMARK   3   GROUP  1  POSITIONAL           (A) : NULL  ; NULL
REMARK   3   GROUP  1  B-FACTOR          (A**2) : NULL  ; NULL
REMARK   3
REMARK   3  PARAMETER FILE  1  : protein_rep.param
REMARK   3  PARAMETER FILE  2  : water_rep.param
REMARK   3  PARAMETER FILE  3  : ion.param
REMARK   3  TOPOLOGY FILE  1   : protein_no_cter.top
REMARK   3  TOPOLOGY FILE  2   : water.top
REMARK   3  TOPOLOGY FILE  4   : ion.top
REMARK   3
REMARK   3  OTHER REFINEMENT REMARKS: NULL
SSBOND   1 CYS S   23    CYS S   88
SSBOND   2 CYS S   22    CYS S   96
SSBOND   3 CYS S   94    CYS S  144
SSBOND   4 CYS S   99    CYS S  146
CRYST1   55.372   84.082  156.350  90.00  90.00  90.00 C 2 2 21     24
ORIGX1      1.000000  0.000000  0.000000        0.00000
ORIGX2      0.000000  1.000000  0.000000        0.00000
ORIGX3      0.000000  0.000000  1.000000        0.00000
SCALE1      0.018060  0.000000  0.000000        0.00000
SCALE2      0.000000  0.011893  0.000000        0.00000
SCALE3      0.000000  0.000000  0.006396        0.00000
```

【０４０３】

図６は、ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ５　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する。正確な結晶学的２倍対称を有する完全ホモ二量体複合体をここに示す。図６Ａは空間充填表示における２つのＸＡＢ５　Ｆｖ断片を示し、ＩＬ－１７Ａホモ二量体を略画表示で示す。図６Ｂは略画表示における２つのＸＡＢ５　Ｆｖ断片を示し、ＩＬ－１７Ａホモ二量体を空間充填表示で示す。ＸＡＢ５　Ｆｖの重鎖および軽鎖を、それぞれ、暗灰色および明灰色

で示す。ＩＬ－１７Ａホモ二量体の一方の鎖を明灰色で示し、他方を暗灰色で示す。

【０４０４】

図７は、ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ５　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する。構造誘導性バイアスライブラリー手法により見出された３つの変異を担持する抗体Ｌ－ＣＤＲ１の詳細図：Ａｓｎ３０、Ｔｒｐ３１およびＧｌｕ３２。これらのＸＡＢ５側鎖は、抗原ヒトＩＬ－１７Ａ、特に、ＩＬ－１７Ａ残基Ｔｙｒ８５、Ｐｈｅ１３３、Ａｒｇ１２４、Ｐｒｏ１３０、Ｌｅｕ４９（全て同じＩＬ－１７Ａサブユニットに由来する）およびＶａｌ４５（他のＩＬ－１７Ａサブユニットに由来する）に対する新しい結合相互作用に寄与する。

【０４０５】

実施例７　親和性成熟により誘導される抗体バリアントのＸ線分析：ＸＡＢ４

ＸＡＢ４　Ｆｖをクローニングし、重鎖上のＣ末端ヘキサヒスチジンタグを有し、軽鎖上のＣ末端Ｓｔｒｅｐタグを有する大腸菌（E.coli）ＴＧ１細胞中で発現させた。組換えタンパク質を、Ｎｉ－キレートクロマトグラフィーにより精製した。

【０４０６】

次いで、ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ４　Ｆｖ断片複合体を、標準的な方法を用いて調製した。簡単に述べると、ヒトＩＬ－１７Ａ（０．５ｍｇ）を過剰のＸＡＢ４　Ｆｖ（１．２ｍｇ）と混合し、複合体を、１０ｍＭ　ＴＲＩＳ　ｐＨ７．４、２５ｍＭ　ＮａＣｌ中でのＳＰＸ－７５サイズ排除クロマトグラフィー上で泳動した。次いで、タンパク質複合体を限外濾過により６．９ｍｇ／ｍｌまで濃縮し、結晶化した。

【０４０７】

標準的な結晶化プロトコールを行った。簡単に述べると、結晶を、シッティングドロップ中での蒸気拡散法を用いて、ＶＤＸ　２４穴プレート中、１９℃で成長させた。タンパク質ストックを、１５％ＰＥＧ５，０００ＭＭＥ、０．１Ｍ　ＭＥＳ　ｐＨ６．５、０．２Ｍ硫酸アンモニウムを含有する結晶化バッファーと２：１で混合した。総液滴サイズは３．０μｌであった。Ｘ線データ収集の前に、１つの結晶を、２５％ＰＥＧ５，０００ＭＭＥ、２０％グリセロールを含む結晶化バッファーの１：１混合物中に簡単に移した後、液体窒素中で簡易冷却した。

【０４０８】

Ｘ線データ収集およびプロセッシングを、標準的なプロトコールを用いて実行した。簡単に述べると、３．１５Å解像度のＸ線データを、Ｓｗｉｓｓ　Ｌｉｇｈｔ　Ｓｏｕｒｃｅ、ビームラインＸ１０ＳＡで、Ｐｉｌａｔｕｓ検出器、０．９９９８４ÅのＸ線照射を用いて収集した。合計で、それぞれ０．２５°の振動の７２０の画像を、５００ｍｍの結晶－検出器距離で記録し、ＸＤＳソフトウェアパッケージを用いてプロセッシングした。結晶は、セルパラメータａ＝５５．７６Å、ｂ＝８７．１１Å、ｃ＝１５６．３１Å、α＝β＝γ＝９０°を有する空間群$C222_1$に属していた。３．１５Å解像度でのＲ－ｓｙｍは５．５％であり、データ完全性は９９．９％であった。

【０４０９】

ＸＡＢ４　Ｆｖ複合体の結晶はＸＡＢ５　Ｆｖ複合体の結晶と高度に同形であったため（実施例６）、後者の構造を、プログラムＰｈａｓｅｒを用いる分子置換により構造決定のための入力モデルとして用いた。反復モデルの補正および精密化を、さらなる有意な改善を結晶学的モデルに対して行うことができなくなるまで、Ｃｏｏｔ（Ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃ　Ｏｂｊｅｃｔ－Ｏｒｉｅｎｔｅｄ　Ｔｏｏｌｋｉｔ）およびＡｕｔｏｂｕｓｔｅｒバージョン１．１１．２（Ｂｕｓｔｅｒバージョン２．１１．２）を用いて実施した。全てのデータに関する最終的なＲ－およびＲ－フリーは、それぞれ、０．１９７および０．２５３であった。最終的な精密化されたモデルは、それぞれ、０．００９Åおよび１．０°の理想的な結合長および結合角に由来する平均二乗偏差（ＲＭＳＤ）を示した。

【０４１０】

（ｉ）結果

ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ４　Ｆｖ複合体のＸ線精密化の結果を表１６に提供し、この複合体の三次元構造を図８に示す。この結晶構造において、ＸＡＢ５複合体におけると同様（実施例６）、ＸＡＢ４　Ｆｖ複合体は正確な結晶学的２倍対称を有する：結晶の非対称単位は二量体複合体の全体の半分しか含有しない。ＸＡＢ４　Ｆｖは両方のＩＬ－１７Ａサブユニットとの接触を作るが、分子間接触の大部分は一方のサブユニットのみに対するものである（ＸＡＢ４　Ｆｖにより埋められたＩＬ－１７Ａ表面の９３％は一方のサブユニットによって寄与される）。Ｘ線結晶分析により、バリアント抗体ＸＡＢ４が標的特異性を保持し、親ＸＡＢ１抗体と本質的に同じエピトープに高い親和性で結合することが確認された。しかしながら、ＸＡＢ４複合体構造においては、ＸＡＢ５複合体構造におけると同様、軽鎖ＣＤＲＬ１はヒトＩＬ－１７Ａへの結合が増強された３つの点突然変異を担持する。ＸＡＢ５複合体について既に記載された通り（実施例６）、ＸＡＢ４のＴｒｐ３１はＩＬ－１７ＡのＴｙｒ８５、より低い程度で、ＩＬ－１７ＡのＰｈｅ１３３との強い疎水性／芳香族相互作用に関与する。ＸＡＢ４軽鎖のＡｓｎ３０は、ＩＬ－１７ＡのＰｒｏ１３０の主鎖カルボニルにＨ結合を提供し、Ｌｅｕ４９（同じＩＬ－１７Ａサブユニット）およびＶａｌ４５（他のＩＬ－１７Ａサブユニット）とのｖａｎ　ｄｅｒ　Ｗａａｌｓ接触にある。ＸＡＢ４軽鎖のＧｌｕ３２は、分子内Ｈ結合相互作用を介してＣＤＲＬ１ループを安定化する。さらに、Ｇｌｕ３２は、ＩＬ－１７ＡのＡｒｇ１２４との好ましい静電相互作用を作るが、「ヘッドトゥヘッド」の塩架橋相互作用には関与しない（図９）。ＸＡＢ４はまた、潜在的な脱アミド化部位を除去するように設計されたＡｓｎからＧｌｎへの変異の結果として、軽鎖の位置５６においてＸＡＢ１と異なる。Ｘ線分析により、ＸＡＢ４のＧｌｎ５６がタンパク質抗原残基Ｌｅｕ７６およびＴｒｐ９０に対する接触を作り、ＴｙｒＨ７およびＳｅｒ６４の溶媒接近性を低下させることが示される（図１０）。

【０４１１】

【表１６】

表 **16.** プログラムAutobusterにより得られるIL-17AとのXAB4 Fv複合体のX線精密化

```
REMARK   3
REMARK   3 REFINEMENT.
REMARK   3   PROGRAM     : BUSTER 2.11.2
REMARK   3   AUTHORS     : BRICOGNE,BLANC,BRANDL,FLENSBURG,KELLER,
REMARK   3               : PACIOREK,ROVERSI,SHARFF,SMART,VONRHEIN,WOMACK;
REMARK   3               : MATTHEWS,TEN EYCK,TRONRUD
REMARK   3
REMARK   3  DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK   3   RESOLUTION RANGE HIGH (ANGSTROMS) : 3.15
REMARK   3   RESOLUTION RANGE LOW  (ANGSTROMS) : 78.15
REMARK   3   DATA CUTOFF           (SIGMA(F)) : 0.0
REMARK   3   COMPLETENESS FOR RANGE       (%) : 99.85
REMARK   3   NUMBER OF REFLECTIONS            : 6881
REMARK   3
REMARK   3  FIT TO DATA USED IN REFINEMENT.
REMARK   3   CROSS-VALIDATION METHOD          : THROUGHOUT
REMARK   3   FREE R VALUE TEST SET SELECTION   : RANDOM
REMARK   3   R VALUE      (WORKING + TEST SET) : 0.1998
REMARK   3   R VALUE           (WORKING SET) : 0.1972
REMARK   3   FREE R VALUE                     : 0.2531
REMARK   3   FREE R VALUE TEST SET SIZE    (%) : 5.01
REMARK   3   FREE R VALUE TEST SET COUNT      : 345
REMARK   3   ESTIMATED ERROR OF FREE R VALUE   : NULL
REMARK   3
REMARK   3  FIT IN THE HIGHEST RESOLUTION BIN.
REMARK   3   TOTAL NUMBER OF BINS USED            : 5
REMARK   3   BIN RESOLUTION RANGE HIGH   (ANGSTROMS) : 3.15
REMARK   3   BIN RESOLUTION RANGE LOW    (ANGSTROMS) : 3.52
REMARK   3   BIN COMPLETENESS (WORKING+TEST)     (%) : 99.85
REMARK   3   REFLECTIONS IN BIN (WORKING + TEST SET) : 1916
REMARK   3   BIN R VALUE       (WORKING + TEST SET) : 0.2376
REMARK   3   REFLECTIONS IN BIN       (WORKING SET) : 1820
REMARK   3   BIN R VALUE            (WORKING SET) : 0.2326
REMARK   3   BIN FREE R VALUE                     : 0.3295
REMARK   3   BIN FREE R VALUE TEST SET SIZE      (%) : 5.01
REMARK   3   BIN FREE R VALUE TEST SET COUNT        : 96
REMARK   3   ESTIMATED ERROR OF BIN FREE R VALUE    : NULL
REMARK   3
```

```
REMARK   3  NUMBER OF NON-HYDROGEN ATOMS USED IN REFINEMENT.
REMARK   3   PROTEIN ATOMS      : 2499
REMARK   3   NUCLEIC ACID ATOMS  : 0
REMARK   3   HETEROGEN ATOMS     : 5
REMARK   3   SOLVENT ATOMS       : 0
REMARK   3
REMARK   3  B VALUES.
REMARK   3   FROM WILSON PLOT         (A**2) : 102.42
REMARK   3   MEAN B VALUE      (OVERALL, A**2) : 124.95
REMARK   3   OVERALL ANISOTROPIC B VALUE.
REMARK   3    B11 (A**2) :  -11.5511
REMARK   3    B22 (A**2) :  -28.0012
REMARK   3    B33 (A**2) :   39.5523
REMARK   3    B12 (A**2) :    0.0000
REMARK   3    B13 (A**2) :    0.0000
REMARK   3    B23 (A**2) :    0.0000
REMARK   3
REMARK   3  ESTIMATED COORDINATE ERROR.
REMARK   3   ESD FROM LUZZATI PLOT              (A) : 0.787
REMARK   3   DPI (BLOW EQ-9) BASED ON FREE R VALUE    (A) : 0.474
REMARK   3
REMARK   3   REFERENCES: BLOW, D. (2002) ACTA CRYST D58, 792-797
REMARK   3
REMARK   3  CORRELATION COEFFICIENTS.
REMARK   3   CORRELATION COEFFICIENT FO-FC      : 0.9113
REMARK   3   CORRELATION COEFFICIENT FO-FC FREE : 0.8848
REMARK   3
REMARK   3  X-RAY WEIGHT : 20.89
REMARK   3
REMARK   3  GEOMETRY FUNCTION.
REMARK   3   RESTRAINT LIBRARIES.
REMARK   3    NUMBER OF LIBRARIES USED :   8
REMARK   3    LIBRARY  1 : protgeo_eh99.dat (V1.8) 20110121  STANDARD
REMARK   3              AMINO ACID DICTIONARY. BONDS AND ANGLES FROM
REMARK   3              ENGH AND HUBER EH99. OTHER VALUES BASED ON
REMARK   3              PREVIOUS TNT OR TAKEN FROM CCP4. INCLUDES
REMARK   3              HYDROGEN ATOMS.
REMARK   3    LIBRARY  2 : exoticaa.dat (V1.8) 20100430  COLLECTION OF
REMARK   3              NON-STANDARD AMINO ACIDS, MAINLY EH91 WITHOUT
REMARK   3              IDEAL DISTANCE INFO
REMARK   3    LIBRARY  3 : nuclgeo.dat (V1.14) 20091104
REMARK   3    LIBRARY  4 : bcorrel.dat (V1.15) 20080423
REMARK   3    LIBRARY  5 : contact.dat (V1.20.2.1) 20110510
REMARK   3    LIBRARY  6 : idealdist_contact.dat (V1.7) 20110119
REMARK   3              IDEAL-DISTANCE CONTACT TERM DATA AS USED IN
REMARK   3              PROLSQ. VALUES USED HERE ARE BASED ON THE REFMAC
REMARK   3              5.5 IMPLEMENTATION.
REMARK   3    LIBRARY  7 : restraints for SO4 (SULFATE ION) from cif
REMARK   3              dictionary SO4.cif using refmacdict2tnt revision
REMARK   3              1.23.2.7; buster common-compounds v 1.0 (05 May
REMARK   3              2011)
REMARK   3    LIBRARY  8 : assume.dat (V1.10) 20110113
REMARK   3
REMARK   3  NUMBER OF GEOMETRIC FUNCTION TERMS DEFINED : 15
REMARK   3  TERM                    COUNT    WEIGHT   FUNCTION.
REMARK   3   BOND LENGTHS            :  2566 ;  2.00 ;  HARMONIC
REMARK   3   BOND ANGLES             :  3486 ;  2.00 ;  HARMONIC
REMARK   3   TORSION ANGLES          :   860 ;  2.00 ;  SINUSOIDAL
REMARK   3   TRIGONAL CARBON PLANES  :    61 ;  2.00 ;  HARMONIC
REMARK   3   GENERAL PLANES          :   369 ;  5.00 ;  HARMONIC
```

```
REMARK   3   ISOTROPIC THERMAL FACTORS :   2566 ;  20.00 ;  HARMONIC
REMARK   3   BAD NON-BONDED CONTACTS   :   NULL ;   NULL ;  NULL
REMARK   3   IMPROPER TORSIONS         :   NULL ;   NULL ;  NULL
REMARK   3   PSEUDOROTATION ANGLES     :   NULL ;   NULL ;  NULL
REMARK   3   CHIRAL IMPROPER TORSION   :    323 ;   5.00 ;  SEMIHARMONIC
REMARK   3   SUM OF OCCUPANCIES        :   NULL ;   NULL ;  NULL
REMARK   3   UTILITY DISTANCES         :   NULL ;   NULL ;  NULL
REMARK   3   UTILITY ANGLES            :   NULL ;   NULL ;  NULL
REMARK   3   UTILITY TORSION           :   NULL ;   NULL ;  NULL
REMARK   3   IDEAL-DIST CONTACT TERM   :   2984 ;   4.00 ;  SEMIHARMONIC
REMARK   3
REMARK   3  RMS DEVIATIONS FROM IDEAL VALUES.
REMARK   3   BOND LENGTHS                 (A) :    0.009
REMARK   3   BOND ANGLES            (DEGREES) :     1.00
REMARK   3   PEPTIDE OMEGA TORSION ANGLES (DEGREES) :    4.39
REMARK   3   OTHER TORSION ANGLES       (DEGREES) :    18.96
REMARK   3
REMARK   3  SIMILARITY.
REMARK   3   NCS.
REMARK   3    NCS REPRESENTATION : NONE
REMARK   3   TARGET RESTRAINTS.
REMARK   3    TARGET REPRESENTATION : LSSR
REMARK   3    TARGET STRUCTURE : xab5_il17a_complex_final_buster.pdb
REMARK   3
REMARK   3  TLS DETAILS.
REMARK   3  NUMBER OF TLS GROUPS  :          3
REMARK   3
REMARK   3  TLS GROUP :          1
REMARK   3   SET : { H|* }
REMARK   3   ORIGIN FOR THE GROUP (A):   10.9676   -8.7396  -10.1379
REMARK   3   T TENSOR
REMARK   3    T11:  -0.1266 T22:    0.0257
REMARK   3    T33:  -0.2829 T12:   -0.3040
REMARK   3    T13:  -0.0312 T23:    0.1050
REMARK   3   L TENSOR
REMARK   3    L11:    7.4496 L22:    4.4770
REMARK   3    L33:    4.2880 L12:    1.1123
REMARK   3    L13:   -1.8044 L23:    3.0307
REMARK   3   S TENSOR
REMARK   3    S11:    0.2013 S12:    0.3070 S13:   -0.5774
REMARK   3    S21:    0.4752 S22:   -0.5377 S23:    0.7096
REMARK   3    S31:    1.0885 S32:   -1.0885 S33:    0.3364
REMARK   3
REMARK   3  TLS GROUP :          2
REMARK   3   SET : { I|* }
REMARK   3   ORIGIN FOR THE GROUP (A):   22.7365    0.7101  -35.1243
REMARK   3   T TENSOR
REMARK   3    T11:  -0.1883 T22:    0.1529
REMARK   3    T33:  -0.3560 T12:    0.0318
REMARK   3    T13:  -0.1985 T23:    0.0144
REMARK   3   L TENSOR
REMARK   3    L11:    2.7494 L22:    9.3427
REMARK   3    L33:    3.8648 L12:    0.8073
REMARK   3    L13:   -0.6650 L23:   -2.0544
REMARK   3   S TENSOR
REMARK   3    S11:    0.0485 S12:    0.3188 S13:    0.0579
REMARK   3    S21:    0.0595 S22:    0.1433 S23:    0.7000
REMARK   3    S31:    0.0050 S32:   -0.6066 S33:   -0.1917
REMARK   3
REMARK   3  TLS GROUP :          3
```

```
REMARK   3   SET : { L|* }
REMARK   3   ORIGIN FOR THE GROUP (A):   33.2517  -11.1794  -14.2151
REMARK   3   T TENSOR
REMARK   3    T11:    0.0667 T22:   -0.1645
REMARK   3    T33:   -0.2360 T12:    0.1870
REMARK   3    T13:   -0.2270 T23:   -0.1209
REMARK   3   L TENSOR
REMARK   3    L11:    3.3694 L22:    3.7848
REMARK   3    L33:    8.8916 L12:   -0.6497
REMARK   3    L13:   -2.6132 L23:    0.8234
REMARK   3   S TENSOR
REMARK   3    S11:   -0.0839 S12:   -0.2629 S13:   -0.1560
REMARK   3    S21:    0.3804 S22:    0.7574 S23:   -0.5378
REMARK   3    S31:    1.0885 S32:    1.0885 S33:   -0.6736
REMARK   3
REMARK   3  REFINEMENT NOTES.
REMARK   3   NUMBER OF REFINEMENT NOTES :   1
REMARK   3   NOTE   1 : IDEAL-DIST CONTACT TERM CONTACT SETUP. ALL ATOMS
REMARK   3             HAVE CCP4 ATOM TYPE FROM LIBRARY
REMARK   3
REMARK   3  OTHER REFINEMENT REMARKS: NULL
REMARK   3
SSBOND   1 CYS H   22    CYS H   96                  1555   1555  2.03
SSBOND   2 CYS I   94    CYS I  144                  1555   1555  2.05
SSBOND   3 CYS I   99    CYS I  146                  1555   1555  2.04
SSBOND   4 CYS L   23    CYS L   88                  1555   1555  2.07
CISPEP   1 TYR I   85    PRO I   86        0       3.67
CISPEP   2 GLU I  125    PRO I  126        0      -9.25
CISPEP   3 PRO I  126    PRO I  127        0       5.92
CISPEP   4 SER L    7    PRO L    8        0      -6.50
CISPEP   5 TYR L   94    PRO L   95        0      -6.52
CRYST1   55.760   87.109  156.306  90.00  90.00  90.00 C 2 2 21
```

【０４１２】

図８は、ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ４　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する。図８Ａは空間充填表示における２つのＸＡＢ４　Ｆｖ断片を示し、ＩＬ－１７Ａホモ二量体を略画表示で示す。図８Ｂは略画表示における２つのＸＡＢ４　Ｆｖ断片を示し、ＩＬ－１７Ａホモ二量体を空間充填表示で示す。ＸＡＢ４　Ｆｖの重鎖および軽鎖を、それぞれ暗灰色および明灰色で示す。ＩＬ－１７Ａホモ二量体の一方の鎖を明灰色で示し、他方を暗灰色で示す。

【０４１３】

図９は、構造誘導性バイアスライブラリー手法により見出された３つの変異を担持する抗体Ｌ－ＣＤＲ１の詳細図としての、ヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ４　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する：Ａｓｎ３０、Ｔｒｐ３１およびＧｌｕ３２。これらのＸＡＢ４側鎖は、抗原ヒトＩＬ－１７Ａ、特に、ＩＬ－１７Ａ残基Ｔｙｒ８５、Ｐｈｅ１３３、Ａｒｇ１２４、Ｐｒｏ１３０、Ｌｅｕ４９（全て同じＩＬ－１７Ａサブユニットに由来する）およびＶａｌ４５（他のＩＬ－１７Ａサブユニットに由来する）に対する新しい結合相互作用に寄与する。

【０４１４】

図１０は、Ａｓｎ５６からＧｌｎへの変異を示す抗体Ｌ－ＣＤＲ２の詳細図としてのヒトＩＬ－１７ＡとのＸＡＢ４　Ｆｖ複合体の三次元構造を提供する。このＸＡＢ４側鎖は、ＩＬ－１７Ａ残基Ｔｒｐ９０およびＬｅｕ７６への結合接触に寄与し、Ｔｙｒ６７およびＳｅｒ６４（全て同じＩＬ－１７Ａサブユニットに由来する）の溶媒接近性を低下させる。

【０４１５】

まとめると、Ｘ線結晶分析により、さらなる分析のために選択されたバリアント抗体が、その標的特異性を保持し、親ＸＡＢ１抗体と本質的に同じエピトープに高い親和性で結

合することが確認された。さらなる、または改善された結合接触の結果として、それぞれのバリアント抗体とＩＬ－１７Ａとのより緊密な結合が観察された（以下の表１７を参照されたい）。

【０４１６】

バリアント抗体のさらなる特徴付けを、以下に記載のように行った。

【０４１７】

【表１７】

表 17. XAB1, XAB2, XAB4およびXAB5により結合したIL-17Aエピトープ のX線分析：エピトープ残基の概要および構造に基づく定性的分類。

(*): 第2のIL-17Aサブユニットにより寄与される(contributed)残基。

エピトープ残基クラス	XAB1	XAB2	XAB4	XAB5
非常に重要なエピトープ残基	Arg 78, Glu 80, Trp 90	Arg 78, Glu 80, Trp 90	Arg 78, Glu 80, Tyr 85, Trp 90, Arg 124	Arg 78, Glu 80, Tyr 85, Trp 90, Arg 124
他の重要なエピトープ残基	Pro 82, Ser 87, Val 88, Arg 124	Arg 43*, Pro 82, Ser 87, Val 88, Arg 124	Pro 82, Ser 87, Val 88	Pro 82, Ser 87, Val 88
さらなる寄与 Additional contributions	Val 45*, Leu 49, Ile 51, Asp 81, Glu 83, Tyr 85, Asn 131, Lys 137*	Pro 42*, Val 45*, Leu 49, Ile 51, Asp 81, Glu 83, Tyr 85, Asn 131, Lys 137*	Val 45*, Leu 49, Asp 81, Glu 83, Pro 86, Pro 130, Phe 133, Lys 137*	Val 45*, Leu 49, Asp 81, Glu 83, Pro 86, Pro 130, Phe 133, Lys 137*
直接的な寄与がほとんどないか、または全くない Little or no direct contribution	Thr 44*, Leu 76, His 77, Asn 79, Arg 84, Pro 86, Lys 93, Glu 118*, Pro 130, Phe 133	Leu 76, His 77, Asn 79, Arg 84, Pro 86, Lys 93, Glu 118*, Pro 130, Phe 133	Arg 43*, Asn 50, Ser 64, Tyr 67, Leu 76, His 77, Asn 79, Arg 84, Glu 118*, Leu 122, Asn 131, Leu 135*	Arg 43*, Asn 50, Leu 76, His 77, Asn 79, Arg 84, Glu 118*, Leu 122, Asn 131, Leu 135*

【０４１８】

実施例８　Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）により測定される親和性測定および交差反応性

動的結合パラメータの決定を、光学バイオセンサＢｉａｃｏｒｅ（商標）Ｔ２００またはＴ１００（http://www.biacore.com）を用いる表面プラズモン共鳴測定により達成した。この技術は、リガンドの受容体への結合（k_a）および解離（k_d）に関する顕微鏡的

速度定数の標識を用いない決定を可能にする。したがって、それは抗体－抗原相互作用を特徴付けるのに特に適している。

【０４１９】

抗体のＢｉａｃｏｒｅ（商標）チップ表面への間接的結合を、固定化バッファー（１０ｍＭ酢酸ナトリウムｐＨ５．０）中の２５μｇ／ｍｌの抗ヒトＩｇ抗体（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ Ｂｉｏ－Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ＡＢ；カタログ番号ＢＲ－１００８－３９）により、または固定化バッファー（１０ｍＭ酢酸ナトリウムｐＨ５．０もしくはｐＨ４．０）中の２０μｇ／ｍｌのプロテインＡ（ＲｅｐｌｉＧｅｎ：ｒＰＡ－５０）により行った。

【０４２０】

抗体を、ブランクバッファー中で１．００または１．２５μｇ／ｍｌの最終濃度に希釈した。

【０４２１】

ＸＡＢ４またはＸＡＢ１の解離定数の決定のための親和性測定を、間接的カップリング／結合法（上記を参照されたい）を用いて、組換えｈｕＩＬ－１７Ａ（配列番号７８、例えば、０．１４～８．８ｎＭの２倍増加濃度）、組換えｈｕＩＬ－１７Ａ／Ｆヘテロ二量体（例えば、０．１３～８ｎＭの２倍増加濃度）、組換えｈｕＩＬ－１７Ｆ（配列番号７７；例えば、７．８～５００ｎＭの２倍増加濃度）、カニクイザルＩＬ－１７Ａ（配列番号７９；例えば、０．６３～４０ｎＭの２倍増加濃度）、アカゲザルＩＬ－１７Ａ（配列番号８２；例えば、１．６～１００ｎＭの２倍増加濃度）、マーモセットＩＬ－１７Ａ（配列番号８２；例えば、０．６３～４０ｎＭの２倍増加濃度）、組換えｍＩＬ－１７Ａ（配列番号８３；例えば、０．７８～５０ｎＭの２倍増加濃度）、組換えｍＩＬ－１７Ａ／Ｆ（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号５３９０－ＩＬ；例えば、１．２５～４０ｎＭの２倍増加濃度）、ラットＩＬ－１７Ａ（配列番号８５；例えば、０．７８～５０ｎＭの２倍増加濃度）について実施し、表面を１０ｍＭグリシンｐＨ１．７５または$MgCl_2$（３Ｍ）を用いて再生した。１つのチップ表面を被覆し、結合能力を有意に喪失させることなく再使用した。K_Dより下で開始し、K_Dより１０倍高い濃度で終わるようにリガンド濃度を選択した。

【０４２２】

類似するが同一ではない条件を用いて、ＸＡＢ２およびＸＡＢ３の親和性を測定した。

【０４２３】

動的痕跡を、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）Ｔ２００ Ｃｏｎｔｒｏｌ Ｓｏｆｔｗａｒｅバージョン１．０を用いて評価した。増加する濃度と共にこれらの痕跡の完全なセットを一緒に取り、ランと呼ぶ。２つのゼロ濃度試料（ブランクラン）をそれぞれの分析物濃度シリーズに含有させ、データ評価中の二重参照を可能にした。

【０４２４】

結果

抗ＩＬ－１７抗体ＸＡＢ４、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２およびＸＡＢ３の、ヒト、カニクイザル、マーモセット、アカゲザル、マウスおよびラットＩＬ－１７Ａ、ヒトおよびマウスＩＬ－１７Ａ／Ｆヘテロ二量体ならびにヒトＩＬ－１７Ｆへの結合を、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）技術を用いる表面プラズモン共鳴により決定した。結合（k_a）および解離（k_d）の動的速度定数、ならびに解離平衡定数（K_D）を算出した。

【０４２５】

ＸＡＢ４の親和性データを表１８に示し、ＸＡＢ１の親和性データを表１９に示し、ＸＡＢ２の親和性データを表２０に示し、ＸＡＢ３の親和性データを表２１に示す。ＸＡＢ１、ＸＡＢ２およびＸＡＢ３の親和性成熟は、ヒト、カニクイザル、マウスおよびラットＩＬ－１７Ａに対する親和性を増加させた。

【０４２６】

【表１８】

表 18. XAB4結合の親和性および動的速度定数(kinetic rate constants)

抗原	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
huIL-17A	4.1 ± 0.1 E+06	2.3 ± 0.1 E-05	5.7 ± 0.0 E-12
huIL-17A/F	8.9 ± 0.2 E+5	< 1.0 ± 0.0 E-05*	< 1.1 ± 0.0 E-11*
huIL-17F	n.d.	n.d.	n.d.
cynoIL-17A	4.1 ± 0.5 E+05	1.3 ± 0.0 E-05	3.1 ± 0.4 E-11
marmIL-17A	1.2 ± 0.0 E+06	2.2 ± 0.0 E-05	1.8 ± 0.0 E-11
rhesIL-17A	3.0 ± 0.1 E+05	1.2 ± 0.1 E-05	4.0 ± 0.1 E-11
mIL-17A	3.8 ± 0.1 E+05	6.2 ± 0.3 E-05	1.6 ± 0.1 E-10
mIL-17A/F	2.421E+05	6.305E-05	2.604 E-10
ラットIL-17A ratIL-17A	5.5 ± 0.4 E+05	4.6 ± 0.9 E-05	8.4 ± 1.0 E-11

n.d. = 決定不可能、適用される抗原濃度範囲が低すぎる、最も高い抗原濃度 (500-50 pM) で観察される参照フローセルへの抗原の非特異的結合。

* 機器により測定することができる限界の外側の解離速度 ($k_d < 1 \times 10^{-5}$ 1/s)

【０４２７】
【表１９】

表 19. XAB1結合の親和性および動的速度定数

抗原	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
huIL-17A	2.33E+06	9.39E-05	4.03E-11
huIL-17A/F	9.097E+05	0.001342	1.475E-09
huIL-17F	n.d.	n.d.	n.d.
cynoIL-17A	2.14E+05	1.13E-04	5.26E-10
rhesIL-17A	8.87E+05	9.97E-05	1.12E-09
mIL-17A	4.05E+05	1.43E-04	3.53E-10
mIL-17A/F	1.8757E+05	9.547E-04	5.093E-09
ratIL-17A	5.44E+05	1.64E-04	3.01E-10

n.d. = 決定不可能、適用される抗原濃度範囲が低すぎる、3つの最も高い抗原濃度 (500～50pM)で観察される参照フローセルへの抗原の非特異的結合。

【０４２８】

【表２０】

表 20. XAB2結合の親和性および動的速度定数

抗原	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
huIL-17A	4.09E+06	7.12E-05	1.76E-11

【０４２９】

【表２１】

表 21. XAB3結合の親和性および動的速度定数

抗原	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
huIL-17A	5.48E+06	5.01E-05	9.58E-12
huIL-17A/F	3.37E+06	1.03E-04	3.29E-11
huIL-17F	n.d.	n.d.	n.d.
cynoIL-17A	1.21E+06	4.23E-05	3.49E-11
mIL-17A	5.87E+05	1.01E-04	1.74E-10
ratIL-17A	9.05E+05	7.59E-05	8.26E-11

n.d. = 決定不可能

【０４３０】

ＸＡＢ２、ＸＡＢ３およびＸＡＢ５の親和性および動的速度定数は、ＸＡＢ４について観察されるものと同等である。

【０４３１】

実施例９　ＥＬＩＳＡにおけるＩＬ－１７Ａおよび他のファミリーメンバーへの結合

異なる抗原上での対象の抗体の滴定を実行した。簡単に述べると、ＥＬＩＳＡマイクロタイタープレート（Ｎｕｎｃ　ＩｍｍｕｎｏプレートＭａｘｉＳｏｒｐ：Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カタログ番号４－３９４５４Ａ）のウェルを、ＣａおよびＭｇを含まないリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）（１０ｘ；Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎカタログ番号１４２００－０８３）０．０２％NaN_3（Ｓｉｇｍａカタログ番号Ｓ－８０３２）中の１μｇ／ｍｌの組換えｈｕＩＬ－１７Ａ（配列番号７６；１．８ｍｇ／ｍｌ）、組換えｈｕＩＬ－１７Ａ／Ｆ（０．５９ｍｇ／ｍｌ）、組換えｈｕＩＬ－１７Ｆ（配列番号７７；１．８ｍｇ／ｍｌ）、組換えｈｕＩＬ－１７Ｂ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号１２４８ＩＢ／ＣＦ）、組換えｈｕＩＬ－１７Ｃ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号１２３４ＩＬ／ＣＦ）、組換えｈｕＩＬ－１７Ｄ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号１５０４ＩＬ／ＣＦ）、組換えｈｕＩＬ－１７Ｅ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号１２５８－ＩＬ／ＣＦ）、組換えｃｙｎｏＩＬ－１７Ａ（配列番号７９；０．２１ｍｇ／ｍｌ）、組換えｃｙｎｏＩＬ－１７Ｆ（配列番号８０；１．５２５ｍｇ／ｍｌ）、組換えｍＩＬ－１７Ａ（配列番号８３；２．８ｍｇ／ｍｌ）、組換えｍＩＬ－１７Ａ／Ｆ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号５３９０－ＩＬ）、組換えｍＩＬ－１７Ｆ（配列番号８４；０．２ｍｇ／ｍｌ）および組換えｒａｔＩＬ－１７Ａ（配列番号８５；３．８ｍｇ／ｍｌ）（１００μｌ／ウェル）で被覆し、４℃で一晩インキュベートした。

【０４３２】

次の日、マイクロタイタープレートを３００μｌのＰＢＳ／２％ＢＳＡ（画分Ｖ；Ｒｏｃｈｅカタログ番号１０７３５０９４００１）／０．０２％NaN_3で３７℃で１ｈ、遮

断した。次いで、プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０（Ｓｉｇｍａカタログ番号Ｐ７９４９）／０．０２％NaN_3で４回洗浄した。ＸＡＢ４またはＸＡＢ１を、室温で３ｈ、３組のウェル（１００μｌ／ウェル）中に１μｇ／ｍｌで添加した。

【０４３３】

プレートへの抗原の被覆を検証するために、対照抗体、特に、マウスｍＡｂ抗ｈｕＩＬ－１７Ｆ（Ｎｏｖａｒｔｉｓ、５μｇ／ｍｌ）、ヤギ抗ｈｕＩＬ－１７Ｂ（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＡＦ１２４８；１０μｇ／ｍｌ）、マウスｍＡｂ抗ｈｕＩＬ－１７Ｃ（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ１２３４；１０μｇ／ｍｌ）、ヤギ抗ｈｕＩＬ－１７Ｄ（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＡＦ１５０４；１０μｇ／ｍｌ）、マウスｍＡｂ抗ｈｕＩＬ－１７Ｅ（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ１２５８；１０μｇ／ｍｌ）、マウス抗ｍＩＬ－１７Ａまたは抗ｍＩＬ－１７Ａ／Ｆ（Ｎｏｖａｒｔｉｓ；１μｇ／ｍｌ）、およびラット抗ｍＩＬ－１７Ｆ（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ２０５７；１μｇ／ｍｌ）（ＰＢＳ、０．０２％NaN_3中１００μｌ／ウェル、ＲＴで３ｈ）を用いた。

【０４３４】

次いで、プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／０．０２％NaN_3で４回洗浄した。次いで、アルカリホスファターゼコンジュゲート化ヤギ抗ヒトＩｇＧ抗体（Ｓｉｇｍａカタログ番号Ａ９５４４）を、１／２００００の希釈率の試験抗体（１００μｌ／ウェル）をＲＴで２ｈ３０ｍｉｎにわたって受けたウェルに添加した。マウスｍＡｂを受けたこのウェルに、アルカリホスファターゼコンジュゲート化ヤギ抗マウスＩｇＧ抗体（Ｓｉｇｍａカタログ番号Ａ７４３４）を１／１００００の希釈率（１００μｌ／ウェル）でＲＴで２ｈ３０ｍｉｎにわたって添加した。アルカリホスファターゼコンジュゲート化マウス抗ヤギＩｇＧ抗体（Ｓｉｇｍａカタログ番号Ａ８０６２）を、１／５００００の希釈率（１００μｌ／ウェル）でＲＴで２ｈ３０ｍｉｎにわたってヤギ抗体に添加した。次いで、プレートを４回洗浄し、ジエタノールアミンバッファーｐＨ９．８に溶解し、１ｍｇ／ｍｌの最終濃度にした１００μｌの基質（ｐ－ニトロフェニルリン酸錠剤；Ｓｉｇｍａ；５ｍｇカタログ番号Ｎ９３８９；２０ｍｇカタログ番号Ｎ２７６５）を各ウェルに添加した。

【０４３５】

プレートを、４０５および４９０ｎｍのフィルターを用いてＳｐｅｃｔｒａ Ｍａｘ Ｍ５マイクロプレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ）中で３０ｍｉｎ後に読取った。値は３回の値の平均±ＳＥＭである。

【０４３６】

結果

これらの試験は、ＸＡＢ４およびＸＡＢ１がヒトおよびマウスＩＬ－１７Ａ、ならびにヒトおよびマウスＩＬ－１７Ａ／Ｆに結合することができることを示す。さらに、ＸＡＢ４がカニクイザルおよびラットＩＬ－１７Ａに結合することができることが示される。ヒト、カニクイザルおよびマウスＩＬ－１７Ｆへの結合ならびに他のヒトファミリーメンバー（ＩＬ－１７Ｂ、ＩＬ－１７Ｃ、ＩＬ－１７ＤおよびＩＬ－１７Ｅ）への結合は、これらの実験条件下では検出されなかった。

【０４３７】

【表２２】

表 22. ELISAによる、ヒト、カニクイザル、マウスおよびラットIL-17ファミリーメンバーへのXAB4およびXAB1の交差反応性

	XAB4 (1 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM) (mean ± SEM)	対照抗体 (1 または 10 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)	XAB1 (1 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)	対照抗体 (1 または 10 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)
hu IL-17A	2.471 ± 0.0448		1.302 ±0.0554	
hu IL-17A/F	2.137 ± 0.0429		1.222 ±0.0202	
hu IL-17F	0.049 ± 0.0056		0.032 ±0.0005	1.913 ± 0.0483
hu IL-17B	0.034 ± 0.0007	0.283 ± 0.0066	0.049 ±0.0013	1.441 ± 0.0283
hu IL-17C	0.036 ± 0.0002	0.290 ± 0.0027	0.032 ±0.0002	0.558 ± 0.0169
hu IL-17D	0.034 ± 0.0005	0.292 ± 0.0048	0.031 ±0.0010	0.867 ± 0.0372
hu IL-17E	0.035 ± 0.0014	0.833 ± 0.0239	0.033 ±0.0003	2.054 ± 0.0378
cyno IL-17A	1.926 ± 0.0355			
cyno IL-17F	0.085 ± 0.0336			
マウス IL-17A	1.585 ± 0.0428	1.086 ± 0.0119	1.439 ±0.0354	3.697 ± 0.0602
マウス IL-17A/F	2.263 ± 0.0243	1.142 ± 0.0315	1.762 ±0.0097	2.084 ± 0.0223
マウス IL-17F	0.098 ± 0.0060	1.294 ± 0.0134	0.044 ±0.0008	1.770 ± 0.0302
ﾗｯﾄ IL-17A	1.772 ± 0.1668			

【０４３８】

実施例１０　ＥＬＩＳＡによる他のヒト、マウスおよびラットインターロイキンとの交差反応性

別のセットの実験において、選択されたヒト、マウスまたはラットサイトカインに対する本開示の抗体の交差反応性を評価した。

【０４３９】

ＥＬＩＳＡマイクロタイタープレート（Ｎｕｎｃ　ＩｍｍｕｎｏプレートＭａｘｉＳｏｒｐ：Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎカタログ番号４－３９４５４Ａ）の３組のウェルを、ＣａおよびＭｇを含まないリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）（１０ｘ；Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎカタログ番号１４２００－０８３）０．０２％NaN_3（Ｓｉｇｍａカタログ番号Ｓ－８０３２）中、０．５μｇ／ｍｌで被覆した組換えｍＩＬ－６、組換えｍＩＬ－１２および組換えｍＴＮＦαを除いて、１μｇ／ｍｌで１００μｌ／ウェルの下記サイトカイン：組換えｈｕＩＬ１β（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、組換えｈｕＩＬ－３（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号２０３－ＩＬ／ＣＦ）、組換えｈｕＩＬ－４（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号２０４－ＩＬ／ＣＦ）、組換えｈｕＩＬ－６（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号２０６－ＩＬ－１０１０／ＣＦ）、組換えｈｕＩＬ－８（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号２０８－ＩＬ－０１０／ＣＦ）、組換えｈｕＩＬ－１２（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号２１９－ＩＬ－００５／ＣＦ）、組換えｈｕＩＬ－１３（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、組換えｈｕＩＬ－１７Ａ（配列番号７６）、組換えｈｕＩＬ－１７Ａ／Ｆ、組換えｈｕＩＬ－１７Ｆ（配列番号７７）、組換えｈｕＩＬ－１８（ＭＢＬカタログ番号Ｂ００３－５）、組換えｈｕＩＬ－２０（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、組換えｈｕＩＬ－２３（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号１２９０－ＩＬ－０１０／ＣＦ）、組換えｈｕＩＦＮγ（Ｒｏｃｈｅ）、組換えｈｕＴＮＦα（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、組換えｈｕＥＧＦ（Ｓｉｇｍａカタログ番号Ｅ９６４４．）、組換えｈｕＴＧＦβ２（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、組換えｍＩＬ－１β（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号４０１－ＭＬ）、組換えｍＩＬ－２（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）４０２－ＭＬ－０２０／ＣＦ）、組換えｍＩＬ－６（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号４０６－ＭＬ－０１０／ＣＦ）、組換えｍＩＬ－１２（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号４１９－ＭＬ－０１０／ＣＦ）、組換えｍＩＬ－１７Ａ（配列番号８３）、組換えｍＩＬ－１７Ａ／Ｆ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号５３９０－ＩＬ）、組換えｍＩＬ－１７Ｆ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号２０５７－ＩＬ／ＣＦ）、組換えｍＩＬ－１８（ＭＢＬカタログ番号Ｂ００４－５）、組換えｍＩＬ－２３（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号１８８７－ＭＬ）、組換えｍＩＦＮ－γ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号４８５－ＭＴ）、組換えｍＴＮＦα（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号４１０－ＭＴ）、組換えｒａｔＩＬ－４（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号５０４－ＲＬ／ＣＦ）、組換えｒａｔＩＬ－６（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号５０６－ＲＬ－０１０）、組換えｒａｔＩＬ－１２（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号１７６０－ＲＬ／ＣＦ）、組換えｒａｔＩＬ－１７Ａ（配列番号８５）、組換えｒａｔＩＬ－２３（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号３１３６－ＲＬ－０１０／ＣＦ）、組換えｒａｔＴＮＦα（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号５１０－ＲＴ／ＣＦ）で被覆し、４℃で一晩インキュベートした。

【０４４０】

次の日、マイクロタイタープレートを３００μｌのＰＢＳ／２％ＢＳＡ（画分Ｖ；Ｒｏｃｈｅカタログ番号１０７３５０９４００１）／０．０２％NaN_3で３７℃で１ｈ、遮断した。次いで、プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０（Ｓｉｇｍａカタログ番号Ｐ７９４９）／０．０２％NaN_3で４回洗浄した。

【０４４１】

本開示の抗体を、室温で３ｈ、１０μｇ／ｍｌ（１００μｌ／ウェル）で添加した。抗原のプレートへの被覆を検証するために、１００μｌ／ウェルの下記対照抗体：マウス抗ｈｕＩＬ１β（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ６０１）、マウス抗ｈｕＩＬ－３（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ６０３）、

マウス抗ｈｕＩＬ４（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ６０４）、マウス抗ｈｕＩＬ－６（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ２０６）、マウス抗ｈｕ－ＩＬ８（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ２０８）、マウス抗ｈｕＩＬ－１２（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ２１９）、マウス抗ｈｕＩＬ－１３（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、マウス抗ｈｕＩＬ－１７Ａ（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、マウス抗ｈｕＩＬ－１７Ｆ（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、マウス抗ｈｕＩＬ－１８（ＭＢＬ　カタログ番号Ｄ０４３－３）、マウス抗ｈｕＩＬ－２０（Ａｂｃａｍ　カタログ番号ａｂ５７２２７）、ヤギ抗ｈｕＩＬ－２３（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＡＦ１７１６）、マウス抗ｈｕＩＦＮ－γ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ２８５）、マウス抗ｈｕＴＮＦ－α（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ６１０）、マウス抗ｈｕ－ＥＧＦ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ２３６）、ヒト抗ｈｕＴＧＦβ２（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ラット抗ｍＩＬ－１β（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ４０１）、ラット抗ｍＩＬ－２（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ４０２）、ラット抗ｍＩＬ－６（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ４０６）、ラット抗ｍＩＬ－１２（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ４１９）、マウス抗ｍ／ラットＩＬ－１７Ａ（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ラット抗ｍＩＬ－１７Ｆ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ２０５７）、ラット抗ｍＩＬ－１８（ＭＢＬカタログ番号Ｄ０４７－３）、ラット抗ｍＩＦＮ－γ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ４８５）、ヤギ抗ｍＴＮＦα（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＡＦ－４１０－ＮＡ）、マウス抗ラットＩＬ－４（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ５０４）、ヤギ抗ラットＩＬ－６（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＡＦ５０６）、ヤギ抗ラットＩＬ－１２（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＡＦ１７６０）、マウス抗ラットＩＬ－２３（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ３５１０）、マウス抗ラットＴＮＦα（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ５１０）を用いた。それらを、ＲＴで３ｈ、ＰＢＳ、０．０２％NaH_3中、１または５μｇ／ｍｌで添加した。

【０４４２】

次いで、プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／０．０２％NaN_3で４回洗浄した。次いで、アルカリホスファターゼコンジュゲート化ヤギ抗ヒトＩｇＧ抗体（Ｓｉｇｍａカタログ番号Ａ９５４４）を、１／２００００の希釈率（１００μｌ／ウェル）でヒト抗体と共にウェルに添加した。アルカリホスファターゼコンジュゲート化ヤギ抗マウスＩｇＧ抗体（Ｓｉｇｍａカタログ番号Ａ１０４７）を、１／１００００の希釈率（１００μｌ／ウェル）でマウス抗体と共にウェルに添加した。アルカリホスファターゼコンジュゲート化ウサギ抗ヤギＩｇＧ抗体（Ｓｉｇｍａカタログ番号Ａ７６５０）を、１／１０００の希釈率（１００μｌ／ウェル）でヤギ抗体と共にウェルに添加し、アルカリホスファターゼコンジュゲート化ウサギ抗ラットＩｇＧ抗体（Ｓｉｇｍａカタログ番号Ａ６０６６）を１／２００００の希釈率（１００μｌ／ウェル）でラット抗体と共にウェルに添加した。二次抗体をＲＴで２ｈ３０ｍｉｎインキュベートした。次いで、プレートを４回洗浄し、ジエタノールアミンバッファーｐＨ９．８に溶解し、１ｍｇ／ｍｌの最終濃度にした１００μｌの基質（ｐ－ニトロフェニルリン酸錠剤；Ｓｉｇｍａ；５ｍｇカタログ番号Ｎ９３８９または２０ｍｇカタログ番号Ｎ２７６５）を各ウェルに添加した。

【０４４３】

プレートをＲＴで３０ｍｉｎ後または４℃でＯＮ後に、４０５および４９０ｎｍのフィルターを用いてＳｐｅｃｔｒａ　Ｍａｘ　Ｍ５マイクロプレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）中で読取った。値は３組の値の平均±ＳＥＭである。

【０４４４】

結果

得られたデータは、ＸＡＢ４とＸＡＢ１が両方ともヒト、マウスおよびラット起源のＩ

Ｌ－１７Ａならびにヒトおよびマウス起源のＩＬ－１７Ａ／Ｆに高度に選択的であることを示す。さらに、試験した条件下で、ヒトＩＬ－１７Ｆに対する１０μｇ／ｍｌでのＸＡＢ１の反応性（１μｇ／ｍｌでは見られない、上記を参照されたい）は、ＸＡＢ４については観察されない。試験した他のサイトカインに対する反応性は検出されなかった。

【０４４５】

【表２３】

表 23. ELISAによるヒトサイトカインへのXAB4およびXAB1の交差反応性

	XAB4 (10 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)	対照抗体 (5 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)	XAB1 (10 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)	対照抗体 (1 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)
IL1β	0.015 ± 0.0075	0.867 ± 0.0107	-0.110 ± 0.0901	3.071 ± 0.0486
IL3	0.167 ± 0.1288	0.732 ± 0.0194	-0.049 ± 0.0738	2.931 ± 0.0779
IL4	0.047 ± 0.0089	0.806 ± 0.0617	0.057 ± 0.0458	2.555 ± 0.1499
IL6	-0.015 ± 0.0103	1.452 ± 0.2020	-0.044 ± 0.0838	2.976 ± 0.1025
IL8	0.018 ± 0.0078	3.130 ± 0.0109	0.058 ± 0.0431	3.153 ± 0.1228
IL12	0.009 ± 0.0058	0.853 ± 0.0496	-0.097 ± 0.1600	2.964 ± 0.1370
IL13	0.019 ± 0.0085	2.639 ± 0.0309	0.125 ± 0.0706	2.639 ± 0.0309
IL17A	3.178 ± 0.0697	3.136 ± 0.0644	2.745 ± 0.0879	2.731 ± 0.0850
IL17A/F	3.100 ± 0.0458	3.024 ± 0.0816	2.644 ± 0.2517	3.024 ± 0.0816
IL17F	0.035 ± 0.0138	3.114 ± 0.0672	0.613 ± 0.4162	3.185 ± 0.0110
IL18	-0.001 ± 0.0234	3.313 ± 0.2080	-0.086 ± 0.0170	3.313 ± 0.2080
IL20	0.039 ± 0.0117	3.039 ± 0.0671	0.335 ± 0.2442	3.118 ± 0.0252
IL23	-0.022 ± 0.0450	3.435 ± 0.0878	0.085 ± 0.0678	3.350 ± 0.0886
IFN-γ	0.048 ± 0.0676	3.419 ± 0.0404	0.059 ± 0.0511	3.236 ± 0.0312
TNF-α	0.009 ± 0.0197	3.373 ± 0.0550	0.289 ± 0.0318	3.275 ± 0.0440
EGF	0.126 ± 0.0858	3.432 ± 0.1050	0.062 ± 0.0427	3.233 ± 0.1126
TGFβ2	0.018 ± 0.0190	3.397 ± 0.0358	0.146 ± 0.0653	3.246 ± 0.0303
BSA	0.009 ± 0.0194	0.010 ± 0.0192	0.043 ± 0.0033	0.149 ± 0.0558

【０４４６】

ＮＢ．負の値はブランク（特異的抗体を含まないウェルのＯ．Ｄ．値）が差し引かれるという事実によるものである。

【０４４７】

【表２４】

表 24. ELISAによるマウスサイトカインへのXAB4およびXAB1の交差反応性

	XAB4 (10 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)	対照抗体 (5 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)	XAB1 (10 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)	対照抗体 (5 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)
IL-1β	0.022 ± 0.0057	0.611 ± 0.0665	0.007 ± 0.0123	0.624 ± 0.0455
IL2	0.024 ± 0.0227	3.548 ± 0.1283	0.022 ± 0.0125	3.295 ± 0.0557
IL6	0.031 ± 0.0063	3.291 ± 0.0174	0.038 ± 0.0091	3.340 ± 0.1115
IL12	0.035 ± 0.0110	3.359 ± 0.0094	-0.005 ± 0.0121	3.295 ± 0.0331
IL17A	3.285 ± 0.0445	3.180 ± 0.0702	2.974 ± 0.0281	3.186 ± 0.0505
IL17A/F	3.342 ± 0.1047	3.407 ± 0.1102	3.169 ± 0.0340	3.214 ± 0.0145
IL17F	0.034 ± 0.0122	3.359 ± 0.0247	-0.058 ± 0.0326	3.264 ± 0.0309
IL18	0.054 ± 0.0149	2.650 ± 0.0227	0.022 ± 0.0123	2.572 ± 0.0145
IL23	0.058 ± 0.0139	0.601 ± 0.0314	0.009 ± 0.0007	0.590 ± 0.0378
IFN-γ	0.038 ± 0.0114	2.751 ± 0.0515	0.048 ± 0.0063	2.388 ± 0.2351
TNF-α	0.065 ± 0.0154	3.258 ± 0.1097	0.025 ± 0.0081	3.476 ± 0.0714
BSA	0.015 ± 0.0078	0.035 ± 0.0047	0.015 ± 0.0078	0.035 ± 0.0047

【０４４８】

ＮＢ．負の値はブランク（特異的抗体を含まないウェルのＯ．Ｄ．値）が差し引かれるという事実によるものである。

【０４４９】

【表２５】

表 25. ELISAによるラットサイトカインへのXAB4およびXAB1の交差反応性

	XAB4 (10 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)	対照抗体 (5 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)	XAB1 (10 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)	対照抗体 (5 μg/ml) O.D 値 (平均 ± SEM)
IL4	0.026 ± 0.0082	3.168 ± 0.0297	0.017 ± 0.0092	3.324 ± 0.1092
IL6	0.021 ± 0.0028	3.116 ± 0.0318	0.000 ± 0.0141	3.253 ± 0.1078
IL12	0.009 ± 0.0113	3.185 ± 0.0921	-0.007 ± 0.0082	3.310 ± 0.0692
IL17A	3.483 ± 0.0910	3.156 ± 0.0890	1.202 ± 0.0136	3.359 ± 0.0670
IL23	0.023 ± 0.0050	3.380 ± 0.2127	0.011 ± 0.0010	3.199 ± 0.1078
TNF-α	0.020 ± 0.0104	3.346 ± 0.1376	0.003 ± 0.0029	3.159 ± 0.0854
BSA	0.015 ± 0.0078	0.035 ± 0.0047	0.015 ± 0.0078	0.035 ± 0.0047

【０４５０】

ＮＢ．負の値はブランク（特異的抗体を含まないウェルのＯ．Ｄ．値）が差し引かれるという事実によるものである。

【０４５１】

実施例１１　ＩＬ－１７Ａ－ＩＬ－１７ＲＡおよびＩＬ－１７Ａ／Ｆ－ＩＬ－１７ＲＡのｉｎ　ｖｉｔｒｏ競合結合阻害アッセイ

ヒトＩＬ－１７ＲＡは、ストック溶液（ＢＴＰ２２５９９：１．６８ｍｇ／ｍｌ＝４６．２μＭ）から用いた。ＥＬＩＳＡマイクロタイタープレートを、ＰＢＳ／０．０２％NaN_3中のヒトＩＬ－１７ＲＡ（１００μｌ／ウェル、１μｇ／ｍｌ、約２７．５ｎＭ）で被覆した。次の日、プレートを、３７℃で１ｈ、３００μｌのＰＢＳ／２％ＢＳＡ／０．０２％NaN_3でブロッキングした。次いで、プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／０．０２％NaN_3で４回洗浄した。

【０４５２】

この調製後、抗体バリアント（５０μｌ、ＩＬ－１７Ａについては１２ｎＭ～０．１２ｎＭおよびＩＬ－１７Ａ／Ｆについては１２００ｎＭ～４０ｎＭ、３のステップ）の滴定を、室温で３０分間、ヒトＩＬ－１７Ａビオチン（０．９４ｎＭで５０μｌ）またはＩＬ－１７Ａ／Ｆ（３１ｎＭで５０μｌ）と共に事前にインキュベートした。

【０４５３】

１００μｌの混合物を、室温で３時間３０分にわたってウェルに添加した。ＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／０．０２％NaN_3で４回洗浄した後、アルカリホスファターゼコンジュゲート化ストレプトアビジンを１／１００００の最終希釈率（１００μｌ／ウェル）で添加した。室温で４５分後、プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／０．０２％NaN_3で再度４回洗浄し、ジエタノールアミンバッファーｐＨ９．８中のｐ－ニトロフェニルリン酸基質（１ｍｇ／ｍｌ）を添加した（１００μｌ／ウェル）。

【０４５４】

プレートを、３０分後にＳｐｅｃｔｒａ　Ｍａｘ　Ｍ５マイクロプレートリーダー、フィルター４０５および４９０ｎｍ中で読取った（３回）。異なる抗体バリアントの阻害の百分率およびIC_{50}の算出を、４パラメータロジスティックモデル（Ｅｘｃｅｌ　Ｘｌｆｉｔ；ＦＩＴモデル２０５）を用いて行った。

【０４５５】

結果

データは、ＸＡＢ４とＸＡＢ１が両方ともｈｕＩＬ－１７ＡおよびｈｕＩＬ－１７Ａ／ＦのｈｕＩＬ－１７ＲＡへの結合を遮断することができることを示す。ＩＬ－１７ＡおよびＩＬ－１７Ａ／Ｆに対するＸＡＢ４の親和性が高いほど、阻害能力が高いことを反映する。IC_{50}値を表中に報告する。ＩＬ－１７Ａ／Ｆ－ＩＬ－１７ＲＡ相互作用を遮断するのに必要とされるより高い濃度は、ＩＬ－１７Ａ／Ｆの約３０倍より高い濃度をアッセイにおいて用いたという事実によって最も説明される。抗体はＡ／ＦのＡサブユニットに結合し、したがって、ＩＬ－１７ＲＡへのＦサブユニットの結合を防止することができない。しかしながら、ＩＬ－１７ＲＡへのＦの結合は、３００ｎＭ範囲ではむしろ弱い。

【０４５６】

【表２６】

表 26. XAB4およびXAB1はhuIL-17RAへのhuIL-17AおよびhuIL-17A/Fの結合を阻害する

リガンド/受容体 相互作用	XAB4 IC50 (nM) (平均 ± SEM)	XAB1 IC50 (nM) (平均 ± SEM)	対照抗体 (nM)
huIL-17A\huIL-17RA	0.321 ± 0.037	0.830 ± 0.112	>60
huIL-17A/F\huIL-17RA	153.9 ± 18.9	301.3 ± 51.9	

【０４５７】

実施例１２　本開示の抗体バリアントによるヒトＩＬ－１７ＡおよびＩＬ－１７Ａ／Ｆ活性のｉｎ　ｖｉｔｒｏでの中和

（ｉ）Ｃ２０Ａ４Ｃｌ６細胞（ヒト軟骨細胞系）に関するアッセイ

Ｃ２０Ａ４Ｃｌ６、またはＣ－２０／Ａ４、クローン６（Goldring MB, et al 1994, J Clin Invest; 94:2307-16）細胞を、１０％ウシ胎仔血清極低ＩｇＧ（Ｇｉｂｃｏカタログ番号１６２５０－０７８；ロット１０７４４０３）、β－メルカプトエタノール（最終$5x10^{-5}$Ｍ）、およびノルモシン（０．１ｍｇ／ｍｌ；ＩｎｖｉｖｏＧｅｎカタログ番号ａｎｔ－ｎｒ－２）を添加したＲＰＭＩ（Ｇｉｂｃｏカタログ番号６１８７０－０１０）中で培養した。

【０４５８】

細胞を、Ａｃｃｕｔａｓｅ溶液（ＰＡＡカタログ番号Ｌ１１－００７）を用いてプラスチックから剥離させた。ウシ胎仔血清、β－メルカプトエタノール（最終$5x10^{-5}$Ｍ）およびノルモシン（０．１ｍｇ／ｍｌ）を含まないＲＰＭＩ１６４０（Ｇｉｂｃｏカタログ番号６１８７０－０１０）中、１００μｌのウェルに$5x10^{3}$の密度で９６穴マイクロタイタープレート中に細胞を分配した。

【０４５９】

Ｃ２０Ａ４Ｃｌ６細胞を、一晩プレートに付着させた。次の朝、異なる濃度の組換えｈｕＩＬ－１７Ａ（配列番号７６；ＭＷ３２０００）、組換えｈｕＩＬ－１７Ａ／Ｆ（ＭＷ３２８００）、組換えｈｕＩＬ－１７Ｆ（配列番号７７；ＭＷ３００００）、またはヒトＴＮＦα（Ｎｏｖａｒｔｉｓ；ＭＷ１７５００）の存在下の対照培地を、５０μｌの異なる濃度の試験抗体（ＸＡＢ４、ＸＡＢ１）、対照抗体（Ｓｉｍｕｌｅｃｔ（登録商標）１．１％溶液、Ｂａｔｃｈ　Ｃ００１１；８３１１７９）または対照培地の存在下、３つのウェルに５０μｌの容量で添加し、２００μｌ／ウェルの最終容量および０．５％ウシ胎仔血清の最終濃度を達成した。

【０４６０】

ｈｕＩＬ－１７Ａ（３０ｐＭ）、ｈｕＩＬ－１７Ａ／Ｆ（３００ｐＭ）およびｈｕＩＬ－１７Ｆ（１０ｎＭ）を、ｈｕＴＮＦα（６ｐＭ）と一緒に添加した。ＸＡＢ４（ＭＷ１５００００）を１～０．００３ｎＭの濃度範囲で添加し、ｈｕＩＬ－１７Ａを中和し、１

０～０．０３ｎＭの濃度範囲で添加し、ｈｕＩＬ－１７Ａ／Ｆを中和し、３μＭ～３０ｎＭの濃度範囲で添加し、ｈｕＩＬ－１７Ｆを中和した。ＸＡＢ１（ＭＷ１５００００）を、３～０．０１ｎＭの濃度範囲で添加し、ｈｕＩＬ－１７Ａを中和し、１０～０．０３ｎＭの濃度範囲で添加し、ｈｕＩＬ－１７Ａ／Ｆを中和し、３μＭ～３０ｎＭの濃度範囲で添加し、ｈｕＩＬ－１７Ｆを中和した。Ｓｉｍｕｌｅｃｔ（登録商標）を、３μＭ～１００ｎＭの濃度範囲で添加した。培養上清を、２４ｈのインキュベーション後に収集し、ｈｕＩＬ－６生成をＥＬＩＳＡにより測定した。

【０４６１】

（ｉｉ）ＢＪ細胞（ヒト線維芽細胞）に関するアッセイ

ＢＪ細胞（ＡＴＣＣカタログ番号ＣＲＬ２５２２からのヒト皮膚線維芽細胞）を、１０％ウシ胎仔血清極低ＩｇＧ（Ｇｉｂｃｏカタログ番号１６２５０－０７８；ロット１０７４４０３）、β－メルカプトエタノール（最終５ｘ１０$^{-5}$Ｍ）およびノルモシン（０．１ｍｇ／ｍｌ；ＩｎｖｉｖｏＧｅｎカタログ番号ａｎｔ－ｎｒ－２）を添加したＲＰＭＩ（Ｇｉｂｃｏカタログ番号６１８７０－０１０）中で培養した。細胞を、Ａｃｃｕｔａｓｅ溶液（ＰＡＡカタログ番号Ｌ１１－００７）を用いてプラスチックから剥離させた。

【０４６２】

ウシ胎仔血清、β－メルカプトエタノール（最終５ｘ１０$^{-5}$Ｍ）およびノルモシン（０．１ｍｇ／ｍｌ）を含まないＲＰＭＩ１６４０中、１００μｌのウェルに５ｘ１０^{3}の密度で９６穴マイクロタイタープレート中に細胞を分配した。ＢＪ細胞を一晩プレートに付着させた。次の朝、異なる濃度のｒｈｕＩＬ－１７Ａ（配列番号７６；ＭＷ３２０００）、ｒｈｕＩＬ－１７Ａ／Ｆ（ＭＷ３２８００）、ｒｈｕＩＬ－１７Ｆ（配列番号７７；ＭＷ３００００）、またはヒトＴＮＦα（Ｎｏｖａｒｔｉｓ；ＭＷ１７５００）の存在下の対照培地を、５０μｌの異なる濃度の試験抗体（ＸＡＢ４、ＸＡＢ１）、対照抗体（Ｓｉｍｕｌｅｃｔ（登録商標）１．１％溶液、Ｂａｔｃｈ番号Ｃ００１１；８３１１７９）または対照培地の存在下、３つのウェルに５０μｌの容量で添加し、２００μｌ／ウェルの最終容量および２．５％ウシ胎仔血清の最終濃度を達成した。

【０４６３】

ｈｕＩＬ－１７Ａ（３０ｐＭ）、ｈｕＩＬ－１７Ａ／Ｆ（３００ｐＭ）およびｈｕＩＬ－１７Ｆ（１０ｎＭ）を、ｈｕＴＮＦα（６ｐＭ）と一緒に添加した。ＸＡＢ４（ＭＷ１５００００）を、１～０．００３ｎＭの濃度範囲で添加してｈｕＩＬ－１７Ａを中和し、１０～０．０３ｎＭの濃度範囲で添加してｈｕＩＬ－１７Ａ／Ｆを中和し、３μＭ～３０ｎＭの濃度範囲で添加してｈｕＩＬ－１７Ｆを中和した。ＸＡＢ１（ＭＷ１５００００）を、３～０．０１ｎＭの濃度範囲で添加してｈｕＩＬ－１７Ａを中和し、１０～０．０３ｎＭの濃度範囲で添加してｈｕＩＬ－１７Ａ／Ｆを中和し、３μＭ～３０ｎＭの濃度範囲で添加してｈｕＩＬ－１７Ｆを中和した。Ｓｉｍｕｌｅｃｔ（登録商標）を、３μＭ～１００ｎＭの濃度範囲で添加した。培養上清を２４ｈのインキュベーション後に収集し、ｈｕＩＬ－６およびｈｕＧＲＯα生成をＥＬＩＳＡにより測定した。

【０４６４】

（ｉｉｉ）検出アッセイ

１）ヒトＩＬ－６生成の検出のためのＥＬＩＳＡ

ＥＬＩＳＡマイクロタイタープレートを、ＰＢＳ０．０２％NaN_3中の抗ヒトＩＬ－６マウスＭａｂ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ２０６；１μｇ／ｍｌで１００μｌ／ウェル）で被覆し、＋４℃で一晩インキュベートした。次の日、マイクロタイタープレートを室温で３ｈ、３００μｌのＰＢＳ／２％ＢＳＡ／０．０２％NaN_3でブロッキングした。次いで、プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／０．０２％NaN_3で４回洗浄した。Ｃ２０Ａ４Ｃｌ６（ｈｕＩＬ－１７Ａ＋ｈｕＴＮＦαで刺激した培養物については最終希釈率１：５、もしくはｈｕＴＮＦα＋ｈｕＩＬ－１７Ａ／ＦもしくはＩＬ－１７Ｆで刺激した培養物については最終希釈率１：２；１００μｌ／ウェル）またはＢＪ細胞（ｈｕＩＬ－１７Ａ＋ｈｕＴＮＦαで刺激した培養物については最終希釈率１：１０、もしくはｈｕＴＮＦα＋ｈｕＩＬ－１７Ａ／ＦもしくはＩＬ－

１７Ｆで刺激した培養物については最終希釈率１：５；１００μｌ／ウェル）の培養上清を添加した。

【０４６５】

滴定曲線を確立するために、ｒｈｕＩＬ－６（Ｎｏｖａｒｔｉｓ；１００μｌ／ウェル）を、１：２希釈段階で５００ｐｇ／ｍｌから７．８ｐｇ／ｍｌまで滴定した。室温で一晩インキュベートした後、プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／０．０２％NaN_3で４回洗浄した。ビオチンコンジュゲート化ヤギ抗ヒトＩＬ－６抗体を添加した（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＢＡＦ２０６；３０ｎｇ／ｍｌ；１００μｌ／ウェル）。試料を室温で４ｈ反応させた。洗浄（４回）後、アルカリホスファターゼコンジュゲート化ストレプトアビジン（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈカタログ番号０１６－０５０－０８４）を、１／１００００の最終希釈率で添加した（１００μｌ／ウェル）。

【０４６６】

室温で４０分後、プレートを再度４回洗浄した。ｐ－ニトロフェニルリン酸基質錠剤（Ｓｉｇｍａ；５ｍｇ、カタログ番号Ｎ９３８９；２０ｍｇ、カタログ番号Ｎ２７６５）をジエタノールアミンバッファーｐＨ９．８中に溶解し、１ｍｇ／ｍｌの最終濃度を得た。１００μｌを各ウェルに添加し、４０５および４９０ｎｍのフィルターを用いてＳｐｅｃｔｒａ　Ｍａｘ　Ｍ５マイクロプレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）中で１ｈ後にＯ．Ｄ．を読取った。

【０４６７】

２）ヒトＧＲＯα生成の検出のためのＥＬＩＳＡ

ＥＬＩＳＡマイクロタイタープレートを、ＰＢＳ／０．０２％NaN_3中の抗ヒトＧＲＯαマウスｍＡｂ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ２７５；１．５μｇ／ｍｌで１００μｌ／ウェル）で被覆し、４℃で一晩インキュベートした。次の日、マイクロタイタープレートを室温で３ｈ、３００μｌのＰＢＳ／２％ＢＳＡ／０．０２％NaN_3でブロッキングした。次いで、プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／０．０２％NaN_3で４回洗浄した。ＢＪ細胞の培養上清（最終希釈率１：２；１００μｌ／ウェル）を添加した。

【０４６８】

滴定曲線を確立するために、ヒトＧＲＯα（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号２７５－ＧＲ／ＣＦ；１００μｌ／ウェル）を、１：２希釈段階で２ｎｇ／ｍｌから０．０３ｎｇ／ｍｌまで滴定した。室温で一晩インキュベートした後、プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／０．０２％NaN_3で４回洗浄した。

【０４６９】

ビオチンコンジュゲート化ヤギ抗ヒトＧＲＯα抗体を添加した（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＢＡＦ２７５；１００ｎｇ／ｍｌ；１００μｌ／ウェル）。試料を室温で４ｈ反応させた。洗浄（４回）後、アルカリホスファターゼコンジュゲート化ストレプトアビジン（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈカタログ番号０１６－０５０－０８４）を、１／１００００の最終希釈率で添加した（１００μｌ／ウェル）。室温で４０分後、プレートを再度４回洗浄した。ｐ－ニトロフェニルリン酸基質錠剤（Ｓｉｇｍａ；５ｍｇカタログ番号Ｎ９３８９；２０ｍｇ、カタログ番号Ｎ２７６５）をジエタノールアミンバッファーｐＨ９．８に溶解し、１ｍｇ／ｍｌの最終濃度を得た。１００μｌを各ウェルに添加し、４０５および４９０ｎｍのフィルターを用いてＳｐｅｃｔｒａ　Ｍａｘ　Ｍ５マイクロプレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）中で１ｈ後にＯ．Ｄ．を読取った。

【０４７０】

３）算出

データを平均（Means）±ＳＥＭとして報告する。４パラメータ曲線適合をＥＬＩＳＡ算出のために用いた。抗体によるＩＬ－６およびＧＲＯ－α分泌の阻害に関するIC_{50}値を、Ｘｌｆｉｔ（ＦＩＴモデル２０５）を用いて算出した。

【０４７１】
（ｉｖ）結果
１）Ｃ２０Ａ４Ｃｌ６細胞（ヒト軟骨細胞系）に関するアッセイ
ＸＡＢ４とＸＡＢ１は両方とも、ｒｈｕＴＮＦαの存在下でｒｈｕＩＬ－１７Ａおよびｒｈｕ ＩＬ－１７Ａ／Ｆで刺激したＣ２０Ａ４Ｃｌ６細胞によるｈｕＩＬ－６分泌の誘導を中和することができる。１００ｎＭの対照抗体（Ｓｉｍｕｌｅｃｔ（登録商標））は効果がない。ＸＡＢ４およびＸＡＢ１のＩＣ$_{50}$値（平均±ＳＥＭ）を表２７に報告する。ｈｕＩＬ－１７Ｆに対する阻害は３μＭのＡｂ濃度でも観察されない。
【０４７２】
【表２７】

表 27. C20A4Cl6 細胞によるhuIL-6分泌に対するXAB4およびXAB1の阻害効果

刺激	XAB4 IC50 (nM) (平均 ± SEM)	XAB1 IC50 (nM) (平均 ± SEM)	対照抗体 (nM)
rhuIL-17A (1 nM)[a]	0.44 ± 0.06		>100
rhuIL-17A/F (3 nM)[a]	1.30 ± 0.18		>100
rhuIL-17F (30 nM)[a]	>3000		>1000
rhuIL-17A (30 pM) + rhuTNF-α (6 pM)[b]	0.024 ± 0.004	1.21 ± 0.09	>3000
rhuIL-17A/F (300 pM) + rhuTNF-α (6 pM)[b]	0.108 ± 0.02	>10	>3000
rhuIL-17F (10 nM) + rhuTNF-α (6 pM)[b]	>3000	>3000	>3000

[a] 刺激なしのhuIL-6生成のバックグラウンド(0.13±0.003)を差し引く

[b] TNFのみを含む培養物中でのhuIL-6生成のバックグラウンド(0.20±0.003)を差し引く

【０４７３】
これらの実験から、親ＸＡＢ１抗体がその誘導体と中和活性を共有することが明らかである。ＸＡＢ４バリアントもまた、ＸＡＢ１よりも高い中和活性を有することがわかる。
【０４７４】
さらなる実験において、上記の実験と同様、抗体ＸＡＢ１～ＸＡＢ５を全て、表２８に見られるように比較した。ここで、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３およびＸＡＢ５に関する阻害プロファイルは、ＸＡＢ４およびＸＡＢ１、特に、ＸＡＢ４について観察されるものと同等であることが分かる。
【０４７５】

【表２８】

表 28. C20A4CI6細胞によるhuIL-6分泌に対するXAB抗体の阻害効果の表

刺激	XAB1 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB2 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB3 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB4 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB5 IC50 (nM) 平均 ± SEM
rhuIL-17A (0.5 nM)[a]	0.29 ± 0.03	0.72 ± 0.08	0.63 ± 0.15	0.51 ± 0.04	0.55 ± 0.01

[a] 刺激なしのHuIL-6生成のバックグラウンド(0.04 ± 1.13 ng/ml) を差し引く

【０４７６】

２）ＢＪ細胞（ヒト線維芽細胞）に関するアッセイ

ＸＡＢ４とＸＡＢ１は両方とも、ｈｕＴＮＦαの存在下でｒｈｕＩＬ－１７Ａおよびｒｈｕ
ＩＬ－１７Ａ／Ｆで刺激したＢＪ細胞によるｈｕＩＬ－６およびｈｕＧＲＯα分泌の誘導を中和する。１００ｎＭの対照抗体（Ｓｉｍｕｌｅｃｔ（登録商標））は効果がない。ＩＬ－６およびｈｕＧＲＯαの阻害に関するＩＣ$_{50}$値を表２９および表３０に報告する。ｈｕＩＬ－１７Ｆに対する阻害は３μＭのＡｂ濃度でも観察されない。これらの実験から、親ＸＡＢ１抗体がその誘導体と中和活性を共有することが明らかである。

【０４７７】

ＸＡＢ４バリアントもまた、ＸＡＢ１よりも高い中和活性を有することがわかる。

【０４７８】

【表２９】

表 29. BJ細胞によるhuIL-6分泌に対するXAB4およびXAB1の阻害効果

刺激	XAB4 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB1 IC50 (nM) 平均 ± SEM	対照抗体 (nM)
rhuIL-17A (1 nM)[a]	0.63 ± 0.02		>100
rhuIL-17A/F (3 nM)[a]	1.68 ± 0.05		>100
rhuIL-17F (30 nM)[a]	>3000		>1000
rhuIL-17A (30 pM) + rhuTNF-α (6 pM)[b]	0.012 ± 0.002	0.47 ± 0.02	>3000
rhuIL-17A/F (300 pM) + rhuTNF-α (6 pM)[b]	0.17 ± 0.01	3.83 ± 0.63	>3000
rhuIL-17F (10 nM) + rhuTNF-α (6 pM)[b]	>3000	>3000	>3000

[a] 刺激なしのhuIL-6生成のバックグラウンド(0.32±0.002ng/ml)を差し引く

[b] TNFのみで刺激した培養物中でのhuIL-6生成のバックグラウンド(0.45±0.02ng/ml)を差し引く

【０４７９】
【表３０】

表 30. BJ細胞によるhuGRO-アルファ分泌に対するXAB4およびXAB1の阻害効果

刺激	XAB4 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB1 IC50 (nM) 平均 ± SEM	対照抗体 (nM)
IL-17A (1 nM)[a]	0.35 ± 0.01		>100
IL-17A/F (3 nM)[a]	1.11 ± 0.05		>100
IL-17F (30 nM)[a]	>3000		>1000
IL-17A (30 pM) + TNF-α (6 pM)[b]	0.007 ± 0.0004	0.72 ± 0.12	>3000
IL-17A/F (300 pM) + TNF-α (6 pM)[b]	0.1 ± 0.01	6.22 ± 0.44	>3000
IL-17F (10 nM) + TNF-α (6 pM)[b]	>3000	>3000	>3000

[a] 刺激なしのhuGROα生成のバックグラウンド(0.03±0.01ng/ml)を差し引く
[b] TNFのみを含む培養物中でのhuGROα生成のバックグラウンド(0.15±0.008ng/ml)を差し引く

【０４８０】
さらなる実験において、上記の実験と同様、抗体ＸＡＢ１～ＸＡＢ５を全て、表３１および表３２に見られるように比較した。ここで、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３およびＸＡＢ５に関する阻害プロファイルはＸＡＢ４およびＸＡＢ１、特にＸＡＢ４について観察されるものと同等であることがわかる。
【０４８１】
【表３１】

表 31. BJ細胞によるhuIL-6分泌に対するXAB抗体の阻害効果

刺激	XAB1 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB2 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB3 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB4 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB5 IC50 (nM) 平均 ± SEM
rhuIL-17A (0.5 nM)[a]	4.97 ± 0.59	0.64 ± 0.22	0.50 ± 0.002	0.55 ± 0.04	0.54 ± 0.02

[a] 刺激なしのHuIL-6生成のバックグラウンド(0.15±4.06ng/ml)を差し引く

【０４８２】

【表３２】

表 32. BJ細胞によるhuGROα分泌に対するXAB抗体の阻害効果

刺激	XAB1 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB2 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB3 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB4 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB5 IC50 (nM) 平均 ± SEM
rhuIL-17A (0.5 nM)[a]	1.39 ± 0.07	0.40 ± 0.06	0.42 ± 0.01	0.44 ± 0.04	0.46 ± 0.05

[a] 刺激なしのHuGROα生成のバックグラウンド(0.03±0.02ng/ml)を差し引く

【０４８３】

実施例１３　本開示の抗体バリアントによるマウスＩＬ－１７ＡおよびＩＬ－１７Ａ／Ｆ活性のｉｎ　ｖｉｔｒｏでの中和

ＣＭＴ－９３細胞（ＡＴＣＣ　ＣＣＬ－２２３）を、１０％ウシ胎仔血清極低ＩｇＧ（Ｇｉｂｃｏカタログ番号１６２５０－０７８；ロット１０７４４０３）、β－メルカプトエタノール（最終５ｘ１０$^{-5}$Ｍ）およびノルモシン（０．１ｍｇ／ｍｌ；ＩｎｖｉｖｏＧｅｎカタログ番号ａｎｔ－ｎｒ－２）を添加したＲＰＭＩ（Ｇｉｂｃｏカタログ番号６１８７０－０１０）中で培養した。

【０４８４】

細胞を、Ａｃｃｕｔａｓｅ溶液（ＰＡＡカタログ番号Ｌ１１－００７）を用いてプラスチックから剥離させ、ウシ胎仔血清、β－メルカプトエタノールおよびノルモシンを含まないＲＰＭＩ１６４０中、１００μｌ／ウェルで５ｘ１０^{3}の密度で９６穴マイクロタイタープレートに分配した。

【０４８５】

細胞を、一晩プレートに付着させた。次の朝、１ｎＭのｒｍＩＬ－１７Ａ（配列番号８３；ＭＷ３１０００）、３ｎＭのｒｍＩＬ－１７Ａ／Ｆ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号５３９０－ＩＬ；ＭＷ３０４００）、３０ｎＭのｒｍＩＬ－１７Ｆ（配列番号８４；ＭＷ３００００）、１ｎＭのｒｒａｔＩＬ－１７Ａ（配列番号８５；ＭＷ３１０００）または対照培地を、５０μｌの異なる濃度の試験抗体（ＸＡＢ４もしくはＸＡＢ１）、対照抗体（Ｓｉｍｕｌｅｃｔ（登録商標）１．１％溶液；Ｃ００１１、８３１１７９）または対照培地の存在下で３組のウェルに５０μｌの容量で添加して、２００μｌ／ウェルの最終容量および１％ウシ胎仔血清の最終濃度を達成した。

【０４８６】

培養上清を、２４ｈのインキュベーション後に収集し、ＫＣ生成をＥＬＩＳＡにより測定した。

【０４８７】

（ｉ）マウスＫＣ生成の検出のためのＥＬＩＳＡ

ＥＬＩＳＡマイクロタイタープレートを、ＰＢＳ／０．０２％ＮａＮ$_3$中のラット抗マウスＫＣ　ＭＡｂ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＭＡＢ４５３；１μｇ／ｍｌで１００μｌ／ウェル）で被覆し、４℃で一晩インキュベートした。次の日、マイクロタイタープレートを室温で３ｈ、３００μｌのＰＢＳ／２％ＢＳＡ／０．０２％ＮａＮ$_3$でブロッキングした。次いで、プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／０．０２％ＮａＮ$_3$で４回洗浄した。ＣＭＴ－９３細胞の培養上清（最終希釈率１：５；１００μｌ／ウェル）を添加した。

【０４８８】

滴定曲線を確立するために、マウスＫＣ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号４５３－ＫＣ、１００μｌ／ウェル）を、１：２の希釈段階で１ｎｇ／ｍｌから０

．０１６ｎｇ／ｍｌまで滴定した。室温で一晩インキュベートした後、プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０／０．０２％NaN_3で４回洗浄した。０．１μｇ／ｍｌのビオチンコンジュゲート化ヤギ抗マウスＫＣ抗体（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（登録商標）カタログ番号ＢＡＦ４５３；１００μｌ／ウェル）を添加した。試料を室温で４ｈ反応させた。洗浄（４回）後、アルカリホスファターゼコンジュゲートストレプトアビジン（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈカタログ番号０１６－０５０－０８４）を１／１００００の最終希釈率で添加した（１００μｌ／ウェル）。室温で４０分後、プレートを再度４回洗浄した。ｐ－ニトロフェニルリン酸基質錠剤（Ｓｉｇｍａ；５ｍｇカタログ番号Ｎ９３８９；２０ｍｇカタログ番号Ｎ２７６５）をジエタノールアミンバッファーｐＨ９．８中に溶解して、１ｍｇ／ｍｌの最終濃度を得た。１００μｌの培養上清を各ウェルに添加し、４０５および４９０ｎｍのフィルターを用いてＳｐｅｃｔｒａ　Ｍａｘ　Ｍ５マイクロプレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）中で１ｈ後にＯ．Ｄ．を読取った。

【０４８９】

（ｉｉ）算出

データを、平均±ＳＥＭとして報告する。４パラメータ曲線適合をＥＬＩＳＡ算出のために用いた。抗体によるＫＣ分泌の阻害に関するIC_{50}値を、Ｘｌｆｉｔ（商標）（ＦＩＴモデル２０５）を用いて算出した。

【０４９０】

（ｉｉｉ）結果

ＸＡＢ４とＸＡＢ１は両方とも、マウスまたはラットＩＬ－１７ＡおよびマウスｈＩＬ－１７Ａ／Ｆで刺激したＣＭＴ－９３細胞によるマウスＫＣ分泌の誘導を中和することができる。対照抗体（Ｓｉｍｕｌｅｃｔ（登録商標））は効果がない。ＸＡＢ４およびＸＡＢ１のIC_{50}値（平均±ＳＥＭ）を、表３３に報告する。ｈｕＩＬ－１７Ｆに対する阻害は１０μＭのＡｂ濃度でも観察されない。

【０４９１】

【表３３】

表 33. CMT-93細胞によるマウスKC分泌に対するXAB4およびXAB1の阻害効果

刺激	XAB4 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB1 IC50 (nM) 平均 ± SEM	対照抗体 (nM)
mIL-17A (1 nM)[a]	13.8 ± 0.48	539 ± 29.4	>3000
mIL-17A/F (3 nM)[a]	10.3 ± 1.06	>1000	>3000
mIL-17F (30 nM)[a]	>10000	>10000	>3000
rIL-17A (1 nM)[a]	6.7 ± 0.84	467 ± 25.1	>3000

[a] 刺激なしのKC生成のバックグラウンド(0.07±0.001ng/ml)を差し引く

【０４９２】

これらの実験から、両方の親ＸＡＢ１抗体、ならびにその誘導体が中和活性を有することが明らかである。ＸＡＢ４バリアントもまた、ＸＡＢ１よりも高い中和活性を有することがわかる。

【０４９３】

さらなる実験において、上記の実験と同様、抗体ＸＡＢ１～ＸＡＢ５を全て、表３４に

見られるように比較した。ここで、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３およびＸＡＢ５に関する阻害プロファイルはＸＡＢ４およびＸＡＢ１、特にＸＡＢ４について観察されるものと同等であることがわかる。

【０４９４】

【表３４】

表 34　CMT-93細胞によるKC分泌に対するXAB抗体の阻害効果

刺激	XAB1 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB2 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB3 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB4 IC50 (nM) 平均 ± SEM	XAB5 IC50 (nM) 平均 ± SEM
mIL-17A (0.15 nM)[a]	128 ± 14.2	20.9 ± 0.96	<1	7.0 ± 0.29	7.8 ± 0.78

[a] 刺激なしのKC生成のバックグラウンド(0.19±5.81ng/ml)を差し引く

【０４９５】

実施例１４　ラット抗原誘導性関節炎アッセイ（ラットＡ／Ａ）

メスのＬｅｗｉｓラット（１２０～１５０ｇ）を、－２１日目および－１４日目に完全Ｆｒｅｕｎｄアジュバントと１：１でホモジェナイズしたメチル化ウシ血清アルブミン（ｍＢＳＡ）（５ｍｇ／ｍｌ　ｍＢＳＡを含有する０．１ｍｌ）に対して２つの部位で背部で皮内的に感作した。０日目に、ラットを５％イソフルラン／空気混合物を用いて麻酔し、関節内注射のために顔面マスクにより３．５％のイソフルランを用いて維持した。右膝には５％グルコース溶液中の１０ｍｇ／ｍｌのｍＢＳＡ　５０μｌ（抗原注射膝）を投与したが、左膝には５％グルコース溶液のみ５０μｌ（ビヒクル注射膝）を投与した。次いで、左膝と右膝の直径を、関節内注射の直後ならびに２、４および７日目に再度、カリパスを用いて測定した。

【０４９６】

処置を、－３日目に単回皮下注射により投与した。本開示の抗体を、０．１５、１．５、１５および１１６ｍｇ／ｋｇで注射した。右膝の腫れを、左膝の腫れの比として算出し、Ｒ／Ｌ膝腫れ比を時間に対してプロットして対照群および処置群に関する曲線下面積（ＡＵＣ）を得た。各処置群のＡＵＣにおける個々の動物の阻害百分率を、Ｅｘｃｅｌスプレッドシートを用いて対照群のＡＵＣ（０％阻害）に対して算出した。

【０４９７】

結果

結果を表３５に示す。右膝の腫れの用量関連阻害が、ＸＡＢ４について証明され、ED_{50}は１．６８ｍｇ／ｋｇ　ｓ．ｃ．と算出された。

【０４９８】

【表３５】

表 35. Lewisラット抗原誘導性関節炎における0日目～7日目の膝の腫れに対するXAB4を用いる単回用量処置の効果

抗体用量 (mg/kg)	膝の腫れの阻害百分率 AUC
0.15	18.46 ± 1.61*
1.5	65.76 ± 3.41**
15	71.59 ± 1.27**
116	77.01 ± 1.72**

データ点はn=5匹の動物の平均±SEMである。* p<0.05 および ** p<0.01 ANOVA、次いで、Dunnett検定 対 対照曲線

【０４９９】
同様に、膝の腫れの用量関連阻害が、Ｗｉｓｔａｒラットを用いるモデル（データは示さない）およびマウス抗原誘導性関節炎モデルを用いるモデル（データは示さない）においてＸＡＢ４について証明された。

【０５００】
実施例１５　血管新生機構モデル（Angiogenesis mechanistic model）
マウス中に皮下的に置いた場合、ヒトＩＬ－１７Ａ（１５０～２００ｎｇ）を含有するチャンバは、埋込み体の周囲で新しい血管増殖を引き起こす。血管新生の量は、この領域において新しく形成される組織の重量と相関する。０．０１、０．０３、０．１、０．３、１および３ｍｇ／ｋｇのＸＡＢ４を用いる予防的処置は、ヒトＩＬ－１７により誘導される血管新生を阻害した。５つのより高い用量は全て、組織チャンバ重量の強力かつ有意な阻害をもたらした。４つのより高い用量は用量依存性を示さなかったが、０．０３ｍｇ／ｋｇの用量は０．１ｍｇ／ｋｇ以上の用量よりも有効ではなかった。

【０５０１】
この試験により、ＩＬ－１７Ａの強力な血管新生効果を抗ＩＬ－１７Ａ抗体を用いて中和することができ、これはｉｎ　ｖｉｖｏでのヒトＩＬ－１７Ａに関するＸＡＢ４の有効性の実験的証拠を提供する。

【０５０２】
実施例１６　実験的自己免疫性脳脊髄炎（ＥＡＥ）モデル
実験的自己免疫性脳脊髄炎（ＥＡＥ）モデルは、多発性硬化症のための公知の動物モデルである（例えば、Constantinescu et al., Br J Pharmacol 2011に概説されている）。ＩＬ－１７の阻害はＣ５７Ｂｌ／６マウスにおいてＥＡＥ重症度を低下させることが示されている（Haak S et al 2009, JCI; 119:61-69）。

【０５０３】
メスのＣ５７Ｂｌ／６マウス（９週齢、Ｈａｒｌａｎ、Ｇｅｒｍａｎｙ）を、組換えラットミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質ペプチド（MOG_{1-125}）（社内で作製）と、完全Ｆｒｅｕｎｄアジュバント（ＣＦＡ、８ｍｇ／ｍｌのマイコバクテリウム・ツベルクロシス（Mycobacterium tuberculosis）株Ｈ３７ＲＡ（Ｄｉｆｃｏ）を不完全Ｆｒｅｕｎｄアジュバント（ＩＦＡ、Ｓｉｇｍａ）に添加することにより作製）との５０／５０混合物で免疫した。０日目に尾の基部に２００μｇ／動物のMOG_{1-125}を皮下注射することにより、免疫化を実施した。さらに、２００ｎｇ／動物の百日咳毒素（ＰＴ）を０および２日目に腹腔内注射した。

【０５０４】
ＸＡＢ４に関する治療的処置と予防的処置の両方の効果を試験した。

【０５０５】
治療的処置
治療的処置のために、１６匹のマウスを用いた（ＸＡＢ４について８匹および対照について８匹）。一度、動物が少なくとも２．５の臨床スコア（重度の後肢弱体化）を３日間有したら、処置を開始した。この後、１５ｍｇ／ｋｇのＸＡＢ４またはアイソタイプ対照抗体を単回用量で各週に皮下注射した。
【０５０６】
結果を、図１１～１５に示す（ｄ．ｐ．ｉは免疫化後の日数である）。全ての図面において、ＸＡＢ４は丸で表され、アイソタイプ対照は四角で表される。治療スコア（平均±ＳＥＭ）を図１１に示す。ＸＡＢ４で処置された動物はアイソタイプ対照よりも低い平均臨床スコアを有することが明確にわかる。図１２は２群のマウスに関する体重変化（％）を示し、図１３は累積治療スコアを示す。図１４および１５は、処置前後の治療スコアの比較である。全グラフにおいて、ＸＡＢ４はアイソタイプ対照と比較して治療効果を有することが明確にわかる。かくして、ＸＡＢ４を用いる治療的処置は、ＥＡＥの重症度を有意に低下させた。
【０５０７】
予防的処置
予防的処置のために、１９匹のマウスを用いた（ＸＡＢ４について１０匹および対照について９匹）。各動物を、１５ｍｇ／ｋｇのＸＡＢ４またはアイソタイプ対照で免疫する前に、単回皮下注射により１日処置した。この後、１５ｍｇ／ｋｇのＸＡＢ４またはアイソタイプ対照抗体を、単回投与で各週に皮下注射した。
【０５０８】
その結果を、図１６～２０に示す（ｄ．ｐ．ｉは免疫化後の日数である）。図１６～１９において、ＸＡＢ４は黒丸で表され、アイソタイプ対照は白四角で表される。予防スコア（平均＋ＳＥＭ）を図１６に示す。ＸＡＢ４で処置された動物はより低い平均臨床スコアを有することが明確にわかる。図１７は、２群のマウスに関する体重変化（％）を示し、図１８は累積予防スコアを示す。最大予防スコアは図１９に見られる。全グラフにおいて、ＸＡＢ４はアイソタイプ対照と比較して効果を有することが明確にわかる。さらに、ＸＡＢ４が実線で表され、アイソタイプ対照が点線で表される図２０において、ＥＡＥの開始が、アイソタイプ対照で処置されたマウス群と比較して、ＸＡＢ４で処置されたマウス群についてより遅いことがわかる。
【０５０９】
かくして、ＸＡＢ４を用いる予防的処置は、ＥＡＥの開始を有意に遅延させ、最大ＥＡＥ重症度を低下させることが示される。
【０５１０】
実施例１７　ヒトアストロサイトにおけるＩＬ６、ＣＸＣＬ１、ＩＬ－８、ＧＭ－ＣＳＦ、およびＣＣＬ２のＩＬ－１７Ａにより誘導されるレベルの減衰
ヒト脳の大脳皮質から単離されたアストロサイトにおけるＩＬ６、ＣＸＣＬ１、ＩＬ－８、ＧＭ－ＣＳＦ、およびＣＣＬ２のレベルに対するＸＡＢ４の効果を調査した。アストロサイトは、それらに細胞コミュニケーション、ニューロン、グリア細胞および免疫細胞の移動および生存を調節させるいくつかの増殖因子、サイトカインおよびケモカインを放出する。アストロサイトのエンドフィートと内皮細胞との直接的コミュニケーションも、アストロサイトに血液脳関門の機能を制御させる。さらに、アストロサイトは、それらにシナプス伝達および興奮性を調節させるシナプス間隙で、グルタミン酸などの神経伝達物質を放出し、取込む。アストロサイトはＣＮＳ損傷後に瘢痕病理を形成し、かくして、正常な生理と病態生理における見かけ上反対の役割を有することが有意である。疾患においては、アストロサイトは様々な精神障害、神経障害および神経変性障害において役割を果たし、神経炎症におけるその役割は重要である可能性があると示唆されている。
【０５１１】
データは、ＩＬ－１７ＡとＴＮＦαとを用いる同時刺激により、ＩＬ－６、ＣＸＣＬ１

、ＩＬ－８、ＧＭ－ＣＳＦおよびＣＣＬ２の放出が増強され、ＸＡＢ４がヒトアストロサイトにおけるＩＬ－６、ＣＸＣＬ１、ＩＬ－８、ＧＭ－ＣＳＦ、およびＣＣＬ２のレベルを阻害することを示していた。これらのデータは、アストロサイトからのサイトカイン放出におけるＩＬ－１７Ａの卓越した役割を示し、神経炎症疾患のための薬物標的としてのその使用を支援する。ＸＡＢ４を用いるヒトアストロサイトの事前処置は、ＩＬ－６、ＣＸＣＬ１、ＩＬ－８、ＧＭ－ＣＳＦおよびＣＣＬ２の、ＴＮＦαにより誘導されるレベルに影響することなく、ＩＬ－１７Ａにより誘導されＩＬ－１７Ａ／ＴＮＦαにより誘導されるレベルを阻害することは注目に値する。総合すると、このデータは、ＸＡＢ４によるＩＬ－１７Ａシグナリングの選択的阻害はヒトアストロサイトにおける炎症促進性サイトカインのレベルを減衰させることを示唆していた。疾患において、アストロサイトは様々な精神障害、神経障害および神経変性障害において役割を果たし、神経炎症におけるその役割は重要である可能性があると示唆されている。かくして、アストロサイトの機能を変化させる新規薬物は有用である可能性があり、アストロサイト機能の調節は治療的に有用であることがわかる。結果として、ＸＡＢ４はアストロサイトのＩＬ－６、ＣＸＣＬ１、ＩＬ－８、ＧＭ－ＣＳＦおよびＣＣＬ２生成に対する効果を有することが示されたため、ＸＡＢ４は多発性硬化症（ＭＳ）の処置などのための有用な治療剤であり得ると結論付けることができる。

【０５１２】

材料および方法

全てのサイトカインを、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓから購入した。バシリキシマブ（Ｎｏｖａｒｔｉｓ、Ｂａｓｅｌ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）をアイソタイプ対照として用いた。用いた一次抗体は、抗ＩＬ－１７ＲＡ Ａｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ６４７（ＢＧ／ｈＩＬ１７ＡＲ、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）、抗ＩＬ１７ＲＣ Ａｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ４８８（３０９８２２、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ、ＵＫ）、抗ｐ６５（Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ、ＵＳＡ）、マウスＩｇＧ Ａｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ６４７（ＭＯＰＣ－２１、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ、ＵＫ）、マウスＩｇＧ Ａｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ４８８（１３３３０３、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍ、ＵＫ）、マウスＩｇＧビオチン（Ｇ１５５－１７８、ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）およびラットＩｇＧ ＰＥ（Ａ９５－１、ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）であった。用いた二次抗体および染料は、ビオチン化ヤギ抗ウサギＩｇＧ（ＢＡ１０００、Ｖｅｃｔｏｒ、ＵＫ）、ストレプトアビジンコンジュゲート化Ａｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ４８８およびＡｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ６３３（Ｓ１１２２３およびＳ２１３７、Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、ＵＳＡ）、ヤギ抗マウスＡｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ４８８およびＡｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ６３３（Ａ１１０１およびＡ２１０５０、Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、ＵＳＡ）、ストレプトアビジンＢＶ４２１（４０５２２６、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ、ＵＫ）、Ｈｏｅｃｈｓｔ ３４５８０（Ｈ２１４８６、Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、ＵＳＡ）であった。

【０５１３】

大脳皮質由来ヒトアストロサイトを、ＳｃｉｅｎＣｅｌｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ（ＵＳＡ）（カタログ番号１８００）から購入した。細胞を、提供業者の説明書に従って増殖させた。簡単に述べると、細胞を、１％アストロサイト増殖補給物質（ＳｃｉｅｎＣｅｌｌカタログ番号１８５２）、５％ウシ胎仔血清（ＳｃｉｅｎＣｅｌｌカタログ番号００１０）および１％ペニシリン／ストレプトマイシン（ＳｃｉｅｎＣｅｌｌカタログ番号０５０３）を添加したヒトアストロサイト培地（ＳｃｉｅｎＣｅｌｌカタログ番号１８０１）中で増殖させた。細胞を、５％CO_2および３７℃でＴ７５培養フラスコ中で維持し、８０％集密となるまで３日毎に培地を交換した。全ての処理について、ウェルあたり７０，０００個の細胞を２４穴プレート中に播種し、３日間増殖させ、２～４ｈ血清飢餓させた後、アストロサイトをＸＡＢ４で２ｈ処理し、その後、図面の凡例に示されたように組換えヒトサイトカインで１８～２０ｈ処理した。細胞ペレットを用いて、ｑＰＣＲによりサイトカインのｍＲＮＡレベルを定量し、上清を用いて、ＨＴＲＦ（Ｃ

ｉｓｂｉｏ、Ｆｒａｎｃｅ、ＩＬ－６、ＩＬ－８およびＣＸＣＬ１について使用）またはＡｌｐｈａＬＩＳＡ（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ、ＵＳＡ、ＣＣＬ２およびＧＭ－ＣＳＦについて使用）によりサイトカインのタンパク質レベルを定量した。

【０５１４】

サイトカインｍＲＮＡの測定を、リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（ＲＴ－ＰＣＲ）により行った。簡単に述べると、アストロサイトを、３５０μｌの溶解バッファー（１％β－メルカプトエタノールを含むＲＬＴバッファー）中で穏やかに振とうすることにより、室温で５ｍｉｎ溶解し、全ＲＮＡをＲＮｅａｓｙ　Ｍｉｃｒｏｋｉｔ（７４００４、Ｑｉａｇｅｎ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を用いて抽出した。ｃＤＮＡを、ＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔＩＩＩ逆転写酵素（１８０８０－４００、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を用いて合成した。各遺伝子の発現レベルを、Ｖｉｉａ７　Ｒｅａｌ－ｔｉｍｅ　ＰＣＲ装置（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）中でのｑ－ＰＣＲにより評価した。Ｔａｑｍａｎプローブを、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄから購入した。各試料を３組分析し、ヒポキサンチン－グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＨＰＲＴ）に対して正規化した。ヒトアストロサイト上清（１０μｌ）中のヒトＩＬ６、ＩＬ８、ＣＸＣＬ１タンパク質のレベル（ｎｇ／ｍｌ）を、ＨＴＲＦ（ＩＬ６：６２ＩＬ６ＰＥＣ；ＩＬ８：６２ＩＬ８ＰＥＣ；ＣＸＣＬ１：６ＦＧＲＯＰＥＧ、Ｃｉｓｂｉｏ、Ｆｒａｎｃｅ）により評価し、ヒトアストロサイト上清（５μｌ）中のヒトＣＣＬ２タンパク質のレベル（ｎｇ／ｍｌ）をＡｌｐｈａＬＩＳＡヒトＣＣＬ２／ＭＣＰ１（ＡＬ２４４Ｃ、ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ、ＵＳＡ）により評価した。全ての測定を、製造業者の説明書に従って実施した。

【０５１５】

ヒトアストロサイトの細胞懸濁液を、ＰＢＳ－５ｍＭ　ＥＤＴＡを用いて接着培養物から取得した。細胞外染色のために、細胞をＰＢＳ２％ＢＳＡ中、４℃で１０ｍｉｎ、全マウスＩｇＧと共にインキュベートした後、ＰＢＳ２％ＢＳＡ中、４℃で３０ｍｉｎ、抗体で染色した。細胞内染色のために、細胞を４℃で２０ｍｉｎ、Ｃｙｔｏｆｉｘ／Ｃｙｔｏｐｅｒｍ溶液（５５４７１４、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）で透過処理した後、４℃で３０ｍｉｎ、抗体と共にインキュベートした。７０μｍの濾過器により濾過した後、細胞をＢＤＦｏｒｔｅｓｓａ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）上で獲得し、ＦｌｏｗＪｏソフトウェア（Ｔｒｅｅ　Ｓｔａｒ　Ｉｎｃ．、ＵＳＡ）を用いてデータを分析した。

【０５１６】

化合物処理後、細胞をＰＢＳ（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｇｅｒｍａｎｙ）中で洗浄した後、氷冷１００％メタノール中で１０ｍｉｎ固定した。細胞を滅菌ＰＢＳ中で３ｘ５ｍｉｎ洗浄した後、室温で５ｍｉｎ、ＰＢＳ中の０．２％Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｇｅｒｍａｎｙ）と共にインキュベートすることにより透過処理した。非反応部位を、ＰＢＳ中の１０％正常ヤギ血清（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、ＵＳＡ）および２％ウシ血清アルブミン（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｇｅｒｍａｎｙ）からなるブロッキングバッファーで＋４℃で一晩遮断した。次いで、細胞を４℃で一晩、一次抗体中でインキュベートした。一次抗体を除去し、細胞を３ｘ５ｍｉｎのＰＢＳで洗浄した後、二次蛍光抗体を室温で２ｈ適用した。次いで、カバースリップをＰＢＳ中で５ｘ５ｍｉｎ洗浄し、Ｈｏｅｓｃｈｔ　３４５８０核染色で対抗染色した。最後にカバースリップをＶｅｃｔａｓｈｉｅｌｄＲマウンティング媒体（Ｖｅｃｔｏｒ、ＵＫ）中の顕微鏡スライド上にマウントし、カバースリップの端部をマニキュア液で密封した。細胞を、Ａｘｉｏｖｅｒｔ　２００Ｍ倒立顕微鏡（Ｚｅｉｓｓ　Ｌｔｄ、Ｇｅｒｍａｎｙ）を用いるＺｅｉｓｓ　ＬＳＭ　５１０　ＭＥＴＡ共焦点レーザー走査顕微鏡を用いて画像化した。

【０５１７】

結果

ＸＡＢ４によるＴＮＦ－αもしくはＩＬ－１７Ａ刺激、またはＩＬ－１７Ａ／ＴＮＦ－

α同時刺激の拮抗作用を、図２１Ａ～２５Ａに示す。ＸＡＢ４によるＩＬ－１βまたはＩＬ－１７Ａ／ＩＬ－１β同時刺激の拮抗作用を、図２１Ｂ～２５Ｂに示す。

【０５１８】

図２１はＩＬ－６放出に対する拮抗作用を示し、図２２はＣＸＣＬ１放出に対する拮抗作用を示し、図２３はＩＬ－８に対する拮抗作用を示し、図２４はＧＭ－ＣＳＦに対する拮抗作用を示し、図２５はＣＣＬ２に対する拮抗作用を示す。

【０５１９】

初代ヒトアストロサイトを、ＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）、ＴＮＦ－α（１０ｎｇ／ｍｌ）、ＩＬ－１β、ＩＬ－１７Ａ／ＴＮＦ－αおよびＩＬ－１β／ＴＮＦ－αを含むか、または含まない、増加する濃度のＸＡＢ４（０．０１ｎＭ、０．１ｎＭ、１ｎＭおよび１０ｎＭ）で処理した。用いた全濃度を、図面中に示す。示されるデータは、ＸＡＢ４　０．０１ｎＭについては２つの実験、ＸＡＢ４　０．１ｎＭ、１ｎＭおよび１０ｎＭについては３つの実験の代表である。示される値は平均±Ｓ．Ｅ．Ｍ．である。

【０５２０】

図２１Ａに見られる通り、ＸＡＢ４（全濃度）は、ＩＬ－１７Ａ、またはＩＬ－１７Ａ／ＴＮＦ－αで刺激したアストロサイトからのＩＬ－６の放出に対して、対照とアイソタイプの両方と比較して、拮抗作用を有する。ＩＬ－６の濃度（ｎｇ／ｍｌ）はｙ軸により表され、ＸＡＢ４の濃度はｘ軸上に表される（それぞれのデータセットについては０、すなわち、対照、０．０１ｎＭ、０．１ｎＭ、１ｎＭおよび１０ｎＭならびにアイソタイプについては１０ｎＭ）。左側のデータセットは未刺激の細胞に関するものであり、次のデータセットはＴＮＦ－α（１０ｎｇ／ｍｌ）で刺激された細胞に関するものであり、次のデータセットはＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で刺激された細胞に関するものであり、最後のデータセットはＴＮＦ－α（１０ｎｇ／ｍｌ）およびＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で同時刺激された細胞に関するものである。最後のデータセットは、ｙ軸の約１０倍高い尺度を有する。図２１Ｂに見られる通り、ＸＡＢ４（全濃度）は、アイソタイプと比較して、ＩＬ－１β（０．１ｎｇ／ｍｌ）で刺激されたか、またはＩＬ－１β（０．１ｎｇ／ｍｌ）とＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で同時刺激された細胞に対する拮抗作用を有さない。

【０５２１】

図２２Ａに見られる通り、ＸＡＢ４（全濃度）は、対照とアイソタイプの両方と比較して、ＩＬ－１７ＡまたはＩＬ－１７Ａ／ＴＮＦ－αで刺激されたアストロサイトからのＣＸＣＬ１の放出に対する拮抗作用を有する。ＣＸＣＬ１の濃度（ｎｇ／ｍｌ）はｙ軸により表され、ＸＡＢ４の濃度はｘ軸上に表される（それぞれのデータセットについては０、すなわち、対照、０．０１ｎＭ、０．１ｎＭ、１ｎＭおよび１０ｎＭならびにアイソタイプについては１０ｎＭ）。左側のデータセットは未刺激の細胞に関するものであり、次のデータセットはＴＮＦ－α（１０ｎｇ／ｍｌ）で刺激された細胞に関するものであり、次のデータセットはＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で刺激された細胞に関するものであり、最後のデータセットはＴＮＦ－α（１０ｎｇ／ｍｌ）およびＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で同時刺激された細胞に関するものである。最後のデータセットは、ｙ軸の約１０倍高い尺度を有する。図２２Ｂに見られる通り、ＸＡＢ４（全濃度）は、アイソタイプと比較して、ＩＬ－１β（０．１ｎｇ／ｍｌ）で刺激されたか、またはＩＬ－１β（０．１ｎｇ／ｍｌ）とＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で同時刺激された細胞に対する拮抗作用を有さない。

【０５２２】

図２３Ａに見られる通り、ＸＡＢ４（全濃度）は、対照と比較して、ＩＬ－１７ＡまたはＩＬ－１７Ａ／ＴＮＦ－αで刺激されたアストロサイトからのＩＬ－８の放出に対する拮抗作用を有する。アイソタイプと比較して、ＸＡＢ４（０．１ｎＭ、１ｎＭおよび１０ｎＭ）はＩＬ－８の放出に対する拮抗作用を有する。ＩＬ－８の濃度（ｎｇ／ｍｌ）はｙ軸により表され、ＸＡＢ４の濃度はｘ軸上に表される（それぞれのデータセットについては０、すなわち、対照、０．０１ｎＭ、０．１ｎＭ、１ｎＭおよび１０ｎＭならびにアイ

ソタイプについては１０ｎＭ）。左側のデータセットは未刺激の細胞に関するものであり、次のデータセットはＴＮＦ－α（１０ｎｇ／ｍｌ）で刺激された細胞に関するものであり、次のデータセットはＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で刺激された細胞に関するものであり、最後のデータセットはＴＮＦ－α（１０ｎｇ／ｍｌ）およびＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で同時刺激された細胞に関するものである。最後のデータセットは、ｙ軸の約５倍高い尺度を有する。図２３Ｂに見られる通り、ＸＡＢ４（全濃度）は、アイソタイプと比較して、ＩＬ－１β（０．１ｎｇ／ｍｌ）で刺激されたか、またはＩＬ－１β（０．１ｎｇ／ｍｌ）とＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で同時刺激された細胞に対する拮抗作用を有さない。

【０５２３】

図２４Ａに見られる通り、ＸＡＢ４（全濃度）は、対照とアイソタイプの両方と比較して、ＩＬ－１７Ａ／ＴＮＦ－αで刺激されたアストロサイトからのＧＭ－ＣＳＦの放出に対する拮抗作用を有する。ＸＡＢ４（０．１ｎＭ、１ｎＭおよび１０ｎＭ）はアイソタイプおよび対照と比較して、ＩＬ－１７Ａで刺激されたアストロサイトからのＧＭ－ＣＳＦの放出に対する拮抗作用を有する。ＧＭ－ＣＳＦの濃度（ｎｇ／ｍｌ）はｙ軸により表され、ＸＡＢ４の濃度はｘ軸上に表される（それぞれのデータセットについては０、すなわち、対照、０．０１ｎＭ、０．１ｎＭ、１ｎＭおよび１０ｎＭならびにアイソタイプについては１０ｎＭ）。左側のデータセットは未刺激の細胞に関するものであり、次のデータセットはＴＮＦ－α（１０ｎｇ／ｍｌ）で刺激された細胞に関するものであり、次のデータセットはＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で刺激された細胞に関するものであり、最後のデータセットはＴＮＦ－α（１０ｎｇ／ｍｌ）およびＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で同時刺激された細胞に関するものである。図２４Ｂに見られる通り、ＸＡＢ４（全濃度）は、アイソタイプと比較して、ＩＬ－１β（０．１ｎｇ／ｍｌ）で刺激されたか、またはＩＬ－１β（０．１ｎｇ／ｍｌ）とＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で同時刺激された細胞に対する拮抗作用を有さないか、または低い拮抗作用を有する。

【０５２４】

図２５Ａに見られる通り、ＸＡＢ４（全濃度）は、対照とアイソタイプの両方と比較して、ＩＬ－１７Ａで刺激されたアストロサイトからのＣＣＬ２の放出に対する拮抗作用を有する。ＸＡＢ４（０．１ｎＭ、１ｎＭおよび１０ｎＭ）はアイソタイプおよび対照と比較して、ＩＬ－１７Ａ／ＴＮＦ－αで刺激されたアストロサイトからのＣＣＬ２の放出に対する拮抗作用を有する。ＣＣＬ２の濃度（ｎｇ／ｍｌ）はｙ軸により表され、ＸＡＢ４の濃度はｘ軸上に表される（それぞれのデータセットについては０、すなわち、対照、０．０１ｎＭ、０．１ｎＭ、１ｎＭおよび１０ｎＭならびにアイソタイプについては１０ｎＭ）。左側のデータセットは未刺激の細胞に関するものであり、次のデータセットはＴＮＦ－α（１０ｎｇ／ｍｌ）で刺激された細胞に関するものであり、次のデータセットはＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で刺激された細胞に関するものであり、最後のデータセットはＴＮＦ－α（１０ｎｇ／ｍｌ）およびＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で同時刺激された細胞に関するものである。図２５Ｂに見られる通り、ＸＡＢ４（全濃度）は、アイソタイプと比較して、ＩＬ－１β（０．１ｎｇ／ｍｌ）で刺激されたか、またはＩＬ－１β（０．１ｎｇ／ｍｌ）とＩＬ－１７Ａ（５０ｎｇ／ｍｌ）で同時刺激された細胞に対する拮抗作用を有さない。

【０５２５】

総合すると、データは、ＸＡＢ４によるＩＬ－１７Ａシグナリングの選択的阻害がヒトアストロサイトにおける炎症促進性サイトカインのレベルを減衰させることを示唆していた。疾患においては、アストロサイトは様々な精神障害、神経障害および神経変性障害において役割を果たし、神経炎症におけるその役割は重要である可能性があると示唆されている。ＸＡＢ４はアストロサイトのＩＬ－６、ＣＸＣＬ１、ＩＬ－８、ＧＭ－ＣＳＦ、およびＣＣＬ２生成に対する効果を有することが示されたため、ＸＡＢ４は多発性硬化症（ＭＳ）の処置などのための有用な治療剤であり得る。

【０５２６】

配列情報

ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５に関する配列データを、参照を容易にするために以下にまとめる。

【０５２７】

表１は、例示的なＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の全長重鎖および軽鎖のアミノ酸配列（配列番号）を記載する。

【０５２８】

抗体ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５を、従来の抗体組換え生成および精製プロセスを用いて生成することができる。例えば、表３または表４に記載されたコード配列を、哺乳動物生成細胞系における組換え発現のための生成ベクター中にクローニングする。

【０５２９】

表２は、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５からキメラ抗体を作製するために用いることができる、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４またはＸＡＢ５の可変重鎖（ＶＨ）および軽鎖（ＶＬ）アミノ酸配列をまとめたものである。

【０５３０】

表５は、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５に由来するＣＤＲ領域がＫａｂａｔの定義に従って定義された、代替的ＣＤＲ移植抗体を作製するためのＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の有用なＣＤＲ配列（＋コンセンサス配列）をまとめたものである。

【０５３１】

表６は、ＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５に由来するＣＤＲ領域がＣｈｏｔｈｉａの定義に従って定義された、代替的ＣＤＲ移植抗体を作製するためのＸＡＢ１、ＸＡＢ２、ＸＡＢ３、ＸＡＢ４およびＸＡＢ５の有用なＣＤＲ配列（＋コンセンサス配列）をまとめたものである。

【０５３２】

本明細書で記載される全ての配列（配列番号）は、表３６に見出される。

【０５３３】

配列表

本発明を実施するための有用なアミノ酸およびヌクレオチド配列は、表３６に見出される。

【０５３４】

【表３６】

表 **36.** 配列表

抗体 / 断片	配列識別子 (配列番号) (SEQ IDNO:)	アミノ酸配列またはポリヌクレオチド配列(PN)
XAB1, CDRH1 (CHOTHIA)	1	GFTFSSY
XAB1, CDRH2 (CHOTHIA)	2	KQDGSE
XAB1, CDRH3 (CHOTHIA)	3	DRGSLYY
XAB1, CDRL1 (CHOTHIA)	4	SQGIISA
XAB1, CDRL2 (CHOTHIA)	5	DAS
XAB1, CDRL3 (CHOTHIA)	6	FNSYPL
XAB1, CDRH1 (KABAT)	7	SYWMS
XAB1, CDRH2 (KABAT)	8	NIKQDGSEKYYVDSVKG
XAB1, CDRH3 (KABAT)	3	DRGSLYY
XAB1, CDRL1 (KABAT)	9	RPSQGIISALA
XAB1, CDRL2 (KABAT)	10	DASSLEN
XAB1, CDRL3 (KABAT)	11	QQFNSYPLT
XAB1, VH	12	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMS WVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGSLYY WGQGTLVTVSS
XAB1, VL	13	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRPSQGIISALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLENGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK
XAB1, 重鎖	14	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMS WVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGSLYY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE

		YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
XAB1, 軽鎖	15	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRPSQGIISALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLENGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
配列番号12を コードするPN PN ENCODING SEQ ID NO: 12	16	GAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGCGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGC GCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGA TGTCCTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCC TCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGACGGCA GCGAGAAGTACTACGTGGACAGCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCG GGGCAGCCTGTACTATTGGGGCCAGGGCACCCT GGTCACCGTGTCCAGC
配列番号13を コードするPN	17	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGCCAAGTCAGGGCATTATCAGTGCTTTAGCC TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGC TCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAATGGG GTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGA CAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCC TGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAA TAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAG GTGGAGATCAAA
配列番号14を コードするPN	18	GAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGCGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGC GCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGA TGTCCTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCC TCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGACGGCA GCGAGAAGTACTACGTGGACAGCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCG GGGCAGCCTGTACTATTGGGGCCAGGGCACCCT GGTCACCGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGCCC CAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAG CACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCT GGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGT GTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGT GCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGG CCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCC AGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA ACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGAC CCACACCTGCCCCCCCTGCCCAGCCCCAGAGCT GCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCC AAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCC CCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC

		ACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAG GGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAAAAGA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGC CCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCTCCCGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCT GGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAA CTACAAGACCACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGAC GGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGG ACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGG CAAG
配列番号15を コードするPN	19	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGCCAAGTCAGGGCATTATCAGTGCTTTAGCC TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGC TCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAATGGG GTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGA CAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCC TGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAA TAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAG GTGGAGATCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCAGC GTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGA AGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTGA ACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTG GAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAG CCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGGA CTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTG AGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACG CCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCC CCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
XAB2, CDRH1 (CHOTHIA)	1	GFTFSSY
XAB2, CDRH2 (CHOTHIA)	2	KQDGSE
XAB2, CDRH3 (CHOTHIA)	3	DRGSLYY
XAB2, CDRL1 (CHOTHIA)	20	SQVIISA
XAB2, CDRL2 (CHOTHIA)	5	DAS
XAB2, CDRL3 (CHOTHIA)	21	FDSYPL
XAB2, CDRH1 (KABAT)	7	SYWMS
XAB2, CDRH2 (KABAT)	8	NIKQDGSEKYYVDSVKG
XAB2, CDRH3 (KABAT)	3	DRGSLYY

XAB2, CDRL1 (KABAT)	22	RPSQVIISALA
XAB2, CDRL2 (KABAT)	23	DASSLEQ
XAB2, CDRL3 (KABAT)	24	QQFDSYPLT
XAB2, VH	12	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMS WVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGSLYY WGQGTLVTVSS
XAB2, VL	25	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRPSQVIISALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLEQGVPSRFSGSVSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQFDSYPLTFGGGTKVEIK
XAB2, 重鎖	14	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMS WVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGSLYY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
XAB2, 軽鎖	26	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRPSQVIISALAWYQ QKPGKAPKLLIYDASSLEQGVPSRFSGSVSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQFDSYPLTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
配列番号12を コードするPN	16	GAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGCGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGC GCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGA TGTCCTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCC TCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGACGGCA GCGAGAAGTACTACGTGGACAGCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCG GGGCAGCCTGTACTATTGGGGCCAGGGCACCCT GGTCACCGTGTCCAGC
配列番号25を コードするPN	27	GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTG AGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC TGTCGGCCCAGCCAGGTCATCATCAGCGCCCTG GCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCC AAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCTCCCTGGAAC AGGGCGTGCCCAGCCGGTTCAGCGGCAGCGTGT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCT GCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG CAGTTCGACAGCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAG GCACCAAGGTGGAAATCAAG
	18	GAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGCGGCGACCTG

配列番号14をコードするPN		GTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGC GCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGA TGTCCTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCC TCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGACGGCA GCGAGAAGTACTACGTGGACAGCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCG GGGCAGCCTGTACTATTGGGGCCAGGGCACCCT GGTCACCGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGCCC CAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAG CACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCT GGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGT GTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGT GCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGG CCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCC AGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA ACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGAC CCACACCTGCCCCCCCTGCCCAGCCCCAGAGCT GCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCC AAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCC CCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAG GGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAAAAGA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGC CCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCTCCCGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCT GGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAA CTACAAGACCACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGAC GGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGG ACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGG CAAG
配列番号26をコードするPN	28	GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTG AGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC TGTCGGCCCAGCCAGGTCATCATCAGCGCCCTG GCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCC AAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCTCCCTGGAAC AGGGCGTGCCCAGCCGGTTCAGCGGCAGCGTGT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCT GCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG CAGTTCGACAGCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAG GCACCAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCG CTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGA GCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTG CCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAG GTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGAC

10 20 30 40

		AGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCC TGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAA GGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCT GTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGG CGAGTGC
配列番号12を コードする代替的PN	29	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGAGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCTCACTGAGACTGAGCTGC GCCGCTAGTGGCTTCACCTTTAGTAGCTACTGGA TGAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGCAAGGGAC TGGAGTGGGTGGCCAATATTAAGCAGGACGGCTC AGAGAAGTACTACGTGGACTCAGTGAAGGGCCG GTTCACTATTAGCCGGGATAACGCTAAGAATAGC CTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCTAGAGATAGAGG CTCACTGTACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTG ACAGTGTCTTCT
配列番号25を コードする代替的PN	30	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGACCTAGTCAGGTGATCATTAGCGCCCTGGCC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAG CTGCTGATCTACGACGCTAGTAGTCTGGAACAGG GCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGCTCAGTGTCAGG CACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAG CCCGAGGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGT TCGATAGCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAGGCAC TAAGGTGGAAATCAAG
配列番号14を コードする代替的PN	31	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGAGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCTCACTGAGACTGAGCTGC GCCGCTAGTGGCTTCACCTTTAGTAGCTACTGGA TGAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGCAAGGGAC TGGAGTGGGTGGCCAATATTAAGCAGGACGGCTC AGAGAAGTACTACGTGGACTCAGTGAAGGGCCG GTTCACTATTAGCCGGGATAACGCTAAGAATAGC CTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCTAGAGATAGAGG CTCACTGTACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTG ACAGTGTCTTCTGCTAGCACCAAGGGCCCAAGTG TCTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCCACAAG CGGAGGCACTGCAGCTCTGGGTTGTCTGGTGAA GGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGG AACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACC TTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTCGTGACTGTGCCTAGTTCCA GCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAA CCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA GTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACC TGCCCCCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGA GGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCA AGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGG TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGG ACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG GGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAG AGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGT GTCCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTG AACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACA

		AGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAG CAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGT GTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAGATGAC CAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAG GGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGG GAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAG ACCACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGC TTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGT CCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCA GCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
配列番号26を コードする代替的PN	32	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGACCTAGTCAGGTGATCATTAGCGCCCTGGCC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAG CTGCTGATCTACGACGCTAGTAGTCTGGAACAGG GCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGCTCAGTGTCAGG CACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAG CCCGAGGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGT TCGATAGCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAGGCAC TAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCC AGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGC TGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGC TGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCA GTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAA CAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAA GGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGT ACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
XAB3, CDRH1 (CHOTHIA)	1	GFTFSSY
XAB3, CDRH2 (CHOTHIA)	2	KQDGSE
XAB3, CDRH3 (CHOTHIA)	3	DRGSLYY
XAB3, CDRL1 (CHOTHIA)	33	SQGIYWE
XAB3, CDRL2 (CHOTHIA)	5	DAS
XAB3, CDRL3 (CHOTHIA)	6	FNSYPL
XAB3, CDRH1 (KABAT)	7	SYWMS
XAB3, CDRH2 (KABAT)	8	NIKQDGSEKYYVDSVKG
XAB3, CDRH3 (KABAT)	3	DRGSLYY
XAB3, CDRL1 (KABAT)	34	RPSQGIYWELA
XAB3, CDRL2 (KABAT)	23	DASSLEQ
XAB3, CDRL3	11	QQFNSYPLT

(KABAT)		
XAB3, VH	12	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMS WVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGSLYY WGQGTLVTVSS
XAB3, VL	35	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRPSQGIYWELAWY QQKPGKAPKLLIYDASSLEQGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK
XAB3, 重鎖	14	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMS WVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGSLYY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
XAB3, 軽鎖	36	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRPSQGIYWELAWY QQKPGKAPKLLIYDASSLEQGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
配列番号12を コードするPN	16	GAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGCGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGC GCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGA TGTCCTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCC TCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGACGGCA GCGAGAAGTACTACGTGGACAGCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCG GGGCAGCCTGTACTATTGGGGCCAGGGCACCCT GGTCACCGTGTCCAGC
配列番号35を コードするPN	37	GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTG AGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC TGTCGGCCCAGCCAGGGCATCTACTGGGAGCTG GCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCC AAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCTCCCTGGAAC AGGGCGTGCCCAGCCGGTTCAGCGGCAGCGGAT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCT GCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG CAGTTCAACAGCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAG GCACCAAGGTGGAAATCAAG
配列番号14を コードするPN	18	GAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGCGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGC GCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGA TGTCCTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCC TCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGACGGCA GCGAGAAGTACTACGTGGACAGCGTGAAGGGCC

		GGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCG GGGCAGCCTGTACTATTGGGGCCAGGGCACCCT GGTCACCGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGCCC CAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAG CACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCT GGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGT GTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGT GCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGG CCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCC AGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA ACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGAC CCACACCTGCCCCCCCTGCCCAGCCCCAGAGCT GCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCC AAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCC CCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAG GGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAAAAGA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGC CCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCTCCCGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCT GGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAA CTACAAGACCACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGAC GGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGG ACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGG CAAG
配列番号36を コードするPN	38	GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTG AGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC TGTCGGCCCAGCCAGGGCATCTACTGGGAGCTG GCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCC AAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCTCCCTGGAAC AGGGCGTGCCCAGCCGGTTCAGCGGCAGCGGAT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCT GCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG CAGTTCAACAGCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAG GCACCAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCG CTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGA GCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTG CCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAG GTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGAC AGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCC TGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAA GGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCT GTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGG CGAGTGC

配列番号12を コードする代替的PN	29	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGAGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCTCACTGAGACTGAGCTGC GCCGCTAGTGGCTTCACCTTTAGTAGCTACTGGA TGAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGCAAGGGAC TGGAGTGGGTGGCCAATATTAAGCAGGACGGCTC AGAGAAGTACTACGTGGACTCAGTGAAGGGCCG GTTCACTATTAGCCGGGATAACGCTAAGAATAGC CTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCTAGAGATAGAGG CTCACTGTACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTG ACAGTGTCTTCT
配列番号35を コードする代替的PN	39	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGACCTAGCCAGGGAATCTACTGGGAGCTGGCC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAG CTGCTGATCTACGACGCTAGTAGTCTGGAACAGG GCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGCTCAGGCTCAGG CACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAG CCCGAGGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGT TTAACTCCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAGGCAC TAAGGTGGAAATCAAG
配列番号14を コードする代替的PN	31	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGAGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCTCACTGAGACTGAGCTGC GCCGCTAGTGGCTTCACCTTTAGTAGCTACTGGA TGAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGCAAGGGAC TGGAGTGGGTGGCCAATATTAAGCAGGACGGCTC AGAGAAGTACTACGTGGACTCAGTGAAGGGCCG GTTCACTATTAGCCGGGATAACGCTAAGAATAGC CTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCTAGAGATAGAGG CTCACTGTACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTG ACAGTGTCTTCTGCTAGCACCAAGGGCCCAAGTG TCTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCCACAAG CGGAGGCACTGCAGCTCTGGGTTGTCTGGTGAA GGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGG AACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACC TTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTCGTGACTGTGCCTAGTTCCA GCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAA CCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA GTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACC TGCCCCCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGA GGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCA AGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGG TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGG ACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG GGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAG AGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGT GTCCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTG AACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACA AGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAG CAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGT GTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAGATGAC CAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAG GGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGG

		GAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAG ACCACCCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGC TTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGT CCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCA GCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
配列番号36を コードする代替的PN	40	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGACCTAGCCAGGGAATCTACTGGGAGCTGGCC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAG CTGCTGATCTACGACGCTAGTAGTCTGGAACAGG GCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGCTCAGGCTCAGG CACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAG CCCGAGGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGT TTAACTCCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAGGCAC TAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCC AGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGC TGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGC TGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCA GTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAA CAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAA GGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGT ACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
XAB4, CDRH1 (CHOTHIA)	1	GFTFSSY
XAB4, CDRH2 (CHOTHIA)	2	KQDGSE
XAB4, CDRH3 (CHOTHIA)	3	DRGSLYY
XAB4, CDRL1 (CHOTHIA)	41	SQGINWE
XAB4, CDRL2 (CHOTHIA)	5	DAS
XAB4, CDRL3 (CHOTHIA)	6	FNSYPL
XAB4, CDRH1 (KABAT)	7	SYWMS
XAB4, CDRH2 (KABAT)	8	NIKQDGSEKYYVDSVKG
XAB4, CDRH3 (KABAT)	3	DRGSLYY
XAB4, CDRL1 (KABAT)	42	RPSQGINWELA
XAB4, CDRL2 (KABAT)	23	DASSLEQ
XAB4, CDRL3 (KABAT)	11	QQFNSYPLT
XAB4, VH	12	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMS WVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGSLYY WGQGTLVTVSS

XAB4, VL	43	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRPSQGINWELAWY QQKPGKAPKLLIYDASSLEQGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK
XAB4, 重鎖	14	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMS WVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGSLYY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
XAB4, 軽鎖	44	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRPSQGINWELAWY QQKPGKAPKLLIYDASSLEQGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
配列番号12を コードするPN	16	GAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGCGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGC GCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGA TGTCCTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCC TCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGACGGCA GCGAGAAGTACTACGTGGACAGCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCG GGGCAGCCTGTACTATTGGGGCCAGGGCACCCT GGTCACCGTGTCCAGC
配列番号43を コードするPN	45	GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTG AGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC TGTCGGCCCAGCCAGGGCATCAACTGGGAGCTG GCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCC AAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCTCCCTGGAAC AGGGCGTGCCCAGCCGGTTCAGCGGCAGCGGAT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCT GCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG CAGTTCAACAGCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAG GCACCAAGGTGGAAATCAAG
配列番号14を コードするPN	18	GAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGCGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGC GCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGA TGTCCTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCC TCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGACGGCA GCGAGAAGTACTACGTGGACAGCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCG GGGCAGCCTGTACTATTGGGGCCAGGGCACCCT GGTCACCGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGCCC CAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAG

		CACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCT GGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGT GTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGT GCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGG CCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCC AGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA ACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGAC CCACACCTGCCCCCCCTGCCCAGCCCCAGAGCT GCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCC AAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCC CCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAG GGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAAAAGA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGC CCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCTCCCGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCT GGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAA CTACAAGACCACCCCCCCCAGTGCTGGACAGCGAC GGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGG ACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGG CAAG
配列番号44を コードするPN	46	GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTG AGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC TGTCGGCCCAGCCAGGGCATCAACTGGGAGCTG GCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCC AAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCTCCCTGGAAC AGGGCGTGCCCAGCCGGTTCAGCGGCAGCGGAT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCT GCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG CAGTTCAACAGCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAG GCACCAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCG CTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGA GCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTG CCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAG GTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGAC AGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCC TGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAA GGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCT GTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGG CGAGTGC
配列番号12を コードする代替的PN	29	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGAGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCTCACTGAGACTGAGCTGC GCCGCTAGTGGCTTCACCTTTAGTAGCTACTGGA TGAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGCAAGGGAC TGGAGTGGGTGGCCAATATTAAGCAGGACGGCTC AGAGAAGTACTACGTGGACTCAGTGAAGGGCCG

		GTTCACTATTAGCCGGGATAACGCTAAGAATAGC CTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCTAGAGATAGAGG CTCACTGTACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTG ACAGTGTCTTCT
配列番号43を コードする代替的PN	47	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGACCTAGTCAGGGGATTAACTGGGAGCTGGCC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAG CTGCTGATCTACGACGCTAGTAGTCTGGAACAGG GCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGCTCAGGCTCAGG CACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAG CCCGAGGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGT TTAACTCCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAGGCAC TAAGGTGGAAATCAAG
配列番号14を コードする代替的PN	31	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGAGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCTCACTGAGACTGAGCTGC GCCGCTAGTGGCTTCACCTTTAGTAGCTACTGGA TGAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGCAAGGGAC TGGAGTGGGTGGCCAATATTAAGCAGGACGGCTC AGAGAAGTACTACGTGGACTCAGTGAAGGGCCG GTTCACTATTAGCCGGGATAACGCTAAGAATAGC CTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCTAGAGATAGAGG CTCACTGTACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTG ACAGTGTCTTCTGCTAGCACCAAGGGCCCAAGTG TCTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCCACAAG CGGAGGCACTGCAGCTCTGGGTTGTCTGGTGAA GGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGG AACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACC TTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTCGTGACTGTGCCTAGTTCCA GCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAA CCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA GTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACC TGCCCCCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGA GGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCA AGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGG TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGG ACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG GGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAG AGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGT GTCCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTG AACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACA AGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAG CAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGT GTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAGATGAC CAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAG GGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGG GAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAG ACCACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGC TTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGT CCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCA GCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG

配列番号44を コードする代替的PN	48	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGACCTAGTCAGGGGATTAACTGGGAGCTGGCC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAG CTGCTGATCTACGACGCTAGTAGTCTGGAACAGG GCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGCTCAGGCTCAGG CACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAG CCCGAGGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGT TTAACTCCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAGGCAC TAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCC AGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGC TGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGC TGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCA GTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAA CAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAA GGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGT ACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
配列番号12を コードする第2の代替 的PN	49	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGCG CCGCCTCCGGCTTCACCTTCTCCAGCTACTGGAT GTCCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGCAAGGGACT GGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGACGGCTC CGAGAAGTACTACGTGGACTCCGTGAAGGGCCG GTTCACCATCTCCCGGGACAACGCCAAGAACTCC CTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCGG GGCTCCCTGTACTATTGGGGCCAGGGCACCCTG GTGACAGTGTCCTCC
配列番号43を コードする第2の代替 的PN	50	GCCATCCAGCTGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGT CTGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTG TCGGCCCTCCCAGGGCATCAACTGGGAACTGGC CTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAA GCTGCTGATCTACGACGCCAGCTCCCTGGAACAG GGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCG GCACCGACTTCACCCTGACCATCTCCAGCCTGCA GCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAG TTCAACTCCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAGGCA CCAAGGTGGAAATCAAG
配列番号14を コードする第2の代替 的PN	51	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGCG CCGCCTCCGGCTTCACCTTCTCCAGCTACTGGAT GTCCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGCAAGGGACT GGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGACGGCTC CGAGAAGTACTACGTGGACTCCGTGAAGGGCCG GTTCACCATCTCCCGGGACAACGCCAAGAACTCC CTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCGG GGCTCCCTGTACTATTGGGGCCAGGGCACCCTG GTGACAGTGTCCTCCGCCTCCACCAAGGGCCCAA GCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCA CCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGG TGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTC

		CTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCA CACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCT GTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAG CAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGTAAC GTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGTGACAAGACCC ACACCTGCCCCCCCTGCCCAGCCCCCGAGCTGC TGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCCC GAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAC GAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGC CCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGT GGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGTCC AACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACCA TCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAAGAGAGCCCC AGGTGTACACCCTGCCACCCAGCAGGGAGGAGA TGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGT GAAGGGCTTCTACCCAAGCGACATCGCCGTGGA GTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTA CAAGACCACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGG CAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGAC AAGAGCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCT GCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTA CACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCAGGCAA G
配列番号44を コードする第2の代替 的PN	52	GCCATCCAGCTGACCCAGTCCCCCTCCAGCCTGT CTGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTG TCGGCCCTCCCAGGGCATCAACTGGGAACTGGC CTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAA GCTGCTGATCTACGACGCCAGCTCCCTGGAACAG GGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTCTGGCTCCG GCACCGACTTCACCCTGACCATCTCCAGCCTGCA GCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAG TTCAACTCCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAGGCA CCAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTC CCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCAAGCGACGAGCA GCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGTCT GCTGAACAACTTCTACCCCAGGGAGGCCAAGGTG CAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGC AACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGC AAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGA CCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGG TGTACGCCTGTGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTC CAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGA GTGC
XAB5, CDRH1 (CHOTHIA)	1	GFTFSSY
XAB5, CDRH2 (CHOTHIA)	2	KQDGSE
XAB5, CDRH3 (CHOTHIA)	3	DRGSLYY
XAB5, CDRL1 (CHOTHIA)	41	SQGINWE

XAB5, CDRL2 (CHOTHIA)	5	DAS
XAB5, CDRL3 (CHOTHIA)	6	FNSYPL
XAB5, CDRH1 (KABAT)	7	SYWMS
XAB5, CDRH2 (KABAT)	8	NIKQDGSEKYYVDSVKG
XAB5, CDRH3 (KABAT)	3	DRGSLYY
XAB5, CDRL1 (KABAT)	42	RPSQGINWELA
XAB5, CDRL2 (KABAT)	10	DASSLEN
XAB5, CDRL3 (KABAT)	11	QQFNSYPLT
XAB5, VH	12	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMS WVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGSLYY WGQGTLVTVSS
XAB5, VL	53	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRPSQGINWELAWY QQKPGKAPKLLIYDASSLENGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK
XAB5, 重鎖	14	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMS WVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGSLYY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
XAB5, 軽鎖	54	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRPSQGINWELAWY QQKPGKAPKLLIYDASSLENGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
配列番号12をコードするPN	16	GAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGCGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGC GCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGA TGTCCTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCC TCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGACGGCA GCGAGAAGTACTACGTGGACAGCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCG GGGCAGCCTGTACTATTGGGGCCAGGGCACCCT GGTCACCGTGTCCAGC
	55	GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTG

配列番号53を コードするPN		AGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC TGTCGGCCCAGCCAGGGCATCAACTGGGAGCTG GCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCC AAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCTCCCTGGAAA ACGGCGTGCCCAGCCGGTTCAGCGGCAGCGGAT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCT GCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG CAGTTCAACAGCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAG GCACCAAGGTGGAAATCAAG
配列番号14を コードするPN	18	GAGGTGCAGCTGGTCGAGTCTGGCGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGC GCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGA TGTCCTGGGTCCGCCAGGCCCCTGGCAAAGGCC TCGAATGGGTGGCCAACATCAAGCAGGACGGCA GCGAGAAGTACTACGTGGACAGCGTGAAGGGCC GGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAG CCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGACCG GGGCAGCCTGTACTATTGGGGCCAGGGCACCCT GGTCACCGTGTCCAGCGCTAGCACCAAGGGCCC CAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAG CACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCT GGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGT GTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGT GCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGG CCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCC AGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA ACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGAC CCACACCTGCCCCCCCTGCCCAGCCCCAGAGCT GCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCC AAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCC CCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAG GGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAAAAGA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGC CCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCTCCCGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCT GGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAA CTACAAGACCACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGAC GGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGG ACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCA GCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGG CAAG
配列番号54を コードするPN	56	GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTG AGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC TGTCGGCCCAGCCAGGGCATCAACTGGGAGCTG GCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCCCCC AAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCTCCCTGGAAA

		ACGGCGTGCCCAGCCGGTTCAGCGGCAGCGGAT CCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCT GCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG CAGTTCAACAGCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAG GCACCAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCG CTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGA GCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTG CCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAG GTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGC GGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGAC AGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCC TGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAA GGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCT GTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGG CGAGTGC
配列番号12を コードする代替的PN	29	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGAGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCTCACTGAGACTGAGCTGC GCCGCTAGTGGCTTCACCTTTAGTAGCTACTGGA TGAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGCAAGGGAC TGGAGTGGGTGGCCAATATTAAGCAGGACGGCTC AGAGAAGTACTACGTGGACTCAGTGAAGGGCCG GTTCACTATTAGCCGGGATAACGCTAAGAATAGC CTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCTAGAGATAGAGG CTCACTGTACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTG ACAGTGTCTTCT
配列番号53を コードする代替的PN	57	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGACCTAGTCAGGGGATTAACTGGGAGCTGGCC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAG CTGCTGATCTACGACGCTAGTAGTCTGGAAAACG GCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGCTCAGGCTCAGG CACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAG CCCGAGGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGT TTAACTCCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAGGCAC TAAGGTGGAAATCAAG
配列番号14を コードする代替的PN	31	GAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGAGGCGACCTG GTGCAGCCTGGCGGCTCACTGAGACTGAGCTGC GCCGCTAGTGGCTTCACCTTTAGTAGCTACTGGA TGAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGCAAGGGAC TGGAGTGGGTGGCCAATATTAAGCAGGACGGCTC AGAGAAGTACTACGTGGACTCAGTGAAGGGCCG GTTCACTATTAGCCGGGATAACGCTAAGAATAGC CTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCTAGAGATAGAGG CTCACTGTACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTG ACAGTGTCTTCTGCTAGCACCAAGGGCCCAAGTG TCTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCCACAAG CGGAGGCACTGCAGCTCTGGGTTGTCTGGTGAA GGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGG AACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACC TTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTAC AGCCTGAGCAGCGTCGTGACTGTGCCTAGTTCCA GCCTGGGCACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAA CCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA

		GTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACC TGCCCCCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGA GGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCA AGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGG TGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGG ACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG GGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAG AGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGT GTCCGTCCTGACAGTGCTGCACCAGGATTGGCTG AACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACA AGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAG CAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGT GTACACCCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAGATGAC CAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAG GGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGG GAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAG ACCACCCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGC TTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGT CCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCA GCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC CCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
配列番号54を コードする代替的PN	58	GCTATTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGA GCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCACCTG TAGACCTAGTCAGGGGATTAACTGGGAGCTGGCC TGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAG CTGCTGATCTACGACGCTAGTAGTCTGGAAAACG GCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGCTCAGGCTCAGG CACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAG CCCGAGGACTTCGCTACCTACTACTGTCAGCAGT TTAACTCCTACCCCCTGACCTTCGGCGGAGGCAC TAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCC AGCGTGTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGC TGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCTGC TGAACAACTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCA GTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAA CAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAA GGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACC CTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGT ACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
重鎖のリーダー配列	59	MEFGLSWVFLVAILEGVHC
軽鎖のリーダー配列	60	MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC
配列番号５９を コードするＰＮ	61	ATGGAATTCGGCCTGAGCTGGGTGTTCCTGGTCG CGATTCTGGAAGGCGTGCACTGC
配列番号 60 を コードするＰＮ	62	ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGG CTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGCGCCAGATGT
重鎖の代替的 リーダー配列	63	MAWVWTLPFLMAAAQSVQA

軽鎖の代替的 リーダー配列	64	MSVLTQVLALLLLWLTGTRC
配列番号63をコードする代替的PN	65	ATGGCCTGGGTGTGGACCCTGCCCTTCCTGATGGCCGCTGCTCAGTCAGTGCAGGCC
配列番号64をコードする代替的PN	66	ATGAGCGTGCTGACTCAGGTGCTGGCCCTGCTGCTGCTGTGGCTGACCGGCACCCGCTGC
重鎖の第2の 代替的リーダー配列	67	MEWSWVFLFFLSVTTGVHS
軽鎖の第2の 代替的リーダー配列	68	MSVPTQVLGLLLLWLTDARC
配列番号67をコードする第2の代替的PN	69	ATGGAATGGTCCTGGGTGTTCCTGTTCTTCCTGTCCGTGACCACAGGCGTGCACTCC
配列番号68をコードする第2の代替的PN	70	ATGTCCGTGCCCACACAGGTGCTGGGCCTGCTGCTGCTGTGGCTGACCGACGCCAGATGC
コンセンサス, CDRL1 (CHOTHIA)	71	$SQX_1IX_2X_3X_4$
コンセンサス, CDRL3 (CHOTHIA)	72	FX_1SYPL
コンセンサス, CDRL1 (KABAT)	73	$RPSQX_1IX_2X_3X_4LA$
コンセンサス, CDRL2 (KABAT)	74	$DASSLEX_1$
コンセンサス, CDRL3 (KABAT)	75	$QQFX_1SYPLT$
hulL-17A	76	GITIPRNPGCPNSEDKNFPRTVMVNLNIHNRNTNTNPKRSSDYYNRSTSPWNLHRNEDPERYPSVIWEAKCRHLGCINADGNVDYHMNSVPIQQEILVLRREPPHCPNSFRLEKILVSVGCTCVTPIVHHVAEFRH
hulL-17F	77	MRKIPKVGHTFFQKPESCPPVPGGSMKLDIGIINENQRVSMSRNIESRSTSPWNYTVTWDPNRYPSEVVQAQCRNLGCINAQGKEDISMNSVPIQQETLVVRRKHQGCSVSFQLEKVLVTVGCTCVTPVIHHVQ
代替的 hulL-17A	78	GPIVKAGITIPRNPGCPNSEDKNFPRTVMVNLNIHNRNTNTNPKRSSDYYNRSTSPWNLHRNEDPERYPSVIWEAKCRHLGCINADGNVDYHMNSVPIQQEILVLRREPPHCPNSFRLEKILVSVGCTCVTPIVHHVA
cynolL-17A	79	GIAIPRNSGCPNSEDKNFPRTVMVNLNIHNRNTSTNPKRSSDYYNRSTSPWNLHRNEDPERYPSVIWEAKCRHLGCVKADGNVDYHMNSVPIQQEILVLRREPRHC

		PNSFRLEKILVSVGCTCVTPIVHHVA
cynoIL-17F	80	MRKIPKVGHTFFQKPESCPPVPEGSMKLDTGIINEN QRVSMSRNIESRSTSPWNYTVTWDPNRYPSEVVQ AQCKHLGCINAQGKEDISMNSVPIQQETLVLRRKHQ GCSVSFQLEKVLVTVGCTCVTPVVHHVQ
rhesusIL-17A	81	GIAIPRNSGCPNSEDKNFPRTVMVNLNIHNRNTSTS PKRSSDYYNRSTSPWNLHRNEDPERYPSVIWEAKC RHLGCVKADGNVDYHMNSVPIQQEILVLRREPRHC PNSFRLEKILVSVGCTCVTPIVHHVA
マーモセットIL-17A	82	SPQNPGCPNAEDKNFPRTVMVNLNIRNRNTNSKRA SDYYNRSSSPWNLHRNEDPERYPSVIWEAKCRHLG CVDADGNVDYHMNSVPIQQEILVLRREPRHCTNSF RLEKMLVSVGCTCVTPIVHHVA
mIL-17A	83	MAAIIPQSSACPNTEAKDFLQNVKVNLKVFNSLGAK VSSRRPSDYLNRSTSPWTLHRNEDPDRYPSVIWEA QCRHQRCVNAEGKLDHHMNSVLIQQEILVLKREPES CPFTFRVEKMLVGVGCTCVASIVRQAA
mIL-17F	84	APEPEFRHRKNPKAGVPALQKAGNCPPLEDNTVRV DIRIFNQNQGISVPREFQNRSSSPWDYNITRDPHRF PSEIAEAQCRHSGCINAQGQEDSTMNSVAIQQEILV LRREPQGCSNSFRLEKMLLKVGCTCVKPIVHQAA
ラットIL-17A	85	MAVLIPQSSVCPNAEANNFLQNVKVNLKVINSLSSK ASSRRPSDYLNRSTSPWTLSRNEDPDRYPSVIWEA QCRHQRCVNAEGKLDHHMNSVLIQQEILVLKREPEK CPFTFRVEKMLVGVGCTCVSSIVRHAS
huIL-17RA	86	NCTVKNSTCLDDSWIHPRNLTPSSPKDLQIQLHFAH TQQGDLFPVAHIEWTLQTDASILYLEGAELSVLQLNT NERLCVRFEFLSKLRHHHRRWRFTFSHFVVDPDQE YEVTVHHLPKPIPDGDPNHQSKNFLVPDCEHARMK VTTPCMSSGSLWDPNITVETLEAHQLRVSFTLWNES THYQILLTSFPHMENHSCFEHMHHIPAPRPEEFHQR SNVTLTLRNLKGCCRHQVQIQPFFSSCLNDCLRHSA TVSCPEMPDTPEPIPDYMPLWEFRHDSGGGLNDIF EAQKIEWHE

【図１】

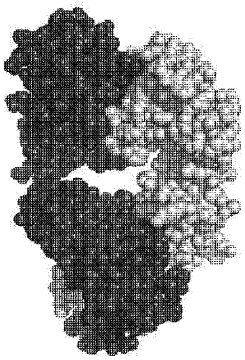


Fig. 1A

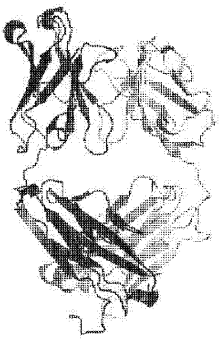


Fig. 1B

【図２】

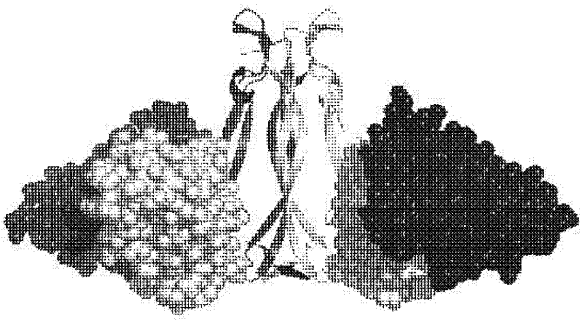


Fig. 2A

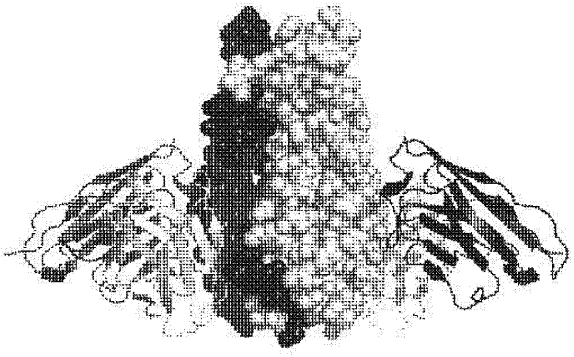


Fig. 2B

【図４】

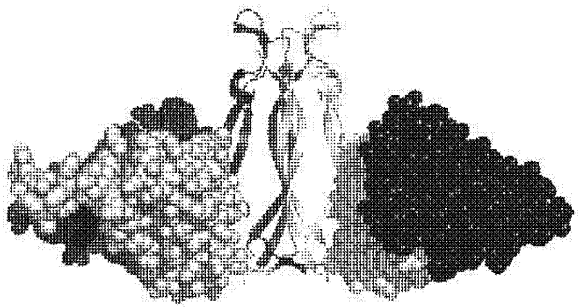


Fig. 4A

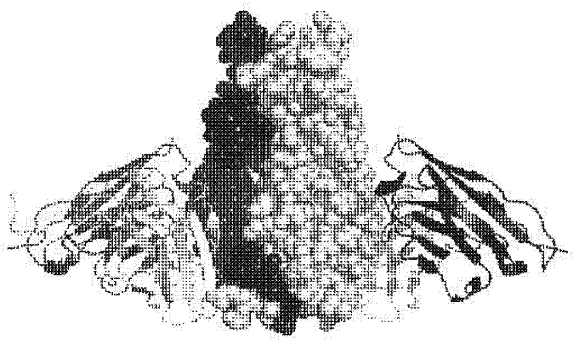


Fig. 4B

【図５】

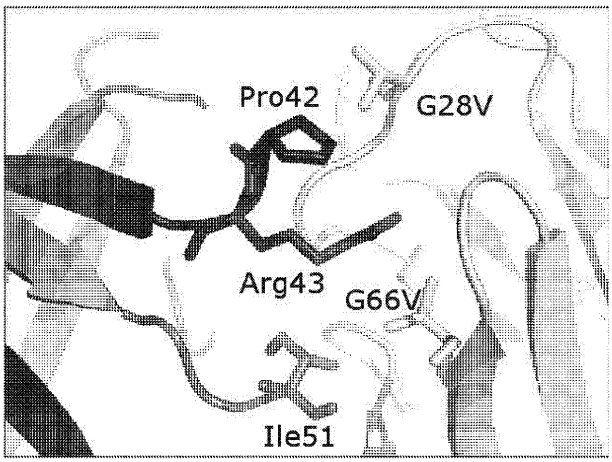


Fig. 5

【図６】

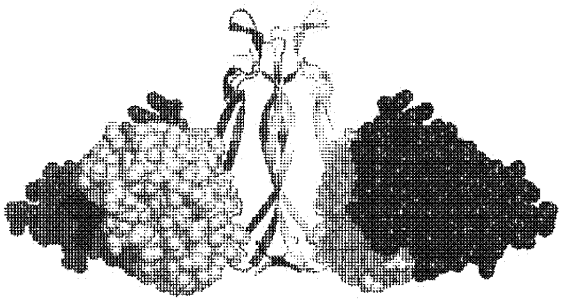


Fig. 6A

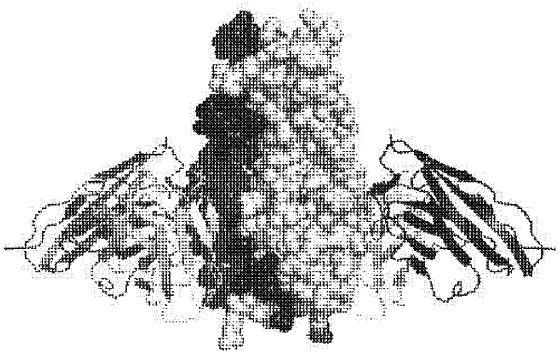


Fig. 6B

【図７】

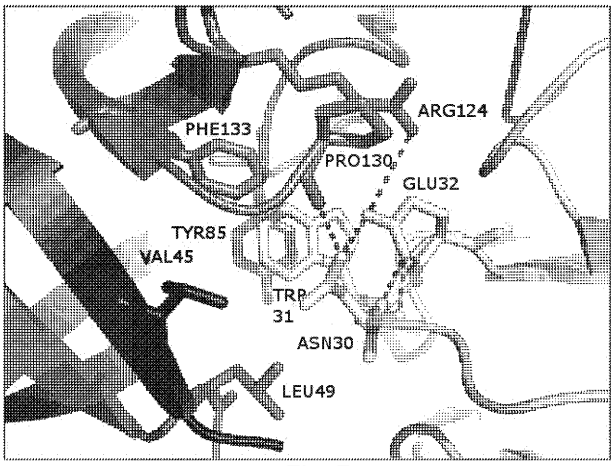


Fig. 7

【図８】

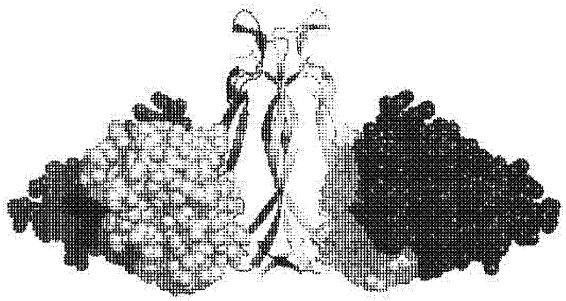


Fig. 8A

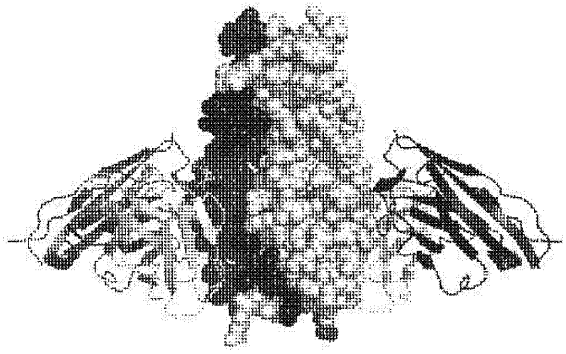


Fig. 8B

【図９】

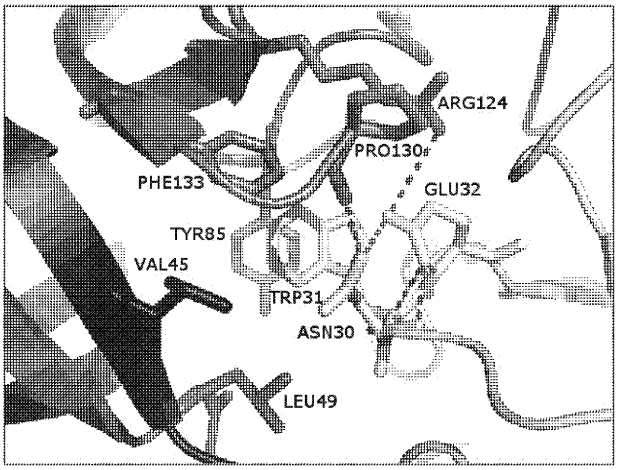


Fig. 9

【図１０】

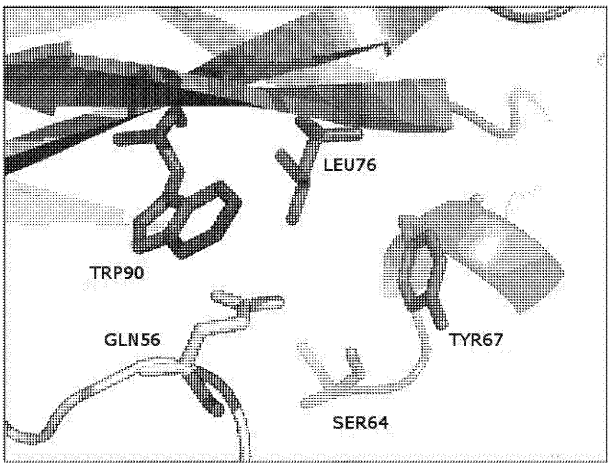


Fig. 10

【図１１】

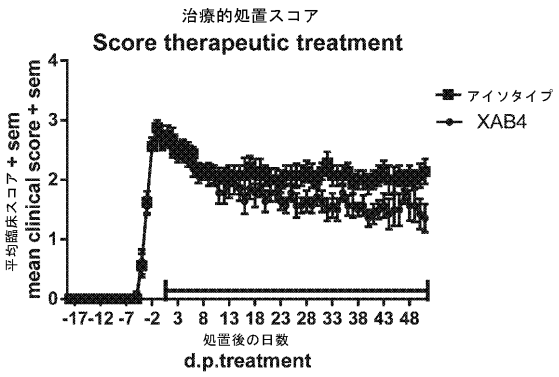


Fig. 11

【図１２】

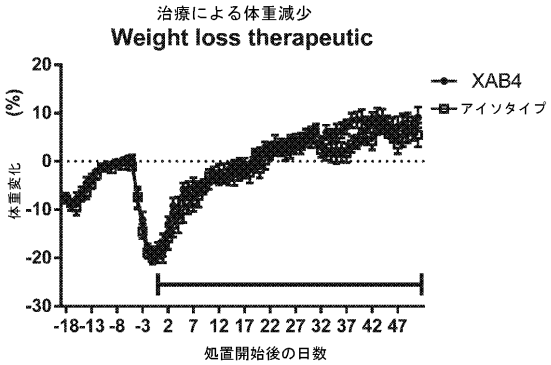


Fig. 12

【図１３】

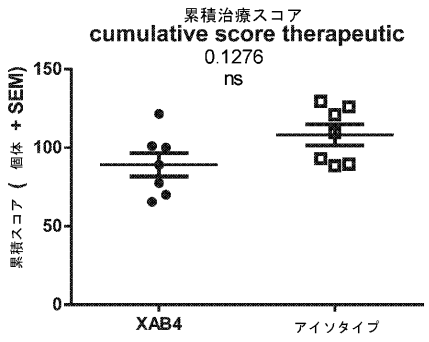


Fig. 13

【図１４】

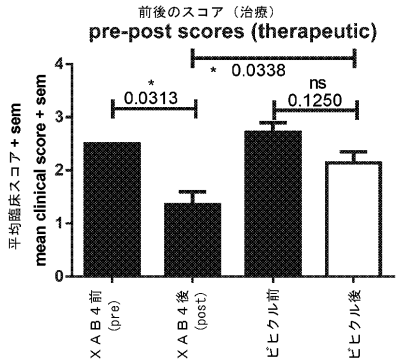


Fig. 14

【図１５】

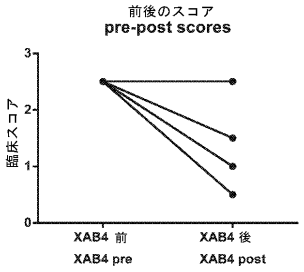


Fig. 15A

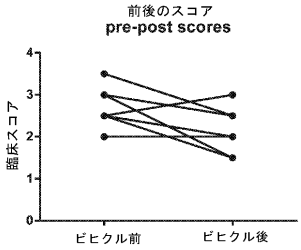


Fig. 15B

【図１６】

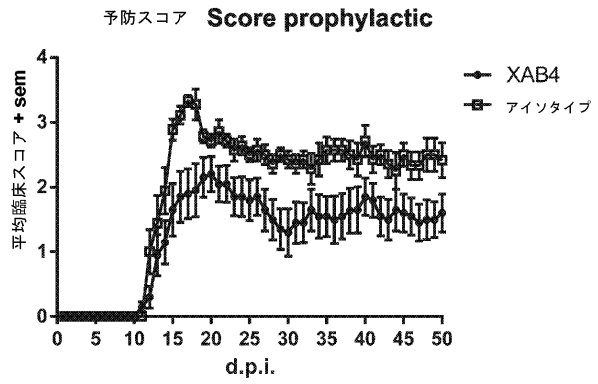


Fig. 16

【図１７】

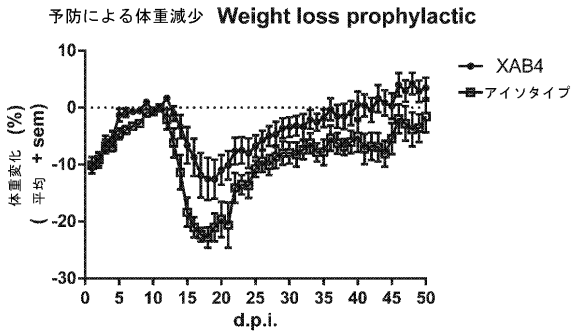


Fig. 17

【図１８】

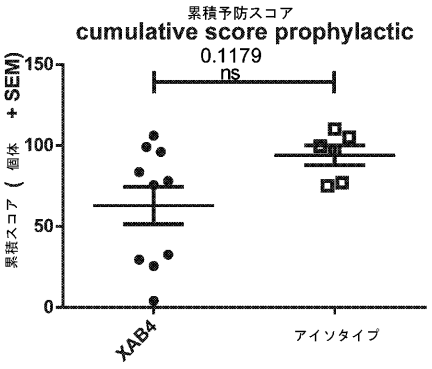


Fig. 18

【図１９】

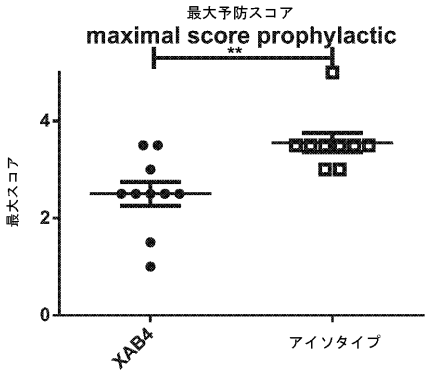


Fig. 19

【図２０】

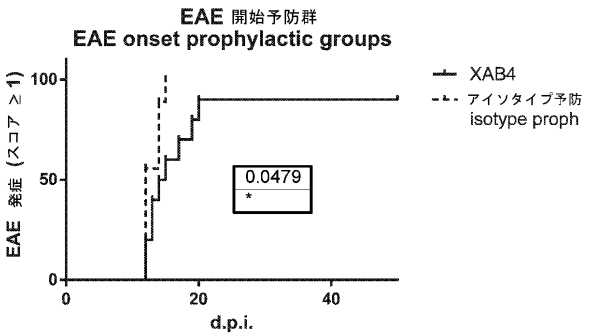


Fig. 20

【図２１】

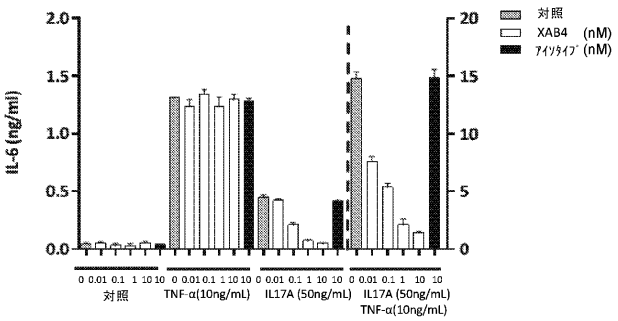


Fig. 21A

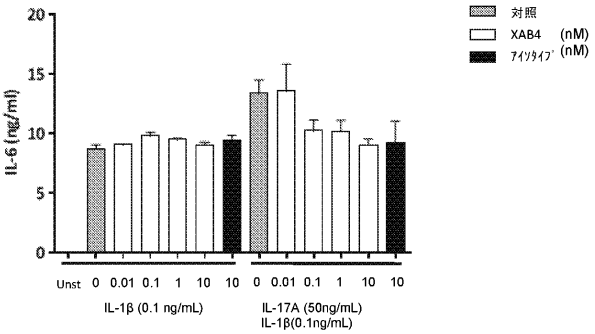


Fig. 21B

【図２２】

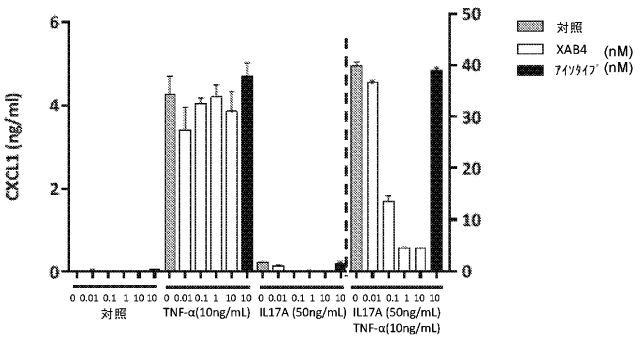


Fig. 22A

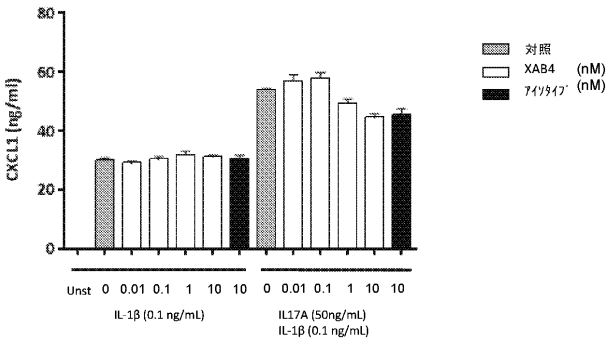


Fig. 22B

【図２３】

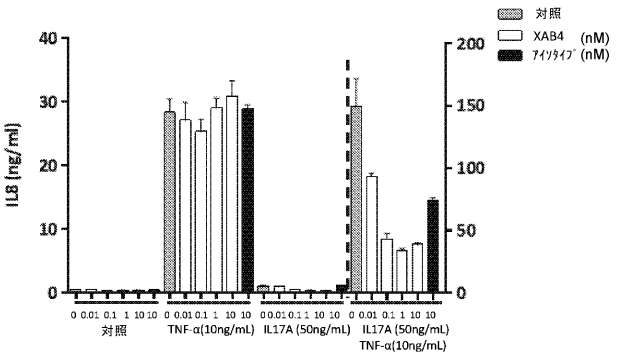


Fig. 23A

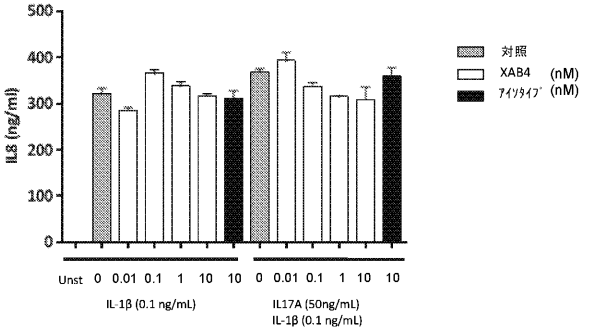


Fig. 23B

【図２４】

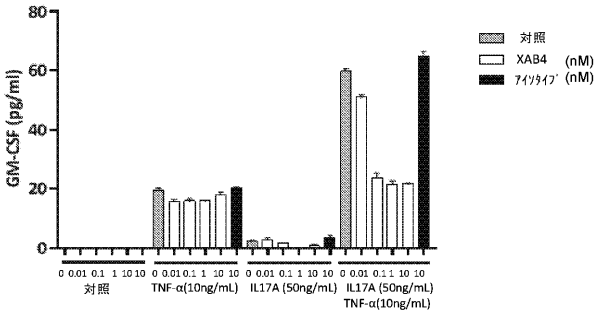


Fig. 24A

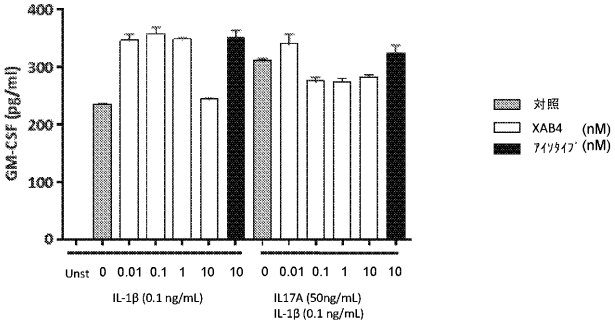


Fig. 24B

【図２５】

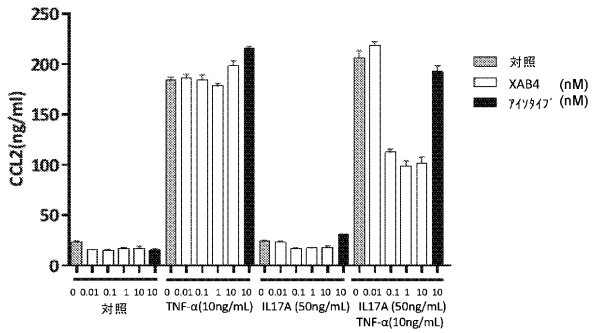


Fig. 25A

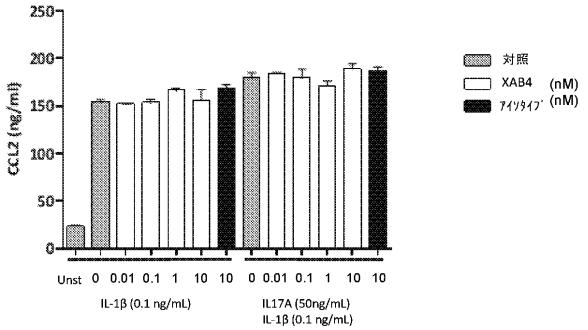


Fig. 25B

【図３－１】

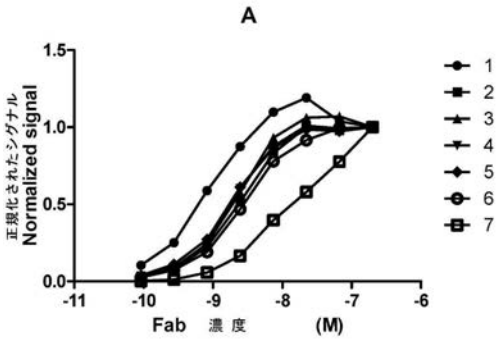


Fig. 3A

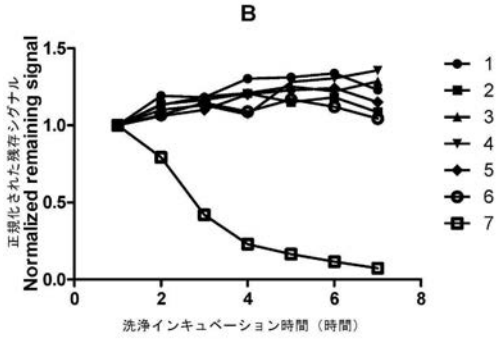


Fig. 3B

【図３－２】

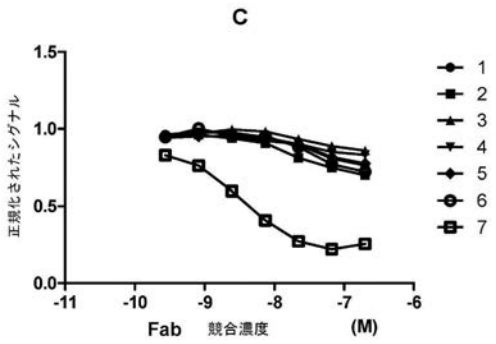


Fig. 3C

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
C12N 1/21	*(2006.01)*	C12N	1/21	
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N	5/10	
C12P 21/08	*(2006.01)*	C12P	21/08	
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	U
A61K 45/00	*(2006.01)*	A61K	45/00	
A61P 43/00	*(2006.01)*	A61P	43/00	１２１
A61P 29/00	*(2006.01)*	A61P	29/00	
A61P 19/02	*(2006.01)*	A61P	19/02	
A61P 11/00	*(2006.01)*	A61P	11/00	
A61P 17/06	*(2006.01)*	A61P	17/06	
A61P 37/02	*(2006.01)*	A61P	37/02	
A61P 25/00	*(2006.01)*	A61P	25/00	
A61P 11/06	*(2006.01)*	A61P	11/06	
A61P 13/12	*(2006.01)*	A61P	13/12	
A61K 38/00	*(2006.01)*	A61K	37/02	

(72)発明者　フーバー，トーマス
スイス国　バーゼル　ツェーハー－４００２，ポストファッハ，ノバルティス　ファーマ　アーゲー内
(72)発明者　ロンドー，ジャン－ミッチェル，レネ
スイス国　バーゼル　ツェーハー－４００２，ポストファッハ，ノバルティス　ファーマ　アーゲー内

Ｆターム(参考)　4B064 AG27 CA19 CC24 CE12 CE15 DA01
4B065 AA26X AA92Y AA93X AA94Y AA98X AB01 AC14 BA01 BA02 CA25 CA44
4C084 AA02 AA07 AA19 CA53 NA14 ZA02 ZA59 ZA61 ZA81 ZA96 ZB07 ZB11 ZB15 ZC01 ZC75
4C085 AA14 AA16 BB11 CC22 DD33 DD62 EE01
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA76 EA20 EA22 FA74 GA26 GA40

【外国語明細書】
2017018106000001.pdf