(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-531989
(P2023-531989A)
(43)公表日　令和5年7月26日(2023.7.26)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C12N 15/13	*(2006.01)*	C12N	15/13	ZNA	4B064
C12N 15/63	*(2006.01)*	C12N	15/63	Z	4B065
C12N 1/15	*(2006.01)*	C12N	1/15		4C076
C12N 1/19	*(2006.01)*	C12N	1/19		4C084
C12N 1/21	*(2006.01)*	C12N	1/21		4C085

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全372頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-579796(P2022-579796)
(86)(22)出願日　令和3年6月25日(2021.6.25)
(85)翻訳文提出日　令和5年2月21日(2023.2.21)
(86)国際出願番号　PCT/EP2021/067579
(87)国際公開番号　WO2021/260209
(87)国際公開日　令和3年12月30日(2021.12.30)
(31)優先権主張番号　62/705,608
(32)優先日　令和2年7月7日(2020.7.7)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/705,434
(32)優先日　令和2年6月26日(2020.6.26)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　20205426.8
最終頁に続く

(71)出願人　313006625
バイエル・アクチエンゲゼルシヤフト
ドイツ連邦共和国、５１３７３・レーフエルクーゼン、カイザー－ヴイルヘルム－アレー・１
(74)代理人　100114188
弁理士　小野　誠
(74)代理人　100119253
弁理士　金山　賢教
(74)代理人　100124855
弁理士　坪倉　道明
(74)代理人　100129713
弁理士　重森　一輝
(74)代理人　100137213
弁理士　安藤　健司
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＣＣＲ８抗体及びその使用

(57)【要約】
本発明は、ＣＣ又はＣＸＣケモカイン受容体等のケモカイン受容体に特異的に結合する抗体を作製するためのツール及び方法に関する。抗ヒト、抗カニクイザル及び／又は抗マウスケモカイン受容体抗体の生成を促進するために、例えば完全ヒトＣＤＲ及び／又は治療的使用のための他の好ましい特性を有する抗体の生成のために、例えば抗原として又はオフターゲットパニングのために使用することができる、単離された硫酸化ポリペプチド及びそのコンジュゲートが提供される。本発明は更に、上述のツール及び方法を適用することによって得ることができる抗体及びそのコンジュゲートに関する。治療的使用のための好ましい特性を有するヒト、カニクイザル及び／又はマウスＣＣＲ８に特異的に結合する抗体、例えば交差反応性抗体、完全ヒト抗体、低内在化（非内在化を含む）抗体、並びにＴｒｅｇ細胞においてＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰを効率的に誘導する抗体が提供される。本発明の抗体又はコンジュゲートの医学的使用、及び／又はこれらの抗体を単独で又は組み合わせて患者又は対象に投与することを含む処置方法も提供される。抗ＣＣＲ８抗体単独療法又は併用療法に対する応答性を予測又は評価するためのバイオマーカー、層別化方法及び診断方法が最終的に提供される。本発明は更に、前述の抗体を製造するためのツール及び方法、医薬組成物、抗体の診断的使用、並びに使用説明書付きキットを提供する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又は抗原結合断片が、非内在化であるか、又は前記アイソタイプ対照の内在化の１．５、２、３、４、５、６、７若しくは１０倍よりも低い内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とする、単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２】
ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又は断片が、１０～３４％のチロシン及び／又は２～２０％のヒスチジンを含むＨＣＤＲ３領域を特徴とする、単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３】
前記抗体がヒト由来ＣＤＲを含む、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項４】
前記抗体又は抗原結合断片が、好ましくはヒト、カニクイザル及びマウスから選択される少なくとも２つの種からのＣＣＲ８に対して交差反応性であり、最も好ましくは前記抗体又は抗原結合断片がヒト及びカニクイザルＣＣＲ８に対して交差反応性である、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５】
ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、
前記抗体又は抗原結合断片が、
ａ．ＣＣＬ１誘導性β－アレスチンシグナル伝達を遮断しない、及び／又は
ｂ．ＥＲＫ１／２リン酸化を誘導しない、及び／又は
ｃ．ＡＫＴリン酸化を誘導しない、
単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６】
ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、
前記抗体又は抗原結合断片がアフコシル化されており、
ａ．ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し、
ｂ．ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導し、
ｃ．ヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞の最大ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰ誘導性ｉｎ　ｖｉｔｒｏ枯渇が、少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％又は９９％である、
単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項７】
前記抗体又は抗原結合断片が、非内在化であるか、又は前記アイソタイプ対照の内在化の１．５、２、３、４、５、６、７若しくは１０倍よりも低い内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とする、請求項２～６のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。
【請求項８】
前記抗体又は抗原結合断片が、１０～３４％のチロシン及び／又は２～２０％のヒスチジンを含むＨＣＤＲ３領域を特徴とする、請求項１、又は３～７のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。
【請求項９】
前記抗体がヒト由来のＣＤＲを含む、請求項１～２、又は４～８のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。
【請求項１０】
前記抗体又は抗原結合断片が、好ましくはヒト、カニクイザル及びマウスから選択され

る少なくとも２つの種からのＣＣＲ８に対して交差反応性であり、最も好ましくは前記抗体又は抗原結合断片がヒト及びカニクイザルＣＣＲ８に対して交差反応性である、請求項１～３又は５～９のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項１１】

前記抗体又は抗原結合断片が、第１の解離定数ＫＤで第１の種由来の前記ＣＣＲ８に結合し、第２の解離定数ＫＤで第２の種由来の前記ＣＣＲ８に結合し、前記第１及び第２の解離定数が同程度の大きさである、請求項１～１０のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項１２】

前記抗体又は抗原結合断片が、

ａ．ＣＣＬ１誘導性β－アレスチンシグナル伝達を遮断しない、及び／又は

ｂ．ＥＲＫ１／２リン酸化を誘導しない、及び／又は

ｃ．ＡＫＴリン酸化を誘導しない、

請求項１～４、又は６～１１のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項１３】

前記抗体又は抗原結合断片が、

ａ．ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し、

ｂ．ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導し、

ｃ．ヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞の最大ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰ誘導性ｉｎ　ｖｉｔｒｏ枯渇が、少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％又は９９％であってもよい、

請求項１～５又は７～１２のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項１４】

前記抗体又は抗原結合断片が、ＣＣＲ８の硫酸チロシンリッチドメインに特異的に結合する、請求項１～１３のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項１５】

（ｉ）＜１５ｎＭ、＜１０ｎＭ、＜５ｎＭ、＜１ｎＭ若しくは＜０．６ｎＭのＥＣ５０で、

ａ．Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、ヒトＣＣＲ８及び／若しくは配列番号４６に記載の単離されたポリペプチド、並びに／若しくは

ｂ．Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、カニクイザルＣＣＲ８及び／若しくは配列番号４７に記載の単離されたポリペプチド、並びに／若しくは

ｃ．Ｙ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、マウスＣＣＲ８及び／若しくは配列番号４８に記載の単離されたポリペプチド

に特異的に結合し、並びに／又は

（ｉｉ）＜５０ｎＭ、＜２５ｎＭ、＜１５ｎＭ若しくは＜１０ｎＭのＥＣ５０で活性化ヒト制御性Ｔ細胞

に特異的に結合する、請求項１～１４のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項１６】

ａ．前記抗体又は抗原結合断片が、５３０ｎＭ、５００ｎＭ、４５０ｎＭ、４００ｎＭ、３００ｎＭ若しくは２００ｎＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマ受容体ＩＩＩＡ変異体Ｖ１７６（ＣＤ１６ａ）に結合し、及び／又は

ｂ．前記抗体又は抗原結合断片が、３０μＭ、２０μＭ、１０μＭ、５μＭ若しくは１μＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマＲＩＩＡ（ＣＤ３２ａ）に結合する、

請求項１～１５のいずれかに記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項１７】
前記抗体又は抗原結合断片が、アフコシル化されている、請求項１～１６のいずれかに記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１８】
前記抗体又は抗原結合断片が、
ａ．ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し、及び／又は
ｂ．ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導し、好ましくは、
ｃ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＣ誘導性最大枯渇は、少なくとも２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％若しくは９９％であり、及び／又は
ｄ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＰ誘導性最大枯渇は、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、４０％若しくは５０％であり、及び／又は
ｅ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞の最大ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰ誘導性ｉｎ　ｖｉｔｒｏ枯渇は、少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％若しくは９９％である、
請求項１～１７のいずれかに記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１９】
ａ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＣ誘導性枯渇に対する抗体若しくは抗原結合断片のＥＣ５０が、１００ｐＭ、５０ｐＭ、２５ｐＭ、１２．５ｐＭ、１０ｐＭ若しくは５ｐＭ未満であり、及び／又は
ｂ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＰ誘導性枯渇に対する抗体若しくは抗原結合断片のＥＣ５０が、５００ｐＭ、２５０ｐＭ、２００ｐＭ、１５０ｐＭ、１００ｐＭ、７５ｐＭ、５０ｐＭ若しくは２５ｐＭ未満である、
請求項１～１８のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。
【請求項２０】
有効量の前記抗体又は抗原結合断片が、
ａ．ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくは対象において活性化若しくは腫瘍内制御性Ｔ細胞の数を５０％、４０％、３０％、２５％、２０％、１０％、５％若しくは１％未満に減少させる、及び／又は
ｂ．ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくは対象における腫瘍内Ｔｒｅｇに対する腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の比を少なくとも５、１０、１５、２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１５０、２００若しくはそれを超えて増加させる、及び／又は
ｃ．ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくは対象における腫瘍内ＣＤ４＋Ｔ細胞の制御性Ｔ細胞のパーセンテージを３０％未満、２０％未満、１０％未満若しくは５％未満に減少させる、
請求項１～１９のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。
【請求項２１】
有効量の前記抗体又は抗原結合断片が腫瘍における三次リンパ系構造の形成を誘導する、請求項１～２０のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。
【請求項２２】
前記抗体が、ＩｇＧ抗体、好ましくはヒトＩｇＧ１若しくはマウスＩｇＧ２ａであり、及び又は前記抗原結合断片がｓｃＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’若しくはＦ（ａｂ’）２断片である、請求項１～２１のいずれかに記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２３】
請求項１～２２のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片を含むコンジュゲートであって、好ましくは、前記コンジュゲートが、
ａ．放射性元素、
ｂ．オーリスタチン、メイタンシノイド、キネシンスピンドルタンパク質阻害剤、ニコチンアミドホスホリボシルトランスフェラーゼ阻害剤若しくはピロロベンゾジアゼピン誘

導体等の細胞傷害剤、
　ｃ．更なる抗体若しくは抗原結合断片、又は
　ｄ．キメラ抗原受容体、
　を含む、コンジュゲート。
【請求項２４】
　請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は請求項２３に記載のコンジュゲートを含む、医薬組成物。
【請求項２５】
　好ましくは、以下から選択される１つ以上の更なる治療活性化合物を含む、請求項２４に記載の医薬組成物：
　ａ．ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１若しくはＣＴＬＡ－４等のチェックポイントタンパク質を標的とする抗体若しくは化合物
　（好ましくは、チェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は化合物は、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、ドスタリマブ又はイピリムマブである）、
　ｂ．ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体、
　ｃ．ＨＥＲ２及び／若しくはＥＧＦＲを標的とする抗体若しくは小分子、
　ｄ．頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌及び食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、並びに／若しくは前立腺癌のいずれかに対する標準治療、
　ｅ．化学療法剤、好ましくはタキサン、パクリタキセル、ドキソルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン若しくはゲムシタビン、
　ｅ．抗ＣＤ１９抗体若しくは抗ＣＤ２０抗体等のＢ細胞枯渇剤並びに／又は
　ｆ．ソラフェニブ、レゴラフェニブ若しくはＭＥＫｉ－１等の標的化キナーゼ阻害剤。
【請求項２６】
　医薬品として使用するための、請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は請求項２３に記載のコンジュゲート、又は請求項２４若しくは２５に記載の医薬組成物。
【請求項２７】
　ＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞等のＣＣＲ８陽性細胞を特徴とする腫瘍又は疾患の処置に使用するための、請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は請求項２３に記載のコンジュゲート、又は請求項２４若しくは２５に記載の医薬組成物。
【請求項２８】
　ＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞等のＣＣＲ８陽性細胞を特徴とする腫瘍又は疾患の処置において、
　（ｉ）好ましくは、
　ａ．ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１若しくはＣＴＬＡ－４等のチェックポイントタンパク質を標的とする抗体若しくは小分子（好ましくは、チェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は小分子が、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、ドスタリマブ又はイピリムマブである）、
　ｂ．ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体、
　ｃ．腫瘍細胞によって特異的に発現されるタンパク質を標的とする抗体、
　ｄ．ＨＥＲ２及び／若しくはＥＧＦＲを標的とする抗体若しくは小分子、
　ｅ．頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、及び／若しくは前立腺癌のいずれかに対する標準治療、

ｆ．化学療法剤、好ましくはタキサン、パクリタキセル、ドキソルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン若しくはゲムシタビン、並びに／若しくは
ｇ．ソラフェニブ、レゴラフェニブ若しくはＭＥＫｉ－１等の標的化キナーゼ阻害剤
から選択される１つ以上の更なる治療活性化合物と、並びに／又は
（ｉｉ）放射線療法と、並びに／又は
（ｉｉｉ）腫瘍内Ｂ細胞の枯渇と、
同時、別々又は逐次の組み合わせで使用するための、請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は請求項２３に記載のコンジュゲート、又は請求項２４若しくは２５に記載の医薬組成物。
【請求項２９】
前記腫瘍が、Ｔ細胞急性リンパ芽球性白血病、乳癌、トリプルネガティブ乳癌、トリプルポジティブ乳癌、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、小細胞肺癌（ＳＣＬＣ）、精巣癌、胃癌、頭頸部扁平上皮癌、胸腺腫、食道腺癌、結腸直腸癌、膵臓腺癌、卵巣癌若しくは子宮頸癌、急性骨髄性白血病、腎臓癌、膀胱癌、皮膚癌、黒色腫、甲状腺癌、中皮腫、肉腫及び前立腺癌、Ｂ細胞リンパ腫、Ｔ細胞リンパ腫、又はＣＣＲ８発現細胞を伴う任意の他の癌の群から選択され、好ましくは前記腫瘍が、頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、前立腺癌、Ｂ細胞リンパ腫及びＴ細胞リンパ腫から選択される、請求項２７又は２８に記載の使用のための抗体、断片、コンジュゲート又は医薬組成物。
【請求項３０】
前記使用が、
ａ．腫瘍浸潤リンパ球の存在若しくは量、
ｂ．マクロファージ及び／若しくはＮＫ細胞の存在若しくは量、
ｃ．ＣＣＲ８陽性若しくはＦＯＸＰ３陽性制御性Ｔ細胞の存在若しくは量、
ｄ．腫瘍突然変異負荷、
ｅ．癌の病期分類、
ｆ．インターフェロン刺激遺伝子若しくはタンパク質の存在、レベル若しくは活性化、
ｇ．ＣＣＲ８発現、
ｈ．補体因子タンパク質、セルピン、及び／若しくはＭＨＣ成分の存在若しくは量、
ｉ．炎症性若しくは抑制性サイトカイン等のサイトカインの存在若しくは量、
ｊ．免疫遺伝子発現の活性化、並びに／又は
ｋ．ＰＤ－（Ｌ）１若しくはＣＴＬＡ４発現等の免疫チェックポイント（タンパク質）発現、
ｌ．腫瘍浸潤ＣＤ１９＋Ｂ細胞の存在若しくは量、
ｍ．腫瘍浸潤ＣＤ８＋Ｔ細胞の存在若しくは量、
を処置の成功を予測又はモニターするために決定することを含む、請求項２６～２９に記載の使用のための抗体、断片、コンジュゲート、又は医薬組成物。
【請求項３１】
請求項１～２２のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片をコードするポリヌクレオチド。
【請求項３２】
請求項３１に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。
【請求項３３】
請求項１～２２のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片の製造のために構成された、単離細胞。
【請求項３４】
請求項３３に記載の細胞を培養することと、抗体又は抗原結合断片を精製してもよいことを含む、請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は請求項２３に記載のコンジュゲートを製造する方法。
【請求項３５】

ｉｎ ｖｉｖｏ又はｉｎ ｖｉｔｒｏで診断剤として使用するための、請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項２３に記載のコンジュゲート。

【請求項３６】

請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は請求項２３に記載のコンジュゲート、又は請求項２４若しくは２５に記載の医薬組成物を使用説明書と共に含む、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、ＣＣ又はＣＸＣケモカイン受容体等のケモカイン受容体に特異的に結合する抗体を作製するためのツール及び方法に関する。抗ヒト、抗カニクイザル及び／又は抗マウスケモカイン受容体抗体の生成を促進するために、例えば完全ヒトＣＤＲ及び／又は治療的使用のための他の好ましい特性を有する抗体の生成のために、例えば抗原として又はオフターゲットパニングのために使用することができる、単離された硫酸化ポリペプチド及びそのコンジュゲートが提供される。

【０００２】

本発明は更に、上述のツール及び方法を適用することによって得ることができる抗体及びそのコンジュゲートに関する。治療的使用のための好ましい特性を有するヒト、カニクイザル及び／又はマウスＣＣＲ８に特異的に結合する抗体、例えば交差反応性抗体、完全ヒト抗体、低内在化（非内在化を含む）抗体、並びにＴｒｅｇ細胞においてＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰを効率的に誘導する抗体が提供される。

【０００３】

本発明の抗体又はコンジュゲートの医学的使用、及び／又はこれらの抗体を単独で又は組み合わせて患者又は対象に投与することを含む処置方法も提供される。抗ＣＣＲ８抗体単独療法又は併用療法に対する応答性を予測又は評価するためのバイオマーカー、層別化方法及び診断方法が最終的に提供される。

【０００４】

本発明は更に、前述の抗体を製造するためのツール及び方法、医薬組成物、抗体の診断的使用、並びに使用説明書付きキットを提供する。

【背景技術】

【０００５】

技術的課題

ＣＣ及びＣＸＣケモカイン受容体に対する抗体産生

ＣＸＣ及びＣＣケモカイン受容体は、走化性勾配において細胞遊走を媒介する特異的な７回膜貫通Ｇタンパク質共役受容体である。ケモカイン受容体は、それらの固有の構造的、生物物理学的及び生物学的特性のために、抗体生成にとって困難な標的クラスである。

【０００６】

ケモカイン受容体に対する最適な抗体を得ることが困難であることには複数の理由があり、これらはヒトＣＣＲ８に重点を置いて例示的な様式で議論されるものである。

【０００７】

ケモカイン受容体は、細胞膜に埋め込まれた７つのドメインを特徴とするため、それらの天然の確認では容易に精製することができない。精製された天然のケモカイン受容体は、膜環境から除去されており、したがって、コンフォメーションが損なわれる可能性がある。これらの破壊された構造は、典型的には、インタクトな抗原が細胞表面に提示されるときにインタクトな抗原を認識するために抗体が必要とされるので、抗体生成には適していない。ＣＸＣＲ４及びＣＣＲ５等のいくつかのケモカイン受容体は、穏やかな界面活性剤での精製を可能にするいくらかの固有の安定性を有するが、これはほとんどのケモカイン受容体には当てはまらない（Ｈｕｔｃｈｉｎｇｓ，Ｃａｔｈｅｒｉｎｅ Ｊ．，ｅｔ ａｌ．“Ｏｐｐｏｒｔｕｎｉｔｉｅｓ ｆｏｒ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｄｉｒｅｃｔｅｄ ａｔ Ｇ－ｐｒｏｔｅｉｎ－ｃｏｕｐｌｅｄ ｒｅｃｅｐ

ｔｏｒｓ．”Ｎａｔｕｒｅ ｒｅｖｉｅｗｓ Ｄｒｕｇ ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ １６．１１（２０１７）：７８７．）。これは、今日まで、タンパク質データバンクＰＤＢ（ｒｃｓｂ．ｏｒｇ）においてＣＣＲ８について利用可能なＸ線結晶構造がないという事実によって強調される。

【０００８】

結果として、天然の立体配座で必要な量のタンパク質、並びに免疫原として使用するための正しい配向及び折り畳みを得るための可溶化は、ケモカイン受容体にとって困難である（Ｋｌａｒｅｎｂｅｅｋ，Ａｌｅｘ，ｅｔ ａｌ．“Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｃｈｅｍｏｋｉｎｅｓ ａｎｄ ｃｈｅｍｏｋｉｎｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ ｗｉｔｈ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ．”Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ Ｔｏｄａｙ：Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ ９．４（２０１２）：ｅ２３７－ｅ２４４．を参照）。

【０００９】

ヒトＣＣＲ８の全体構造の概略図を図２ｂに示す。３５５アミノ酸のうち、残基１～３５（Ｎ末端）、９４～１０７（ＥＣＬ１）、１７２～２０２（ＥＣＬ２）及び２６４～２８０（ＥＣＬ３）は、細胞外ドメインとして予測されている（ｕｎｉｐｒｏｔ．ｏｒｇ）。これらの細胞外ドメインは、ジスルフィド結合によって安定化された三次構造をとると考えられる。したがって、平均して、３０％未満のケモカイン受容体が細胞表面に露出される。結果として、国際公開第２００７４４７５６号にも記載されているように、ケモカイン受容体、特にＣＣＲ８は、抗体結合に容易にアクセスできない。

【００１０】

さらに、ケモカイン受容体の細胞外ドメインに対応するペプチドに対して生成された抗体は、おそらく二次構造の違いにより、細胞上のインタクトな受容体を認識できないことが多い。結果として、この分野の研究者らの抗体の開発における成功率は低かった（Ｔｓｃｈａｍｍｅｒ，Ｎｕｓｋａ，ｅｄ．Ｃｈｅｍｏｋｉｎｅｓ：ｃｈｅｍｏｋｉｎｅｓ ａｎｄ ｔｈｅｉｒ ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ ｉｎ ｄｒｕｇ ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ．Ｖｏｌ．１４．Ｓｐｒｉｎｇｅｒ，２０１５，Ｃｈａｐｔｅｒ ｂｙ Ｊ．Ｅ．Ｐｅａｓｅ＆Ｒ．Ｈｏｒｕｋ，ｓｅｃｔｉｏｎ ６，ｐａｇｅ １２，２ｎｄ ｐａｒａ）。

【００１１】

抗マウスＣＣＲ８抗体を得るための抗体生成は、わずかにそれほど困難ではないようであり、Ｋｒｅｍｅｒ及びＭａｒｑｕｅｚによって記載されたもの等の従来のアプローチは、本発明者らによって再現することができた（Ｄ’Ａｍｂｒｏｓｉｏ，Ｄａｎｉｅｌｅ，ａｎｄ Ｆｒａｎｃｅｓｃｏ Ｓｉｎｉｇａｇｌｉａ．Ｃｅｌｌ Ｍｉｇｒａｔｉｏｎ ｉｎ Ｉｎｆｌａｍｍａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｉｔｙ．Ｓｐｒｉｎｇｅｒ，２００４．，Ｃｈａｐｔｅｒ ｂｙ Ｋｒｅｍｅｒ ａｎｄ Ｍａｒｑｕｅｚ ｐ．２４３－２６０）。マウス及びヒトＣＣＲ８は約７０％の配列同一性を有し、これは実施例２により詳細に記載されるように、細胞外ドメインについては更に低い。それにもかかわらず、Ｋｒｅｍｅｒ及びＭａｒｑｕｅｚは、抗マウスケモカイン受容体モノクローナル抗体の産生は困難な課題であり、マウスケモカイン受容体に対する抗体は、それらのアミノ酸配列が最初に報告されてから時間が経過しているにもかかわらず、比較的少ないと論じている。

【００１２】

ＣＣＲ８のための治療用抗体及びその医学的使用

それらの生成に伴う困難にもかかわらず、ＣＣケモカイン受容体を標的とする抗体は、例えば免疫細胞の関与を伴う疾患又はケモカイン受容体の異常な発現を特徴とする様々な癌適応症における機構的洞察に基づいて、様々な疾患における有望な治療ツールとして示唆されている。

【００１３】

２００４年に、Ｃｕｒｉｅｌ ｅｔ ａｌ．は、卵巣癌に罹患した１０４人の個体におけるＣＤ４＋ＣＤ２５＋ＦＯＸＰ３＋制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ細胞又はＴｒｅｇ）について、ヒト腫瘍Ｔｒｅｇ細胞が腫瘍特異的Ｔ細胞免疫を抑制し、ｉｎ ｖｉｖｏでのヒト腫

瘍の成長に寄与することを示すことができた（Ｃｕｒｉｅｌ，Ｔｙｌｅｒ Ｊ．，ｅｔａｌ．“Ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｒｅｃｒｕｉｔｍｅｎｔ ｏｆ ｒｅｇｕｌａｔｏｒｙ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ｏｖａｒｉａｎ ｃａｒｃｉｎｏｍａ ｆｏｓｔｅｒｓ ｉｍｍｕｎｅ ｐｒｉｖｉｌｅｇｅ ａｎｄ ｐｒｅｄｉｃｔｓ ｒｅｄｕｃｅｄ ｓｕｒｖｉｖａｌ．”Ｎａｔｕｒｅ ｍｅｄｉｃｉｎｅ １０．９（２００４）：９４２－９４９．）。

【００１４】

腫瘍細胞及び微小環境マクロファージは、腫瘍へのＴｒｅｇ細胞の輸送を媒介するＣＣＬ２２等のケモカインを産生する。腫瘍微小環境における高レベルのＴｒｅｇは、卵巣癌、乳癌、腎癌及び膵癌等の多くの癌における予後不良に関連するだけでなく、例えば免疫系のエフェクター細胞の作用を抑制することによって、これらの癌に対する免疫応答の抑制を引き起こす。したがって、Ｔｒｅｇ細胞のこの特異的な動員は、腫瘍が免疫特権を促進し得る機構を表す。したがって、Ｔｒｅｇ細胞の移動又は機能を遮断してヒト癌を無効にすることが示唆されている。

【００１５】

Ｃｕｒｉｅｌの発見を認識して、Ｐｌｉｔａｓ／Ｒｕｄｅｎｓｋｙ及びＤｅ Ｓｉｍｏｎｅ／Ａｂｒｉｇｎａｎｉ／Ｐａｇａｎｉの周りの２つの独立したチームは、腫瘍浸潤Ｔｒｅｇ細胞がＣＣＲ８の選択的発現を特徴とすることを見出した。実際、腫瘍浸潤Ｔｒｅｇに対するＴｒｅｇ細胞枯渇の選択性は、Ｔｒｅｇ細胞の全身枯渇が重度の自己免疫を引き起こし得ることから重要である（Ｎｉｓｈｉｋａｗａ，Ｈｉｒｏｙｏｓｈｉ，ａｎｄ Ｓｈｉｍｏｎ Ｓａｋａｇｕｃｈｉ．“Ｒｅｇｕｌａｔｏｒｙ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ｔｕｍｏｒ ｉｍｍｕｎｉｔｙ．”Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｃａｎｃｅｒ １２７．４（２０１０）：７５９－７６７．）。特定のＴｒｅｇマーカーの探索は、Ｔｒｅｇ細胞がエフェクターリンパ球に似た分子パターンを示すという事実のため複雑である（実施例１１．２を参照）。末梢Ｔｒｅｇは自己免疫を回避するために重要であるが、腫瘍特異的エフェクター細胞は腫瘍を制御下に保つのを助けることから、末梢Ｔｒｅｇと腫瘍特異的エフェクター細胞の両方が、腫瘍内Ｔｒｅｇの枯渇中に同士討ちにあうべきではない。

【００１６】

これらの知見に基づいて、様々なチームが、腫瘍浸潤制御性Ｔ細胞の選択的枯渇のためにＣＣＲ８抗体を使用することを示唆した。いくつかは、抗ヒトＣＣＲ４又は抗マウスＣＣＲ８抗体を使用した腫瘍モデルにおける腫瘍減少を確認するデータを提示しており、それによってＴｒｅｇ枯渇の機構的概念を確認しているが、例えば治療用途において優れた特性を有する治療用抗ヒトＣＣＲ８抗体が必要とされている。

【００１７】

従来技術

１．１抗原、方法及び抗体

抗体生成における抗原の選択は、得られる抗体の特性にとって重要であり、ＣＣＲ８等のケモカイン受容体について本明細書の他の箇所で論じられているように深刻な問題を引き起こす可能性がある。いくつかの場合、抗体は、ケモカイン受容体の過剰発現のために操作された全細胞を抗原として使用して得られている。少なくともいくつかのケモカイン受容体について、これらのアプローチは、結果として生じる結合剤の数が少ないようである。さらに、これらの抗原を用いて得られる抗体は、しばしば、オフターゲット結合及びケモカイン受容体に対する低い特異性を特徴とする。全細胞が抗原として使用される場合、免疫優性エピトープは、他の低抗原性エピトープをマスクすることができ、低抗原性エピトープは、そうでなければ所望の選択的及び特異的抗体を生成する可能性を有する。

【００１８】

ＣＣＲ８については、成功した「ホールセル」アプローチが国際公開第２００７０４４７５６号（ＩＣＯＳ）に記載されている。簡単に記載すると、細胞表面に高レベルのＣＣＲ８が発現されたＣＣＲ８をトランスフェクトした放射線照射細胞をＢａｌｂ／ｃマウスに免疫することによって、抗ＣＣＲ８モノクローナル抗体を開発した。これらのマウス由

来の脾臓細胞を標準的な方法によって融合して、抗体を産生するハイブリドーマを作製した。陽性プールをＦＡＣＳによって同定し、限界希釈によってクローニングした。抗体のうちの２つ、４３３Ｈ及び４５９Ｍは、免疫組織化学においてヒトＣＣＲ８に対する特異的反応性を示した。抗体４３３Ｈは依然として入手可能であり、ＢＤから購入することができる。

【００１９】

Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄは、免疫原としてヒトＣＣＲ８トランスフェクタントを使用して生成された精製マウスＩｇＧ２ａ抗ヒトＣＣＲ８抗体であるクローンＬ２６３Ｇ８を配布する。

【００２０】

Ｋｒｅｍｅｒ及びＭａｒｑｕｅｚは、マウスＣＣＲ８に対するモノクローナル抗体の生成を記載している（Ｄ’Ａｍｂｒｏｓｉｏ，Ｄａｎｉｅｌｅ，ａｎｄ Ｆｒａｎｃｅｓｃｏ Ｓｉｎｉｇａｇｌｉａ．Ｃｅｌｌ Ｍｉｇｒａｔｉｏｎ ｉｎ Ｉｎｆｌａｍｍａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｉｔｙ．Ｓｐｒｉｎｇｅｒ，２００４．，Ｃｈａｐｔｅｒ ｂｙ Ｋｒｅｍｅｒ ａｎｄ Ｍａｒｑｕｅｚ ｐ．２４３－２６０）。簡単に記載すると、Ｋｒｅｍｅｒ及びＭａｒｑｕｅｚは、マウスＣＣＲ８の細胞外ドメインに由来するペプチドの免疫原としての使用を記載しているが、チロシンの硫酸化を示唆していない。実際、本発明者らは、Ｋｒｅｍｅｒ及びＭａｒｑｕｅｚによって記載されたアプローチがマウスＣＣＲ８を認識する抗体に首尾よく適用できるが、ヒトＣＣＲ８を認識する抗体については成功率が低いことを見出した。

【００２１】

Ｓｃｈａｅｒｌｉ ｅｔ ａｌ．は、ＫＬＨ又はＢＳＡのいずれかにカップリングされたＣＣＲ８のＮ末端領域の１～３４位に対応するヒトＣＣＲ８ペプチドコンジュゲートでウサギを免疫することによって抗ヒトＣＣＲ８抗体を生成したが、ここでもチロシンの硫酸化を示唆していない（Ｓｃｈａｅｒｌｉ，Ｐａｔｒｉｃｋ，ｅｔ ａｌ．“Ａ ｓｋｉｎ－ｓｅｌｅｃｔｉｖｅ ｈｏｍｉｎｇ ｍｅｃｈａｎｉｓｍ ｆｏｒ ｈｕｍａｎ ｉｍｍｕｎｅ ｓｕｒｖｅｉｌｌａｎｃｅ Ｔ ｃｅｌｌｓ．”Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ｍｅｄｉｃｉｎｅ １９９．９（２００４）：１２６５－１２７５．）。

【００２２】

ＣＣＲ８の細胞外Ｎ末端部分からの２６アミノ酸含有ペプチドに結合するマウスモノクローナル抗体は、Ｈａｑｕｅ ｅｔ ａｌ．（Ｈａｑｕｅ，Ｎａｓｒｅｅｎ Ｓ．，ｅｔ ａｌ．“Ｔｈｅ ｃｈｅｍｏｋｉｎｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ＣＣＲ８ ｍｅｄｉａｔｅｓ ｈｕｍａｎ ｅｎｄｏｔｈｅｌｉａｌ ｃｅｌｌ ｃｈｅｍｏｔａｘｉｓ ｉｎｄｕｃｅｄ ｂｙ Ｉ－３０９ ａｎｄ Ｋａｐｏｓｉ ｓａｒｃｏｍａ ｈｅｒｐｅｓｖｉｒｕｓ－ｅｎｃｏｄｅｄ ｖＭＩＰ－Ｉ ａｎｄ ｂｙ ｌｉｐｏｐｒｏｔｅｉｎ（ａ）－ｓｔｉｍｕｌａｔｅｄ ｅｎｄｏｔｈｅｌｉａｌ ｃｅｌｌ ｃｏｎｄｉｔｉｏｎｅｄ ｍｅｄｉｕｍ．”Ｂｌｏｏｄ，Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｏｆ Ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ ９７．１（２００１）：３９－４５．）によって記載されている。

【００２３】

抗体作製のためのこれらの方法のいずれも、抗原としてケモカイン受容体又は膜貫通タンパク質のチロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）を含む単離された硫酸化ポリペプチドを使用しない。ケモカイン受容体のＴＲＤ又は膜貫通タンパク質を含む単離された硫酸化ポリペプチドの抗原としての使用は、本明細書の他の箇所で論じられるように、得られた抗体のセットの構造的及び機能的特徴の両方に影響を及ぼす。

【００２４】

結果として、本発明による抗体は、構造及び機能において、例えば、少なくとも硫酸化ＣＣＲ８に対するそれらの親和性において、非硫酸化ＣＣＲ８に対するそれらの親和性において、受容体シグナル伝達を調節する様式及び程度において、それらの内在化挙動にお

いて、交差反応性において、クリアランス及び薬物動態学的挙動において、最後に、Ｔｒｅｇ枯渇及び／又は治療適用のための有効性において、前述の先行技術抗体から逸脱していると想定される。

【００２５】

さらに、本明細書に開示される抗原の使用は、完全ヒト抗体の生成を可能にした。対照的に、ＣＣＲ８について論じられる先行技術抗体は、非ヒト起源であり、少なくともヒトＣＤＲを含まないという理由で本発明の抗体のいくつかから逸脱している。

【００２６】

１．２医療用途及び作用様式

癌免疫療法は、癌を処置又は予防するための対象の免疫系の使用を含む。免疫療法は、典型的には、癌細胞が、免疫系、癌抗原によって検出され得る、それらの表面上に微妙に異なる分子を有することが多いという事実を利用する。したがって、免疫療法は、これらの癌抗原を介して腫瘍細胞を攻撃するように免疫系を誘発することを含む。しかしながら、固形腫瘍又は血液癌等のいくつかの癌は、免疫監視から逃れることができる。例えば、制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ細胞又はＴｒｅｇ）による腫瘍浸潤、より具体的にはＴｒｅｇに対するエフェクターＴ細胞（Ｔｅｆｆ）の比率が低いことが、腫瘍を免疫系から隠すための重要な因子として提案されている（Ｓｍｙｔｈ，Ｍａｒｋ Ｊ．，Ｓｈｉｎ Ｆｏｏｎｇ Ｎｇｉｏｗ，ａｎｄ Ｍｉｃｈｅｌｅ ＷＬ Ｔｅｎｇ．“Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｒｅｇｕｌａｔｏｒｙ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ｔｕｍｏｒ ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ．”Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ａｎｄ ｃｅｌｌ ｂｉｏｌｏｇｙ ９２．６（２０１４）：４７３－４７４．）。

【００２７】

Ｆｏｘｐ３発現制御性Ｔ細胞は、自己免疫の予防に必須であり、腫瘍免疫を効果的に抑制することが知られている。Ｔｒｅｇ細胞は腫瘍組織に豊富に浸潤し、これはしばしば癌患者の予後不良に関連する。Ｔｒｅｇ細胞の除去は抗腫瘍免疫応答を増強するが、自己免疫も誘発し得る。Ｔｒｅｇ標的化癌免疫療法を調整するための重要な問題は、自己免疫を抑制しながら、腫瘍反応性エフェクターＴ細胞に影響を及ぼすことなく腫瘍組織に浸潤するＴｒｅｇ細胞の特異的枯渇にある。

【００２８】

２０１０年に遡れば、様々なグループが、例えば抗ＣＤ２５抗体による枯渇によるＴｒｅｇ除去がマウスの抗腫瘍免疫を改善し得ることを既に調査していた。腫瘍細胞の接種前のＴｒｅｇの枯渇はそれらの効率的な拒絶をもたらしたが、腫瘍接種と同時又は後に生じるＴｒｅｇ枯渇は腫瘍退縮をもたらさなかったことが示されていた。さらに、これは、投与された枯渇抗体がＣＤ２５発現エフェクターＴ細胞も除去したが、ＣＤ２５－Ｆｏｘｐ３＋Ｔｒｅｇは持続した（Ｋｌａｇｅｓ，Ｋａｔｊａｎａ，ｅｔ ａｌ．“Ｓｅｌｅｃｔｉｖｅ ｄｅｐｌｅｔｉｏｎ ｏｆ Ｆｏｘｐ３＋ｒｅｇｕｌａｔｏｒｙ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｉｍｐｒｏｖｅｓ ｅｆｆｅｃｔｉｖｅ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ｖａｃｃｉｎａｔｉｏｎ ａｇａｉｎｓｔ ｅｓｔａｂｌｉｓｈｅｄ ｍｅｌａｎｏｍａ．”Ｃａｎｃｅｒ ｒｅｓｅａｒｃｈ ７０．２０（２０１０）：７７８８－７７９９．）という事実に起因することが示唆された。

【００２９】

２０１５年に、アフコシル化ヒト化抗ヒトＣＣＲ４モノクローナル抗体モガムリズマブ（ＫＷ－０７６１）を、ＣＣＲ４陽性癌（Ｋｕｒｏｓｅ，Ｋｏｊｉ，ｅｔ ａｌ．“Ｐｈａｓｅ Ⅰａ ｓｔｕｄｙ ｏｆ ＦｏｘＰ３＋ＣＤ４ Ｔｒｅｇ ｄｅｐｌｅｔｉｏｎ ｂｙ ｉｎｆｕｓｉｏｎ ｏｆ ａ ｈｕｍａｎｉｚｅｄ ａｎｔｉ－ＣＣＲ４ ａｎｔｉｂｏｄｙ，ＫＷ－０７６１，ｉｎ ｃａｎｃｅｒ ｐａｔｉｅｎｔｓ．”Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２１．１９（２０１５）：４３２７－４３３６．）を有する患者の臨床試験で評価した。ＣＣＲ４は、制御性Ｔ細胞上に発現される。

【００３０】

実際、モガムリズマブはＴｒｅｇ細胞を効率的に枯渇させ、癌抗原に対する特異的免疫応

答の増強又は誘導が観察された。しかしながら、モガムリズマブは、末梢並びに腫瘍内Ｔｒｅｇ及び更なるエフェクター細胞増殖の両方を標的とし、それにより、発疹又はスティーブンス・ジョンソン症候群等の免疫学的副作用をもたらす。

【００３１】

したがって、癌治療におけるＴｒｅｇ枯渇の大きな可能性は明らかであったが、Ｔｒｅｇを選択的に標的とし、明白な自己免疫を回避する概念は欠けていた。これは、２０１５年及び２０１６年のＰｌｉｔａｓ／Ｒｕｄｅｎｓｋｙ及びＤｅ Ｓｉｍｏｎｅ／Ａｂｒｉｇｎａｎｉ／Ｐａｇａｎｉの周りの２つのチームの研究によって変更された。

【００３２】

Ｐｌｉｔａｓ ｅｔ ａｌ．は、ＣＣＲ８がヒト乳癌浸潤Ｔｒｅｇ細胞によって選択的に発現されることを実証し、ＣＣＲ８を標的化することは、乳癌及び更なる腫瘍を有する患者を処置するための有望な免疫療法アプローチであると直ちに結論付けた（Ｐｌｉｔａｓ，Ｇ．，ｅｔ ａｌ．“Ａｂｓｔｒａｃｔ Ｐ４－０４－１１：Ｐｒｅｆｅｒｅｎｔｉａｌ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ ｃｈｅｍｏｋｉｎｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ８（ＣＣＲ８）ｏｎ ｒｅｇｕｌａｔｏｒｙ Ｔ ｃｅｌｌｓ（Ｔｒｅｇ）ｉｎｆｉｌｔｒａｔｉｎｇ ｈｕｍａｎ ｂｒｅａｓｔ ｃａｎｃｅｒｓ ｒｅｐｒｅｓｅｎｔｓ ａ ｎｏｖｅｌ ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ｔａｒｇｅｔ．”（２０１６）：Ｐ４－０４．；Ｐｌｉｔａｓ，Ｇｅｏｒｇｅ，ｅｔ ａｌ．“Ｒｅｇｕｌａｔｏｒｙ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｅｘｈｉｂｉｔ ｄｉｓｔｉｎｃｔ ｆｅａｔｕｒｅｓ ｉｎ ｈｕｍａｎ ｂｒｅａｓｔ ｃａｎｃｅｒ．”Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ４５．５（２０１６）：１１２２－１１３４．；米国特許第１００８７２５９号）。

【００３３】

Ｐｌｉｔａｓ ｅｔ ａｌ．の最初の研究が発表された直後に、Ｄｅ Ｓｉｍｏｎｅ ｅｔ ａｌ．は、腫瘍浸潤制御性細胞の転写ランドスケープに関する分析を発表し、腫瘍浸潤Ｔｒｅｇ細胞が高度に免疫抑制性であり、特異的シグネチャ分子としてそれらの細胞表面上にＣＣＲ８を発現することを見出した（Ｄｅ Ｓｉｍｏｎｅ，Ｍａｒｃｏ，ｅｔ ａｌ．“Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎａｌ ｌａｎｄｓｃａｐｅ ｏｆ ｈｕｍａｎ ｔｉｓｓｕｅ ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅｓ ｕｎｖｅｉｌｓ ｕｎｉｑｕｅｎｅｓｓ ｏｆ ｔｕｍｏｒ－ｉｎｆｉｌｔｒａｔｉｎｇ Ｔ ｒｅｇｕｌａｔｏｒｙ ｃｅｌｌｓ．”Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ４５．５（２０１６）：１１３５－１１４７．、国際公開第２０１７１９８６３１号）。著者らは、ＣＣＲ８が予後不良と相関することを記載し、ＣＣＲ８を発現しない他のエフェクターＴ細胞の動員を妨害することなく、ＣＣＲ８が腫瘍部位へのＴｒｅｇ細胞輸送を阻害する興味深い治療標的であり得ると結論付けた。

【００３４】

国際公開第２０１８１１２０３２号及び国際公開第２０１８１１２０３３号は、腫瘍中の腫瘍浸潤制御性Ｔ細胞（ＴＩＴＲ）の数又は活性を減少させる方法であって、遺伝子の産物、例えばＣＣＲ８を発現する細胞において細胞傷害性を誘導する薬剤を投与することを含む方法が記載されている。

【００３５】

国際公開第２０１８１１２０３３号及び欧州特許第３４３１１０５号は、この腫瘍の予防及び／又は処置に使用するための、腫瘍浸潤制御性Ｔ細胞において選択的に調節解除される少なくとも１つのマーカーの発現及び／又は機能を調節することができる分子を記載している。

【００３６】

国際公開第２０１８１８１４２５号は、癌を処置する方法で使用するための、ＡＤＣＣ活性を有するＣＣＲ８に対する抗体に関し、ＣＣＲ８に対する抗体はＣＣＲ８中和抗体である。国際公開第２０１８１８１４２５号は、特異的抗体配列を開示していないが、カタログ番号１５０３０２の下でＢｉｏＬｅｇｅｎｄによって配布されているラット抗マウスＣＣＲ８クローンＳＡ２１４Ｇ２について言及している。この抗体をツール抗体として使用して、マウスにおけるＴｒｅｇ枯渇の前述の抗腫瘍形成効果を再現した。

【００３７】
本発明によれば、抗ＣＣＲ８抗体の生成を促進し、治療的使用のための優れた特性を有する抗体をもたらす方法が提供される。本発明による抗体を先行技術抗体と比較すると、本明細書の他の箇所で論じられるように、構造、機能及び治療有効性において逸脱することが分かった。
【先行技術文献】
【特許文献】
【００３８】
【特許文献１】国際公開第２００７４４７５６号
【特許文献２】米国特許第１００８７２５９号
【特許文献３】国際公開第２０１７１９８６３１号
【特許文献４】国際公開第２０１８１１２０３２号
【特許文献５】国際公開第２０１８１１２０３３号
【特許文献６】欧州特許第３４３１１０５号
【特許文献７】国際公開第２０１８１８１４２５号
【非特許文献】
【００３９】
【非特許文献１】Ｈｕｔｃｈｉｎｇｓ，Ｃａｔｈｅｒｉｎｅ Ｊ．，ｅｔ ａｌ．“Ｏｐｐｏｒｔｕｎｉｔｉｅｓ ｆｏｒ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｄｉｒｅｃｔｅｄ ａｔ Ｇ－ｐｒｏｔｅｉｎ－ｃｏｕｐｌｅｄ ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ．”Ｎａｔｕｒｅ ｒｅｖｉｅｗｓ Ｄｒｕｇ ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ １６．１１（２０１７）：７８７．
【非特許文献２】Ｋｌａｒｅｎｂｅｅｋ，Ａｌｅｘ，ｅｔ ａｌ．“Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｃｈｅｍｏｋｉｎｅｓ ａｎｄ ｃｈｅｍｏｋｉｎｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ ｗｉｔｈ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ．”Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ ＴＯＤＡＹ：Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ ９．４（２０１２）：ｅ２３７－ｅ２４４．
【非特許文献３】Ｔｓｃｈａｍｍｅｒ，Ｎｕｓｋａ，ｅｄ．Ｃｈｅｍｏｋｉｎｅｓ：ｃｈｅｍｏｋｉｎｅｓ ａｎｄ ｔｈｅｉｒ ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ ｉｎ ｄｒｕｇ ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ．Ｖｏｌ．１４．Ｓｐｒｉｎｇｅｒ，２０１５，Ｃｈａｐｔｅｒ ｂｙ Ｊ．Ｅ．Ｐｅａｓｅ ＆ Ｒ．Ｈｏｒｕｋ，ｓｅｃｔｉｏｎ ６，ｐａｇｅ １２，２ｎｄ ｐａｒａ
【非特許文献４】Ｄ‘Ａｍｂｒｏｓｉｏ，Ｄａｎｉｅｌｅ， ａｎｄ Ｆｒａｎｃｅｓｃｏ Ｓｉｎｉｇａｇｌｉａ．Ｃｅｌｌ Ｍｉｇｒａｔｉｏｎ ｉｎ Ｉｎｆｌａｍｍａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｉｔｙ．Ｓｐｒｉｎｇｅｒ，２００４．，Ｃｈａｐｔｅｒ ｂｙ Ｋｒｅｍｅｒ ａｎｄ Ｍａｒｑｕｅｚ ｐ．２４３－２６０
【非特許文献５】Ｃｕｒｉｅｌ，Ｔｙｌｅｒ Ｊ．，ｅｔ ａｌ．“Ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｒｅｃｒｕｉｔｍｅｎｔ ｏｆ ｒｅｇｕｌａｔｏｒｙ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ｏｖａｒｉａｎ ｃａｒｃｉｎｏｍａ ｆｏｓｔｅｒｓ ｉｍｍｕｎｅ ｐｒｉｖｉｌｅｇｅ ａｎｄ ｐｒｅｄｉｃｔｓ ｒｅｄｕｃｅｄ ｓｕｒｖｉｖａｌ．”Ｎａｔｕｒｅ ｍｅｄｉｃｉｎｅ １０．９（２００４）：９４２－９４９．
【非特許文献６】Ｎｉｓｈｉｋａｗａ，Ｈｉｒｏｙｏｓｈｉ，ａｎｄ Ｓｈｉｍｏｎ Ｓａｋａｇｕｃｈｉ．“Ｒｅｇｕｌａｔｏｒｙ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ｔｕｍｏｒ ｉｍｍｕｎｉｔｙ．”Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｃａｎｃｅｒ １２７．４（２０１０）：７５９－７６７．
【非特許文献７】Ｓｃｈａｅｒｌｉ，Ｐａｔｒｉｃｋ，ｅｔ ａｌ．“Ａ ｓｋｉｎ－ｓｅｌｅｃｔｉｖｅ ｈｏｍｉｎｇ ｍｅｃｈａｎｉｓｍ ｆｏｒ ｈｕｍａｎ ｉｍｍｕｎｅ ｓｕｒｖｅｉｌｌａｎｃｅ Ｔ ｃｅｌｌｓ．”Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ｍｅｄｉｃｉｎｅ １９９．９（２００４）：１２６５－１２７５．
【非特許文献８】Ｈａｑｕｅ，Ｎａｓｒｅｅｎ Ｓ．，ｅｔ ａｌ．“Ｔｈｅ ｃｈｅｍ

okine receptor CCR8 mediates human endothelial cell chemotaxis induced by I−309 and Kaposi sarcoma herpesvirus−encoded vMIP−I and by lipoprotein(a)−stimulated endothelial cell conditioned medium.”Blood,The Journal of the American Society of Hematology 97.1(2001):39−45.
【非特許文献9】Smyth,Mark J.,Shin Foong Ngiow,and Michele WL Teng.“Targeting regulatory T cells in tumor immunotherapy.”Immunology and cell biology 92.6(2014):473−474.
【非特許文献10】Klages,Katjana,et al.“Selective depletion of Foxp3+ regulatory T cells improves effective therapeutic vaccination against established melanoma.”Cancer research 70.20(2010):7788−7799.
【非特許文献11】Kurose,Koji,et al.“Phase Ia study of FoxP3+ CD4 Treg depletion by infusion of a humanized anti−CCR4 antibody,KW−0761,in cancer patients.”Clinical Cancer Research 21.19(2015):4327−4336.
【非特許文献12】Plitas,G.,et al.“Abstract P4−04−11:Preferential expression of the chemokine receptor 8(CCR8)on regulatory T cells(Treg)infiltrating human breast cancers represents a novel immunotherapeutic target.”(2016):P4−04.
【非特許文献13】Plitas,George,et al.“Regulatory T cells exhibit distinct features in human breast cancer.”Immunity 45.5(2016):1122−1134.
【非特許文献14】De Simone,Marco,et al.“Transcriptional landscape of human tissue lymphocytes unveils uniqueness of tumor−infiltrating T regulatory cells.”Immunity 45.5(2016):1135−1147.

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0040】

１．１　ＣＣ及びＣＸＣケモカイン受容体に対する抗体産生

ＣＣケモカインレセプターに対する抗体を作製するための先行技術のアプローチは成功率が低く、得られた抗体はしばしば成績が悪い（例えば実施例３を参照）ため、本発明者らは、概して、ケモカイン受容体に対する抗体を作製し、特に抗ＣＣＲ８抗体を作製するための新規な方法を開発した。

【0041】

ヒト抗ヒトＣＣＲ８抗体を選択するための抗原としての特異的に改変された単離されたポリペプチドの使用は、ＣＣ及びＣＸＣケモカイン受容体に対する抗体生成のための改善された方法を提供するための問題を解決し、それにより、例えば、完全ヒト抗ＣＣＲ８抗体を初めて得ることができた（実施例６を参照）。より詳細には、ヒトＣＣＲ８のチロシンリッチドメインを含むポリペプチド（ＬＩＤドメインを含んでいてもよい）を、抗原を

形成するために特定の位置に硫酸修飾を導入することによって修飾し（実施例４、表４．１を参照）。完全ヒト抗ヒトＣＣＲ８抗体を選択するために、ファージディスプレイアプローチをこの特異的に修飾された抗原と共に使用してもよかった。あるいは、硫酸化抗原は、様々な更なる方法、例えば従来の免疫化アプローチで使用することができる。

【００４２】

得られた抗体は、生理学的条件下で発現された硫酸化抗原及び生物学的標的について優れた結合プロファイルを示した（実施例６、１０．１．１を参照）が、未修飾抗原については比較的低い親和性を示したか、又は親和性を示さず（実施例１０．１．２、実施例１０．１．３を参照）、このことは、硫酸化残基が実際に抗原抗体結合に重要であることを実証している。本発明の抗体は更に、ヒトＣＣＲ８、カニクイザルＣＣＲ８又はマウスＣＣＲ８を発現するように操作された細胞株、及び活性化ヒトＴｒｅｇに対しても優れた特異的結合を示した（実施例１０．１．１を参照）。

【００４３】

抗体の６つのＣＤＲループのうち、Ｈ３ループは最大の構造多様性を示し、結合部位の中心に位置する。それはまた、親和性成熟を通じて最も多くの突然変異を獲得し、平均して抗原との接触数が最も多い。したがって、それは抗原結合において重要な役割を果たす。本発明による方法で得られた抗体の特異的構造を分析すると、驚くべきことに、ＨＣＤＲ３の組成が通常のヒトＨＣＤＲ３ドメインと構造的に異なることが見出された（実施例９を参照）。特に、治療上最も有益な特性及びＣＣＲ８への特異的結合を有する抗体のＨＣＤＲ３ドメインは、約２１％のチロシン残基の平均頻度及び約１０％の平均ヒスチジン含有量を特徴とし、特異的硫酸化抗原の認識に対するこれらの残基の有益な影響を強調している（表９．２を参照）。

【００４４】

理論に拘束されるものではないが、本発明者らは、これらの構造的特徴が、得られた抗体を治療用途により適したものにする特定の機能的特徴に変換されると考える。例えば、試験した先行技術抗体とは対照的に、本発明によるいくつかの抗体は、Ｇタンパク質依存性シグナル伝達（実施例１０．４．３を参照）を遮断するが、Ｇタンパク質非依存性経路（実施例１０．４、１０．４．１、１０．４．２を参照）には影響せず、標的ケモカイン受容体の内因性発現を有する細胞に実質的に内在化しない（実施例１０．５を参照）。さらに、本発明による特に好ましい抗体は、標的受容体及び標的細胞（実施例１０．２、１１を参照）に特異的であり、癌の処置方法（実施例１２ｆｆを参照）において特に好適である／優れた特性を示した。さらに、抗原又はオフターゲットパニングのいずれかとしてのこれらの合成ポリペプチドの使用は、ヒトＣＣＲ８及び／又はカニクイザルＣＣＲ８に特異的に結合する抗体等の交差反応性抗体の生成を促進又は可能にした（実施例１０．１．１を参照）。

【００４５】

１．２ケモカイン受容体に特異的に結合する治療用抗体の提供

１．２．１ヒトＣＤＲを有するケモカイン受容体抗体の取得

マウスＣＤＲによる抗体のヒト化は抗体の免疫原性を改善し得るが、残存免疫原性はＣＤＲ領域に存在する（Ｈａｒｄｉｎｇ，Ｆｉｏｎａ Ａ．，ｅｔ ａｌ．“Ｔｈｅ ｉｍｍｕｎｏｇｅｎｉｃｉｔｙ ｏｆ ｈｕｍａｎｉｚｅｄ ａｎｄ ｆｕｌｌｙ ｈｕｍａｎ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ｒｅｓｉｄｕａｌ ｉｍｍｕｎｏｇｅｎｉｃｉｔｙ ｒｅｓｉｄｅｓ ｉｎ ｔｈｅ ＣＤＲ ｒｅｇｉｏｎｓ．”ＭＡｂｓ．Ｖｏｌ．２．Ｎｏ．３．Ｔａｙｌｏｒ＆Ｆｒａｎｃｉｓ，２０１０．）。したがって、ヒトＣＤＲを含む抗体は、他の種由来のＣＤＲを含む抗体と比較して、ヒトの治療剤として優れた適合性を有すると考えられる。

【００４６】

例えば、ヒトＣＤＲを有する抗体は、ファージディスプレイ技術を介して、又は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動物を使用して産生することができる。しかしながら、完全なヒト抗体を得ることは必ずしも自明ではない。理論的には、ＨＣ

ＤＲ３領域の多様性はほぼ無限であるが、実際には、抗体レパートリーの多様性の生成は、その多様性が制限され、抗原結合部位の範囲内に拘束されたｉｎ　ｖｉｖｏレパートリーをもたらす複数の機構によって慎重に調節されるようである。これは、ｉｎ　ｖｉｖｏレパートリーを反映するように設計されることが多いヒトファージディスプレイライブラリーにも当てはまる。したがって、場合によっては、「複雑な」抗原の構造的要件はげっ歯類ＣＤＲによって満たされ得るが、同じ構造はヒトＣＤＲによって容易に認識され得ない。チロシン提示がマウスＨＣＤＲ３よりもヒトＨＣＤＲ３で平均およそ５０％低いという観察に基づいて、標的結合を可能にするためにチロシン及びヒスチジンの独特の結合能力が必要とされる場合にヒト抗ヒト抗体を見出すことは明らかにより困難であると仮定することができる。実際、本発明者らは、完全ヒト抗ヒトＣＣＲ８先行技術抗体を認識していない。本発明によれば、ヒト由来ＣＤＲを含むＣＣＲ８抗体、及び完全ヒト抗体も提供される（実施例６、７、８を参照）。

【００４７】

１．２．２交差反応性ケモカイン受容体抗体の取得

交差反応性抗ＣＣＲ８抗体等の交差反応性抗ケモカイン受容体抗体は、抗体がヒトに投与される前に、薬理学的データ及び安全性に関して治療剤を特徴付けるために非ヒト動物モデルで使用することができることから、治療抗体の開発に有利である。しかしながら、例えば２つの種において類似する結合挙動を有する交差反応性抗体は、例えばＣＣＲ８等のケモカイン受容体の細胞外部分が種間で低い相同性を有するため、作製が困難であり、容易に親和性成熟させることができない（実施例２を参照）。本発明によれば、ＣＣＲ８に対する交差反応性抗体は、特に、種間でより高い保存性を有するモチーフを含む小さい硫酸化チロシンを使用することによって生成することができ、その結果、例えば、同じ程度の親和性を有する２つ以上の種由来のＣＣＲ８等のケモカイン受容体に結合する交差反応性抗体を容易かつ便利な方法で得ることができる（実施例６、７、１０．１．１を参照）。

【００４８】

１．２．３治療用ケモカイン受容体抗体の取得

標的ケモカイン受容体又はＣＣＲ８を発現する細胞の死滅を誘導するために、複数の作用様式が想定され得る。作用様式の１つは、抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）の形態の薬物へのケモカイン受容体又はＣＣＲ８を標的とする抗体のコンジュゲーションである。

【００４９】

他の可能な作用様式は、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、抗体依存性細胞食作用（ＡＤＣＰ）及び／又は補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）の誘導である。ＡＤＣＣ、ＣＤＣ及びＡＤＣＰの場合、２段階機構が関与し、一方では、抗体又は断片は、標的細胞、例えばＣＣＲ８を介したＴｒｅｇに効果的に結合するために必要であり、他方では、抗体のＦＣ部分（又は本明細書の他の箇所に記載されるように抗体又は断片にコンジュゲートされ得る代替的な結合部分）は、エフェクター細胞に結合しなければならず、これは次いで標的細胞の死滅を媒介する。ＡＤＣＰの場合、エフェクター細胞としてのマクロファージへの結合は、典型的には、抗体ＦＣ部分とマクロファージによって発現されるＦｃγＲＩＩａ（ＣＤ３２ａ）との相互作用を介して起こる。対照的に、ＡＤＣＣは、抗体又は断片とＦｃγＲＩＩＩａとの相互作用を介して媒介される。ヒトでは、ＦｃγＲＩＩＩは２つの異なる形態：ＦｃγＲＩＩＩａ（ＣＤ１６ａ）及びＦｃγＲＩＩＩｂ（ＣＤ１６ｂ）で存在する。ＦｃγＲＩＩＩａはマスト細胞、マクロファージ、及び膜貫通受容体としてのナチュラルキラー細胞上に発現されるが、ＦｃγＲＩＩＩｂは好中球上にのみ発現される。これらの受容体は、ＩｇＧ抗体のＦｃ部分に結合し、次いで、ヒトエフェクター細胞によって媒介される抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を活性化する。

【００５０】

１．２．４低い内在化（非内在化を含む）ケモカイン受容体抗体の取得

本発明者らが既知の抗ヒトＣＣＲ８先行技術抗体を分析したとき、本発明者らは、これらの抗体が内因性標的発現を有する細胞に容易に内在化されるが、長期間にわたって細胞

表面に存在しないことを見出した。抗体の内在化挙動は、そのクリアランス及び薬理学的挙動だけでなく、治療的使用のための特定の作用様式に対するその適合性にも影響を及ぼす。

【００５１】

高い内在化は、特定の抗体薬物コンジュゲートの生成に望ましいが、腫瘍細胞又はＴｒｅｇ細胞のＡＤＣＣ誘導枯渇には望ましくない。より詳細には、抗体薬物コンジュゲートは、標的細胞の効率的かつ特異的な枯渇を達成するために、薬物を細胞内に輸送するために必要とされる。対照的に、ＡＤＣＣ作用様式は、標的細胞の外側で抗体及びそのＦｃドメインの曝露を必要とし、免疫エフェクター細胞は、標的細胞の溶解のためにＦＣドメインに結合することができる。それにより、低い又は存在しない内在化速度は、ＡＤＣＣ／ＡＤＣＰ誘導抗体の効果時間を増加させる。

【００５２】

新規な方法を用いて得られた抗体の特徴付けの際に、本発明者らは、驚くべきことに、本発明による抗体のいくつかが、ＣＣＲ８の内因性発現レベルを有する細胞において特に低い又は更には存在しない内在化プロファイルを示したが（実施例１０．５を参照）、同じ標的を認識する先行技術抗体はより高い内在化速度を有したことを見出した。例えば、先行技術抗体４３３Ｈ及びＬ２６３Ｇ８は、標的化細胞に容易に内在化し、長期間にわたって細胞表面に存在しなかった。したがって、それらの低い内在化特性のために、本発明による抗体のいくつかは、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ、ＣＤＣ又は混合アプローチ（例えば、組み合わせたＡＤＣＣ／ＡＤＣＰアプローチ）において特に有用である。

【００５３】

典型的には、標的の選択は、細胞内への抗体の内在化に強く影響する重要な因子である。Ｉｓｌａｍ ＳＡ ｅｔ ａｌによれば、ＣＣＬ１リガンド結合は、Ｃａ２＋フラックス及びＣＣＲ８の迅速な受容体内在化を誘導する（Ｉｓｌａｍ，Ｓａｂｉｎａ Ａ．，ｅｔ ａｌ．“Ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｈｕｍａｎ ＣＣＲ８ ａｓ ａ ＣＣＬ１８ ｒｅｃｅｐｔｏｒＣＣＲ８ ｉｓ ａ ＣＣＬ１８ ｒｅｃｅｐｔｏｒ．”Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ｍｅｄｉｃｉｎｅ ２１０．１０（２０１３）：１８８９－１８９８．）。本発明者らは、驚くべきことに、抗体自体がそのようなかなりの程度で内在化特性に影響を及ぼすことができることを見出した。

【００５４】

しかしながら、本発明の抗体がそれらの標的ケモカイン受容体のＧタンパク質非依存性シグナル伝達経路を調節する能力を特徴付けたとき、本発明者らは、全ての試験された先行技術抗体がＧタンパク質依存性シグナル伝達を遮断しただけでなく、Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達も調節したことを見出した（実施例１０．４ｆｆを参照）。Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達は、以前に内在化挙動と関連付けられている（Ｆｏｘ，Ｊａｍｅｓ Ｍ．，ｅｔ ａｌ．“Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ／ｆｕｎｃｔｉｏｎ ｒｅｌａｔｉｏｎｓｈｉｐｓ ｏｆ ＣＣＲ８ ａｇｏｎｉｓｔｓ ａｎｄ ａｎｔａｇｏｎｉｓｔｓ：Ａｍｉｎｏ－ｔｅｒｍｉｎａｌ ｅｘｔｅｎｓｉｏｎ ｏｆ ＣＣＬ１ ｂｙ ａ ｓｉｎｇｌｅ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄ ｇｅｎｅｒａｔｅｓ ａ ｐａｒｔｉａｌ ａｇｏｎｉｓｔ．”Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２８１．４８（２００６）：３６６５２－３６６６１．を参照）。

【００５５】

１．２．５標的受容体シグナル伝達を調節するケモカイン受容体抗体の取得

抗体がケモカイン受容体をどのように調節し得るかには複数の異なる方法がある。例えば、抗体は、

ａ）Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達を遮断する、

ｂ）Ｇタンパク質依存性シグナル伝達を遮断する、

ｃ）Ｇタンパク質依存性及びＧタンパク質非依存性のシグナル伝達を遮断する、

ｄ）Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達を増加させる、

ｅ）Ｇタンパク質依存性シグナル伝達を増加させる、

ｆ）Ｇタンパク質依存性及びＧタンパク質非依存性のシグナル伝達を増加させることができる。

【００５６】

理論に拘束されるものではないが、本発明者らは、それぞれのケモカイン受容体の硫酸化ＴＲＤが、ケモカイン受容体のリガンド誘導性シグナル伝達に関連し得ると仮定する。

【００５７】

興味深いことに、本発明の抗体のほとんどは、リガンド誘導性Ｇタンパク質依存性シグナル伝達を効率的に遮断したが、Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達には影響しなかった（実施例１０．４ｆｆを参照）。対照的に、全ての先行技術抗体は同様に、リガンド誘導性Ｇタンパク質依存性シグナル伝達を遮断したが、アゴナイズされたＧタンパク質非依存性シグナル伝達を遮断した。理論に拘束されるものではないが、これらの違いは、内在化挙動の違いに寄与し得る。

【００５８】

非特異的シグナル伝達は、細胞増殖の増加等の制御不能な下流効果をもたらし得るため、治療用抗体によるＧタンパク質非依存性シグナル伝達の誘導を回避することも有利であり得る（Ｈｕｔｃｈｉｎｇｓ，Ｃａｔｈｅｒｉｎｅ Ｊ．，ｅｔ ａｌ．（２０１７）；Ｗｅｂｂ，Ｄａｖｉｄ Ｒ．，ｅｔ ａｌ．“Ｏｐｐｏｒｔｕｎｉｔｉｅｓ ｆｏｒ ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ ｓｅｌｅｃｔｉｖｉｔｙ ｉｎ ＧＰＣＲ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ．”Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ８５．２（２０１３）：１４７－１５２．；Ｆｏｘ，Ｊａｍｅｓ Ｍ．，ｅｔ ａｌ．（２００６）を参照）。

【００５９】

１．２．６ケモカイン受容体抗体を誘導するＡＤＣＣ／ＡＤＣＰの取得

本発明による抗体は、例えば、実施例１０．３．３、１０．３．４に示されるように、ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰの優れた誘導を特徴とする。いくつかの好ましい実施形態において、抗体を、Ｎ２９７でのフコースの除去（アフコシル化）によって操作して、高いＡＤＣＣ率を得た（実施例１０．３．１を参照）。興味深いことに、本発明の抗ＣＣＲ８抗体の多くは、両方の機構、すなわちＡＤＣＣ及びＡＤＣＰを使用して、組み合わされた作用様式を介して標的細胞枯渇を誘導するようであった。

【００６０】

１．３処置の方法

機構的洞察に基づく処置方法においてＣＣＲ８に結合する抗体を使用することがいくつかの研究グループによって示唆されているが、最適な治療特性を有する抗体を提供する方法は面倒であった。本発明による抗体作製のための方法を提供することにより、優れた治療特性を有するケモカイン受容体のための抗体を今や容易に得ることができる。本発明によれば、有利な特性を有する様々な配列定義された抗体が開示されており、これらは、処置方法において、例えば、コンジュゲートの一部として、ＡＤＣＣベースのアプローチにおいて、ＡＤＣＰベースのアプローチにおいて、ＣＤＣベースのアプローチにおいて、又は混合ＡＤＣＣ／ＡＤＣＰベースのアプローチにおいて使用することができる。実施例１２ｆｆ．は、本発明による方法で生成された代用抗体についてのＴｒｅｇ枯渇、全奏効率及び腫瘍対対照比における顕著な有効性を示す。

【００６１】

１．４併用処置

本発明の抗ＣＣＲ８抗体を用いた単独療法では顕著な奏効率が得られたが、驚くべきことに、抗体を免疫チェックポイント阻害剤、更なる標的化療法、更には非特異的化学療法剤又は放射線療法と組み合わせることによっても、治療上の利益を更に増加させることができることが見出された。これらの併用処置は、困難な腫瘍モデルにおいて特に有益であった。特に、抗ＣＣＲ８抗体が実質的なＴｒｅｇ枯渇を引き起こした後にのみ第２の治療薬又は治療法を投与した特定の併用処置スキームが有効であることが分かった（実施例１２．６ｆｆを参照）。さらに、単一の抗ＣＣＲ８抗体処置でさえ実質的な治療効果を示すことが観察された（実施例１２．４．２を参照）。

【００６２】
１．５層別化スキーム及び診断方法
抗ＣＣＲ８抗体処置に対する異なる同系マウスモデルの応答性を評価する場合、本発明者らは、処置有効性及び全体的応答を予測するいくつかの機構、バイオマーカー及びバイオマーカーの組み合わせを同定することができた。例えば、驚くべきことに、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１又はＣＴＬＡ４抗体等の免疫チェックポイント阻害剤に対する応答性の程度もまた、抗ＣＣＲ８抗体処置に対する応答を予測することが見出された。ＰＤ－Ｌ１発現が時折、免疫チェックポイント阻害剤に対する応答性を予測するための代理マーカーとして使用されるので、本発明者らは、ＰＤ－Ｌ１が抗ＣＣＲ８抗体処置に対する応答性を予測するためにも使用され得るかどうかを評価した。この仮説は、相関データによって最終的に確認することができた。実施例１２．７．１を参照されたい。抗ＣＣＲ８処置から最も利益を得る可能性が高い対象を同定する更なる試みでは、免疫細胞及びＴｒｅｇマーカー等の更なるマーカー遺伝子をバイオマーカーとして評価した（実施例１２．１．２、１２．７．２、１２．８を参照）。
【図面の簡単な説明】
【００６３】
【図１－１】ヒトＣＣケモカイン受容体及びＣＸＣケモカイン受容体のアラインメント。
【図１－２】ヒトＣＣケモカイン受容体及びＣＸＣケモカイン受容体のアラインメント。
【図１－３】ヒトＣＣケモカイン受容体及びＣＸＣケモカイン受容体のアラインメント。
【図２ａ】ａ．ヒトＣＣＲ８、カニクイザルＣＣＲ８及びマウスＣＣＲ８配列をＵｎｉｐｒｏｔから回収し、Ｃｌｕｓｔａｌ　Ｏｍｅｇａと整列させた。ｂ．７つの膜貫通ドメイン（黒色四角）、３つの細胞外ループ（ＥＣＬ）、いくつかのジスルフィド架橋（ＳＳ）、及び細胞内Ｃ末端部分、並びに「ＬＩＤ」ドメイン及びチロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）で構成される細胞外Ｎ末端ドメインを含むＣＣＲ８受容体構造の概略図。
【図２ｂ】ａ．ヒトＣＣＲ８、カニクイザルＣＣＲ８及びマウスＣＣＲ８配列をＵｎｉｐｒｏｔから回収し、Ｃｌｕｓｔａｌ　Ｏｍｅｇａと整列させた。ｂ．７つの膜貫通ドメイン（黒色四角）、３つの細胞外ループ（ＥＣＬ）、いくつかのジスルフィド架橋（ＳＳ）、及び細胞内Ｃ末端部分、並びに「ＬＩＤ」ドメイン及びチロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）で構成される細胞外Ｎ末端ドメインを含むＣＣＲ８受容体構造の概略図。
【図３】ＣＣＲ８陽性標的細胞におけるＦＡＣＳ染色による３つの先行技術抗体の評価。示された先行技術抗体のいずれも、アイソタイプ対照と比較してＦＡＣＳ染色のシフトを示さなかった。ｈＡＰ－００６８及びＭＡＢ１４２９－１００を、ヒトＣＣＲ８で安定にトランスフェクトした２９３Ｔ細胞で試験し、一方、ＭＡＢ８３２４を、マウスＣＣＲ８を発現するＢＷ５１４７．３細胞で試験した。
【図４】リード発見のためのパンニング戦略：硫酸化ペプチドに対する選択のための２つの主要な戦略を示す。全ての戦略において、各回の選択の前に、関連する又は無関係のビオチン化タンパク質に対する枯渇工程を含めた。
【図５】抗マウスＣＣＲ８抗体を得るためのパンニング戦略：硫酸化／非硫酸化ペプチドの混合物に基づく選択のための主な戦略を示す。各回の選択の前に、関連するビオチン化タンパク質に対する枯渇工程を行った。
【図６】ヒトＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞に結合する本発明の抗体のＦＡＣＳデータ。
【図７】カニクイザルＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞に結合する本発明の抗体のＦＡＣＳデータ。
【図８】活性化ヒトＴｒｅｇ（ドナー１）に結合する候補体のＦＡＣＳデータ。右側：ＢｉｏＬｅｇｅｎｄクローンＬ２６３Ｇ８を使用して決定されたＣＣＲ８発現のパーセント。
【図９】ヒトＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞に結合する本発明の抗体ＴＰＰ－２１１８１及びＴＰＰ－２３４１１のＦＡＣＳデータ。
【図１０】カニクイザルＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞に結合する本発明の抗体ＴＰＰ－２１１８１及びＴＰＰ－２３４１１のＦＡＣＳデータ。

【図１１】ヒトＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞へのＴＰＰ－２１３６０、Ｌ２６３Ｇ８及び４３３Ｈの結合。
【図１２】カニクイザルＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞へのＴＰＰ－２１３６０、Ｌ２６３Ｇ８及び４３３Ｈの結合。先行技術抗体は、カニクイザルＣＣＲ８に対する非常に低い全体的な結合しか示さなかった（低飽和）。それにもかかわらず、ＥＣ５０値を各抗体について決定することができた。
【図１３】本発明の抗体ＴＰＰ－２３４１１による活性化ヒトＴｒｅｇ染色、ゲーティング戦略。末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）からのＣＤ４＋及びＣＤ２５＋選別細胞を、抗ＣＤ３及び抗ＣＤ２８ビーズ（Ｔｒｅｇ拡張キット、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ）で活性化した。中央のパネル：ＣＤ４＋ＣＤ２５＋ＣＤ１２７　ｌｏｗ及びＦｏｘｐ３＋である細胞。下のパネル：ＴＰＰ－２３４１１又はＬ２６３Ｇ８で染色した後のＴｒｅｇ上のＣＣＲ８発現。
【図１４】擬似トランスフェクタントを用いたＴＰＰ－２１３６０のＣＨＯ細胞への結合。非特異的結合は観察されなかった。
【図１５】ヒトＣＣＲ１で一過性にトランスフェクトしたＨＥＫ細胞におけるオフターゲット結合。ほとんどの本発明の候補体は、ＣＣＲ１に対する低いオフターゲット結合のみを示した。
【図１６】ヒトＣＣＲ４で一過性にトランスフェクトしたＨＥＫ細胞におけるオフターゲット結合。ほとんどの本発明の候補体は、ＣＣＲ４に対する低いオフターゲット結合のみを示した。
【図１７－１】健康なドナーＰＢＭＣ（ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ１９＋発現によって示されるＢ細胞、ＣＤ１１ｂ＋発現によって示される骨髄細胞、抗ＣＤ３及び抗ＣＤ２８ビーズで４日間活性化されたＣＤ４　Ｔ細胞、抗ＣＤ３及び抗ＣＤ２８ビーズで４日間活性化されたＣＤ８＋Ｔ細胞）由来の異なる免疫細胞集団におけるＣＣＲ８発現についての染色。
【図１７－２】健康なドナーＰＢＭＣ（ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ１９＋発現によって示されるＢ細胞、ＣＤ１１ｂ＋発現によって示される骨髄細胞、抗ＣＤ３及び抗ＣＤ２８ビーズで４日間活性化されたＣＤ４　Ｔ細胞、抗ＣＤ３及び抗ＣＤ２８ビーズで４日間活性化されたＣＤ８＋Ｔ細胞）由来の異なる免疫細胞集団におけるＣＣＲ８発現についての染色。
【図１７－３】健康なドナーＰＢＭＣ（ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ１９＋発現によって示されるＢ細胞、ＣＤ１１ｂ＋発現によって示される骨髄細胞、抗ＣＤ３及び抗ＣＤ２８ビーズで４日間活性化されたＣＤ４　Ｔ細胞、抗ＣＤ３及び抗ＣＤ２８ビーズで４日間活性化されたＣＤ８＋Ｔ細胞）由来の異なる免疫細胞集団におけるＣＣＲ８発現についての染色。
【図１８】ＣＣＲ８は、活性化後にヒトＴｒｅｇ上で上方制御される。活性化後、ＣＣＲ８＋細胞のパーセンテージは、ＭＦＩが増加したＣＤ４＋ＣＤ２５＋精製細胞で有意に増加したが、ＣＣＲ８＋細胞の％はＰＢＭＣ集団でわずかに増加した。ＢｉｏＬｅｇｅｎｄからの抗ＣＣＲ８抗体をこれらの実験に使用した。Ｎ＝４ドナー。
【図１９】標的細胞としてヒトＣＣＲ８を発現するＨＥＫ細胞において野生型又はアフコシル化された本発明の抗体ＴＰＰ－１９５４６、ＴＰＰ－２１３６０又はＴＰＰ－２３４１１によって誘導されるＡＤＣＣ。アイソタイプ対照：ＴＰＰ－９８０８。
【図２０】左：標的細胞としての活性化ヒトＴｒｅｇについての３日目のＣＣＲ８＋発現パーセント。右：標的細胞としての活性化ヒトＴｒｅｇにおいて野生型又はアフコシル化された本発明の抗体ＴＰＰ－２１３６０、ＴＰＰ－２３４１１によって誘導されるＡＤＣＣ。アイソタイプ対照：ＴＰＰ－９８０８。結果は、異なるドナーで再現可能であった（データは示さず）。
【図２１】ＡＤＣＰアッセイのためのプロトコル。
【図２２】本発明の抗体の野生型及びアフコシル化バージョンのＡＤＣＰアッセイは、エフェクター細胞としてのｉｎ　ｖｉｔｒｏ分化Ｍ２ｃマクロファージによる、標的細胞としてのヒトＣＣＲ８を発現するＨＥＫ細胞における食作用の誘導を示す。本発明の抗体Ｔ

ＰＰ－１９５４６、ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１の野生型及びアフコシル化バージョンはＡＤＣＰを誘導した。ＴＰＰ－９８０８はアイソタイプ対照である。モガムリズマブは市販の抗ＣＣＲ４抗体である。

【図２３】本発明の抗体ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１の野生型及びアフコシル化バージョンのＡＤＣＰアッセイは、標的細胞（上又は下のパネル）としての２人の異なるドナー由来の活性化ヒトＴｒｅｇ及びエフェクター細胞としてのＭ２ｃマクロファージにおける食作用の誘導を示す。ＴＰＰ－９８０８はアイソタイプ対照である。

【図２４】本発明の抗体ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１の野生型及びアフコシル化バージョンのＡＤＣＰアッセイは、標的細胞としての活性化ヒトＴｒｅｇ及びエフェクター細胞としてのＭ１マクロファージにおける食作用の誘導を示す。

【図２５】ＰｒｏＬｉｎｋ及びＥＡでタグ化されたヒトＣＣＲ８を共発現するＣＨＯ細胞上のＣＣＬ１、ＴＰＰ－２３４１１、Ｌ２６３Ｇ８又は４３３ＨについてのＤｉｓｃｏｖｅｒＸアッセイで測定されたβ－アレスチンシグナル伝達の活性化。予想通り、ＣＣＲ８リガンドＣＣＬ１（ヒト）はβ－アレスチンシグナル伝達を誘導する。更なる時点をＴＰＰ－２３４１１について分析して、より早い時点でβ－アレスチン活性化が起こらなかったことを確実にした。分析した抗体のいずれもβ－アレスチンシグナル伝達活性化を誘導しなかった。

【図２６】ＤｉｓｃｏｖｅｒＸアッセイで測定した、ＴＰ－２３４１１、Ｌ２６３Ｇ８又は４３３ＨによるＣＣＬ１誘導β－アレスチンシグナル伝達の遮断の評価。ＣＣＬ１をそのＥＣ８０（２０ｎｇ／ｍｌ）で使用した。先行技術抗体Ｌ２６３Ｇ８及び４３３Ｈは両方とも、低抗体濃度でＣＣＬ１によって誘導されるβ－アレスチンシグナル伝達を遮断したが、本発明の抗体ＴＰＰ－２３４１１はこれらの濃度で効果を示さなかった。β－アレスチンシグナル伝達は、内在化において役割を果たすことが示唆されている。

【図２７】ホスホＥｒｋ１／２　ＥＬＩＳＡアッセイ。ヒトＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞を、ＣＣＬ１、ＴＰＰ－２３４１１、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　Ｌ２６３Ｇ８又はＢＤ抗体４３３Ｈで処置し、細胞溶解物をそれぞれの時点で回収した。

【図２８】ホスホＥｒｋ１／２　ＥＬＩＳＡアッセイ。ＣＣＲ８を発現する活性化ヒトＴｒｅｇ細胞をＣＣＬ１、ＴＰＰ－２３４１１、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　Ｌ２６３Ｇ８又はＢＤ抗体４３３Ｈで処置し、それぞれの時点で細胞溶解物を回収した。先行技術抗体であるＢｉｏｌｅｇｅｎｄ　Ｌ２６３Ｇ８及びＢＤ抗体４３３Ｈは両方とも、例えば活性化ヒトＴｒｅｇにおいて１５分後に、リン酸化Ｅｒｋ１／２レベルの有意な増加を誘導したが、これは本発明の抗体には当てはまらなかった。

【図２９】ホスホＡＫＴ　ＥＬＩＳＡアッセイ。ヒトＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞を、ＣＣＬ１、ＴＰＰ－２３４１１、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　Ｌ２６３Ｇ８又はＢＤ抗体４３３Ｈで処置し、細胞溶解物をそれぞれの時点で回収した。

【図３０】ホスホＡＫＴ　ＥＬＩＳＡアッセイ。ＣＣＲ８を発現する活性化ヒトＴｒｅｇ細胞をＣＣＬ１、ＴＰＰ－２３４１１、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　Ｌ２６３Ｇ８又はＢＤ抗体４３３Ｈで処置し、それぞれの時点で細胞溶解物を回収した。先行技術抗体Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　Ｌ２６３Ｇ８及びＢＤ　４３３Ｈは両方とも、例えば１５分後に、活性化ヒトＴｒｅｇにおいてホスホＡＫＴレベルの有意な増加を誘導したが、これは本発明の抗体には当てはまらなかった。

【図３１ａ】内在化試験。ａ．内因性ＣＣＲ８発現細胞株ＨｕＴ７８を用いる市販の抗ヒトＣＣＲ８抗体Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　Ｌ２６３Ｇ８又はＢＤ抗体４３３ＨのＦＡＣＳ分析。ｂ．細胞質強度スポットに基づく内因性ＣＣＲ８発現細胞株ＨｕＴ７８を用いる市販の抗ヒトＣＣＲ８抗体の内在化試験。ＴＰＰ－５６５７：アイソタイプ対照。

【図３１ｂ】内在化試験。ａ．内因性ＣＣＲ８発現細胞株ＨｕＴ７８を用いる市販の抗ヒトＣＣＲ８抗体Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　Ｌ２６３Ｇ８又はＢＤ抗体４３３ＨのＦＡＣＳ分析。ｂ．細胞質強度スポットに基づく内因性ＣＣＲ８発現細胞株ＨｕＴ７８を用いる市販の抗ヒトＣＣＲ８抗体の内在化試験。ＴＰＰ－５６５７：アイソタイプ対照。

【図３２ａ】内在化試験。ａ．マウス内因性ＣＣＲ８発現細胞株ＢＷ５１４７．３を用い

た市販の抗マウスＣＣＲ８抗体ＳＡ２１４Ｇ２のＦＡＣＳ分析。ｂ．マウス内因性ＣＣＲ８発現細胞株ＢＷ５１４７．３を用いた市販の抗マウスＣＣＲ８抗体ＳＡ２１４Ｇ２の内在化試験抗マウスＣＣＲ８の先行技術抗体ＳＡ２１４Ｇ２は内在化を誘発する。

【図３２ｂ】内在化試験。ａ．マウス内因性ＣＣＲ８発現細胞株ＢＷ５１４７．３を用いた市販の抗マウスＣＣＲ８抗体ＳＡ２１４Ｇ２のＦＡＣＳ分析。ｂ．マウス内因性ＣＣＲ８発現細胞株ＢＷ５１４７．３を用いた市販の抗マウスＣＣＲ８抗体ＳＡ２１４Ｇ２の内在化試験抗マウスＣＣＲ８の先行技術抗体ＳＡ２１４Ｇ２は内在化を誘発する。

【図３３ａ】内因性ＣＣＲ８発現細胞株ＴＡＬＬ－１（ａ）及びＨｕＴ７８（ｂ）を用いた本発明の抗ヒトＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１の内在化試験。両方の抗体は、アイソタイプ対照ＴＰＰ－５６５７と同等の同一の内在化挙動を示す。

【図３３ｂ】内因性ＣＣＲ８発現細胞株ＴＡＬＬ－１（ａ）及びＨｕＴ７８（ｂ）を用いた本発明の抗ヒトＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１の内在化試験。両方の抗体は、アイソタイプ対照ＴＰＰ－５６５７と同等の同一の内在化挙動を示す。

【図３４ａ】内因性ＣＣＲ８発現細胞株ＴＡＬＬ－１（ａ）及びＨｕＴ７８（ｂ）を用いた本発明の抗ヒトＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１のＦＡＣＳ分析。両方の抗体は、細胞株に対して同じ結合効力を示す。

【図３４ｂ】内因性ＣＣＲ８発現細胞株ＴＡＬＬ－１（ａ）及びＨｕＴ７８（ｂ）を用いた本発明の抗ヒトＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１のＦＡＣＳ分析。両方の抗体は、細胞株に対して同じ結合効力を示す。

【図３５－１】ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘプローブ２０８０５９＿ａｔによって測定されたヒト組織及び細胞型の包括的なセットを表す１１６４２個のサンプルにわたるＣＣＲ８ ｍＲＮＡ発現。全てのサンプルを、ｒｅｆＲＭＡ法（Ｋａｔｚ，Ｓｉｍｏｎ，ｅｔ ａｌ．“Ａ ｓｕｍｍａｒｉｚａｔｉｏｎ ａｐｐｒｏａｃｈ ｆｏｒ Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ ＧｅｎｅＣｈｉｐ ｄａｔａ ｕｓｉｎｇ ａ ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ ｔｒａｉｎｉｎｇ ｓｅｔ ｆｒｏｍ ａ ｌａｒｇｅ，ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｌｙ ｄｉｖｅｒｓｅ ｄａｔａｂａｓｅ．”ＢＭＣ ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ ７．１（２００６）：１－１１．）を使用して共正規化した。濃い灰色のボックスの着色は、対応する群の中央値サンプルがバックグラウンドノイズを大幅に上回るプローブシグナル強度を有することを示す（ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ’ ＭＡＳ５アルゴリズムによって推定される、Ｐｅｐｐｅｒ，Ｓｔｕａｒｔ Ｄ．，ｅｔ ａｌ．“Ｔｈｅ ｕｔｉｌｉｔｙ ｏｆ ＭＡＳ５ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｓｕｍｍａｒｙ ａｎｄ ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ｃａｌｌ ａｌｇｏｒｉｔｈｍｓ．”ＢＭＣ ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ ８．１（２００７）：１－１２．を参照）。バックグラウンドノイズを有意に上回るＣＣＲ８発現の中央値は、活性化制御性Ｔ細胞並びに腫瘍浸潤リンパ球においてのみ観察される。群を、平均発現の減少に基づいて分類する。

【図３５－２】ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘプローブ２０８０５９＿ａｔによって測定されたヒト組織及び細胞型の包括的なセットを表す１１６４２個のサンプルにわたるＣＣＲ８ ｍＲＮＡ発現。全てのサンプルを、ｒｅｆＲＭＡ法（Ｋａｔｚ，Ｓｉｍｏｎ，ｅｔ ａｌ．“Ａ ｓｕｍｍａｒｉｚａｔｉｏｎ ａｐｐｒｏａｃｈ ｆｏｒ Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ ＧｅｎｅＣｈｉｐ ｄａｔａ ｕｓｉｎｇ ａ ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ ｔｒａｉｎｉｎｇ ｓｅｔ ｆｒｏｍ ａ ｌａｒｇｅ，ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｌｙ ｄｉｖｅｒｓｅ ｄａｔａｂａｓｅ．”ＢＭＣ ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ ７．１（２００６）：１－１１．）を使用して共正規化した。濃い灰色のボックスの着色は、対応する群の中央値サンプルがバックグラウンドノイズを大幅に上回るプローブシグナル強度を有することを示す（ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ’ ＭＡＳ５アルゴリズムによって推定される、Ｐｅｐｐｅｒ，Ｓｔｕａｒｔ Ｄ．，ｅｔ ａｌ．“Ｔｈｅ ｕｔｉｌｉｔｙ ｏｆ ＭＡＳ５ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｓｕｍｍａｒｙ ａｎｄ ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ｃａｌｌ ａｌｇｏｒｉｔｈｍｓ．”ＢＭＣ ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ ８．１（２００７）：１－１２．を参照）。バックグラウンドノイズを有意に上回るＣＣＲ８発現の中央値は、活性化制御性Ｔ細胞並びに腫瘍浸潤リンパ球においてのみ観察される。群を、平均発現の減少に基づ

いて分類する。

【図３６－１】５０の異なるＴＣＧＡ（ｈｔｔｐｓ：／／ｗｗｗ．ｃａｎｃｅｒ．ｇｏｖ／ｔｃｇａ）腫瘍適応症（濃い灰色の四角）、対応する正常組織（白い四角）にわたる、並びに同様に腫瘍適応症によってグループ分けされるＣＣＬＥ腫瘍細胞株パネル（Ｂａｒｒｅｔｉｎａ，Ｊｏｒｄｉ，ｅｔ ａｌ．“Ｔｈｅ Ｃａｎｃｅｒ Ｃｅｌｌ Ｌｉｎｅ Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ ｅｎａｂｌｅｓ ｐｒｅｄｉｃｔｉｖｅ ｍｏｄｅｌｌｉｎｇ ｏｆ ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ ｄｒｕｇ ｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ．”Ｎａｔｕｒｅ ４８３．７３９１（２０１２）：６０３－６０７．）にわたる、ＲＮＡ－ｓｅｑによって測定されるＣＣＲ８ ｍＲＮＡ発現を示す（薄い灰色の四角）。群を平均発現に基づいて分類する。ＣＣＲ８発現が最も高い適応症は、乳癌、肺腺癌（ＡＤＣ）及び扁平上皮癌（ＳＣＣ）、頭頸部悪性腫瘍、並びに食道腫瘍である。膵臓腺癌及び黒色腫を除く全ての適応症において、発現は、対応する正常組織と比較して腫瘍においてより高く見える。上皮起源の対応する腫瘍細胞株ではほとんど又は全く発現が観察されず、ＣＣＲ８が腫瘍細胞によって発現されず、腫瘍浸潤Ｔ細胞によってのみ発現されることを示している。原則として、ＣＣＲ８＋Ｔｒｅｇ細胞浸潤を伴う各腫瘍適応症は、抗ＣＣＲ８抗体処置に適格であると考えられる。

【図３６－２】５０の異なるＴＣＧＡ（ｈｔｔｐｓ：／／ｗｗｗ．ｃａｎｃｅｒ．ｇｏｖ／ｔｃｇａ）腫瘍適応症（濃い灰色の四角）、対応する正常組織（白い四角）にわたる、並びに同様に腫瘍適応症によってグループ分けされるＣＣＬＥ腫瘍細胞株パネル（Ｂａｒｒｅｔｉｎａ，Ｊｏｒｄｉ，ｅｔ ａｌ．“Ｔｈｅ Ｃａｎｃｅｒ Ｃｅｌｌ Ｌｉｎｅ Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ ｅｎａｂｌｅｓ ｐｒｅｄｉｃｔｉｖｅ ｍｏｄｅｌｌｉｎｇ ｏｆ ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ ｄｒｕｇ ｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ．”Ｎａｔｕｒｅ ４８３．７３９１（２０１２）：６０３－６０７．）にわたる、ＲＮＡ－ｓｅｑによって測定されるＣＣＲ８ ｍＲＮＡ発現を示す（薄い灰色の四角）。群を平均発現に基づいて分類する。ＣＣＲ８発現が最も高い適応症は、乳癌、肺腺癌（ＡＤＣ）及び扁平上皮癌（ＳＣＣ）、頭頸部悪性腫瘍、並びに食道腫瘍である。膵臓腺癌及び黒色腫を除く全ての適応症において、発現は、対応する正常組織と比較して腫瘍においてより高く見える。上皮起源の対応する腫瘍細胞株ではほとんど又は全く発現が観察されず、ＣＣＲ８が腫瘍細胞によって発現されず、腫瘍浸潤Ｔ細胞によってのみ発現されることを示している。原則として、ＣＣＲ８＋Ｔｒｅｇ細胞浸潤を伴う各腫瘍適応症は、抗ＣＣＲ８抗体処置に適格であると考えられる。

【図３７】ヒト非小細胞肺癌組織（ＮＳＣＬＣ）又はヒト黒色腫組織におけるＴｒｅｇマーカーＦＯＸＰ３及びＣＣＲ８（クローン４３３Ｈ）の染色を用いた免疫組織化学。

【図３８】ＣＣＲ４、ＣＣＲ８、ＯＸ４０、ＧＩＴＲ及びＣＤ２５に基づくＦＡＣＳ選別Ｔ細胞集団の染色。ＣＣＲ８のみが活性化Ｔｒｅｇに特異的である。ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、及びＣＤ２５は、刺激されたＣＤ８＋Ｔｅｆｆ細胞及びＣＤ４＋Ｔ細胞（ＣＤ４＋ＣＤ２５＋Ｆｏｘｐ３－）上に有意に発現される。濃い灰色：アイソタイプ対照、薄い灰色：標的染色。

【図３９－１】単一細胞ＲＮＡ－ｓｅｑによって測定した場合の、異なる腫瘍実体から抽出された異なるＴ細胞サブセットにわたるＣＣＲ８の発現。これらの腫瘍では、ＣＣＲ８ ｍＲＮＡ発現は、腫瘍組織に存在する制御性Ｔ細胞（薄い灰色の四角）に主に制限されるが、正常組織、並びにＣＤ４ヘルパーＴ細胞及びＣＤ８細胞傷害性Ｔ細胞からの制御性Ｔ細胞には主に存在しない（それぞれ中及び濃い灰色の四角）。上のパネル：結腸直腸腫瘍組織（腫瘍）又は隣接する正常組織（正常）。中央パネル：肝癌組織（腫瘍）又は隣接する正常組織（正常）。下のパネル：肺癌組織（腫瘍）又は隣接する正常な肺組織及び末梢血（正常）。サンプルサイズＮは、各カテゴリ内の細胞の数を示す。細胞を、それぞれマーカー遺伝子ＦＯＸＰ３、ＣＤ４（但し、ＦＯＸＰ３はない）、及びＣＤ８Ａ／Ｂの発現に基づいて、制御性Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞、又は細胞傷害性Ｔ細胞と命名した。

【図３９－２】単一細胞ＲＮＡ－ｓｅｑによって測定した場合の、異なる腫瘍実体から抽出された異なるＴ細胞サブセットにわたるＣＣＲ８の発現。これらの腫瘍では、ＣＣＲ８

ｍＲＮＡ発現は、腫瘍組織に存在する制御性Ｔ細胞（薄い灰色の四角）に主に制限されるが、正常組織、並びにＣＤ４ヘルパーＴ細胞及びＣＤ８細胞傷害性Ｔ細胞からの制御性Ｔ細胞には主に存在しない（それぞれ中及び濃い灰色の四角）。上のパネル：結腸直腸腫瘍組織（腫瘍）又は隣接する正常組織（正常）。中央パネル：肝癌組織（腫瘍）又は隣接する正常組織（正常）。下のパネル：肺癌組織（腫瘍）又は隣接する正常な肺組織及び末梢血（正常）。サンプルサイズＮは、各カテゴリ内の細胞の数を示す。細胞を、それぞれマーカー遺伝子ＦＯＸＰ３、ＣＤ４（但し、ＦＯＸＰ３はない）、及びＣＤ８Ａ／Ｂの発現に基づいて、制御性Ｔ細胞、Ｔヘルパー細胞、又は細胞傷害性Ｔ細胞と命名した。

【図４０】ＮＳＣＬＣ、ＣＲＣ（結腸直腸癌）又はＲＣＣ（腎癌）からのＴｒｅｇ、マクロファージ、Ｔ細胞又は腫瘍細胞集団を抗ＣＣＲ８抗体又はアイソタイプ対照で染色し、フローサイトメトリーによって分析した。Ｘ軸：10^5までの対数シフト；Ｙ軸：モードに正規化された強度。薄い灰色：アイソタイプ対照。濃い灰色：ＣＣＲ８。腫瘍内ヒトＴｒｅｇ上の特異的ＣＣＲ８発現を矢印で示す。

【図４１】種々の用量の抗ＣＣＲ８抗体又は抗ＰＤＬ１抗体による処置後のＣＴ２６腫瘍成長。

【図４２－１】種々の用量の抗ＣＣＲ８抗体、抗ＰＤＬ１抗体又はアイソタイプ対照による処置後のＣＴ２６腫瘍担持マウスのスパイダープロット。

【図４２－２】種々の用量の抗ＣＣＲ８抗体、抗ＰＤＬ１抗体又はアイソタイプ対照による処置後のＣＴ２６腫瘍担持マウスのスパイダープロット。

【図４３】２回目の抗体処置の２４時間後の腫瘍内免疫細胞のＦＡＣＳ分析。腫瘍内Ｔｒｅｇの分析。抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ１５２８５は、それぞれ１０ｍｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ又は０．１ｍｇ／ｋｇについて、アイソタイプ対照のＴｒｅｇの１３％、３３％又は４７％まで腫瘍内Ｔｒｅｇの平均減少をもたらす。抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ１５２８６は、それぞれ１０ｍｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ又は０．１ｍｇ／ｋｇについて、アイソタイプ対照のＴｒｅｇの１０％、９％又は１４％まで腫瘍内Ｔｒｅｇの平均減少をもたらす（表１２．２．１を参照）。腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の分析。アイソタイプ対照の％の平均増加を表１２．２．１に示す。Ｔｒｅｇ細胞に対するＣＤ８＋Ｔ細胞の比の分析。抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ１５２８６は、４４（１０ｍｇ／ｋｇ）、８７（１ｍｇ／ｋｇ）又は６８（０．１ｍｇ／ｋｇ）のＴｒｅｇ細胞に対するＣＤ８＋細胞の比の平均増加をもたらす。抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ１５２８５は、６４（１０ｍｇ／ｋｇ）、１６（１ｍｇ／ｋｇ）又は１０（０．１ｍｇ／ｋｇ）のＴｒｅｇ細胞に対するＣＤ８＋細胞の比の平均増加をもたらす。Ｔｒｅｇ細胞に対するＣＤ４＋ｃｏｎｖ　Ｔ細胞の比の分析。

【図４４】グリコシル化（ＴＰＰ－１４０９５、ＴＰＰ－１４０９９、ＴＰＰ－１５２８５、ＴＰＰ－１５２８６）又はアグリコシル化（ＴＰＰ－１８２０８、ＴＰＰ－１８２０９）抗ＣＣＲ８抗体による処置後のＣＴ２６腫瘍成長。アグリコシル化は、抗腫瘍効果を大きく無効にした。

【図４５】グリコシル化（ＴＰＰ－１４０９５、ＴＰＰ－１４０９９、ＴＰＰ－１５２８５、ＴＰＰ－１５２８６）又はアグリコシル化（ＴＰＰ－１８２０８、ＴＰＰ－１８２０９）抗ＣＣＲ８抗体で処置した後のＣＴ２６腫瘍担持マウスのスパイダープロット。アグリコシル化は抗腫瘍効果を大きく無効にし、抗腫瘍効果のＡＤＣＣ／ＡＤＣＰ依存性機構を示唆した。

【図４６－１】２回目の抗体処置の２４時間後の免疫細胞のＦＡＣＳ分析。腫瘍内ＣＤ４５＋細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ４５＋ＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ４＋ｃｏｎｖ細胞の絶対数。絶対細胞数を示すフローサイトメトリーによる腫瘍内Ｔｒｅｇ枯渇の分析。抗体投与後のそれぞれのアイソタイプ対照に対する残存Ｔｒｅｇの平均パーセンテージは、ＴＰＰ－１４０９５については１５．６％、ＴＰＰ－１４０９９については２８．２％、ＴＰＰ－１５２８５については８．７％、ＴＰＰ－１５２８６については３６．５％であった。アグリコシル化抗体については、Ｔｒｅｇの減少は観察されなかった。％腫瘍内ＣＤ４５＋細胞のＣＤ８＋Ｔ細胞。ＣＤ８＋Ｔ細胞：Ｔｒｅｇ比。ＣＤ４＋ｃｏｎｖ：Ｔｒｅｇ比。ＣＤ４＋Ｔ細胞のＴｒｅｇ細胞のパーセン

テージ。腫瘍内４－１ＢＢ＋Ｔｒｅｇ細胞の絶対数。腫瘍内４－１ＢＢ＋ＣＤ４＋ｃｏｎｖ細胞の絶対数。

【図４６－２】２回目の抗体処置の２４時間後の免疫細胞のＦＡＣＳ分析。腫瘍内ＣＤ４５＋細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ４５＋ＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ４＋ｃｏｎｖ細胞の絶対数。絶対細胞数を示すフローサイトメトリーによる腫瘍内Ｔｒｅｇ枯渇の分析。抗体投与後のそれぞれのアイソタイプ対照に対する残存Ｔｒｅｇの平均パーセンテージは、ＴＰＰ－１４０９５については１５．６％、ＴＰＰ－１４０９９については２８．２％、ＴＰＰ－１５２８５については８．７％、ＴＰＰ－１５２８６については３６．５％であった。アグリコシル化抗体については、Ｔｒｅｇの減少は観察されなかった。％腫瘍内ＣＤ４５＋細胞のＣＤ８＋Ｔ細胞。ＣＤ８＋Ｔ細胞：Ｔｒｅｇ比。ＣＤ４＋ｃｏｎｖ：Ｔｒｅｇ比。ＣＤ４＋Ｔ細胞のＴｒｅｇ細胞のパーセンテージ。腫瘍内４－１ＢＢ＋Ｔｒｅｇ細胞の絶対数。腫瘍内４－１ＢＢ＋ＣＤ４＋ｃｏｎｖ細胞の絶対数。

【図４７】異なる用量の抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５での処置後のＥＭＴ６腫瘍成長。有意性は、対数変換後の１元配置ＡＮＯＶＡ＋Ｓｉｄａｋの事後検定によって決定した。

【図４８】異なる用量の抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５又は抗ＣＴＬＡ４抗体での処置後１９日目のＥＭＴ６腫瘍成長。

【図４９】異なる用量の抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５又は抗ＣＴＬＡ４抗体で処置した後のＥＭＴ６腫瘍担持マウスのスパイダープロット。

【図５０－１】２回目の処置の２４時間後又は研究の終了時の、異なる用量のＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５又は抗ＣＴＬＡ４抗体による処置後のＥＭＴ６腫瘍担持マウスの免疫細胞のＦＡＣＳ分析。腫瘍内Ｔｒｅｇ細胞の絶対数。両方の時点で、例えば１０ｍｇ／ｋｇの抗ＣＣＲ８抗体について有意差が観察された。ＣＤ８陽性細胞対Ｔｒｅｇ比。ＣＤ４＋ｃｏｎｖ細胞対Ｔｒｅｇ比。ＣＤ４＋Ｔ細胞のＴｒｅｇ細胞のパーセンテージ。

【図５０－２】２回目の処置の２４時間後又は研究の終了時の、異なる用量のＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５又は抗ＣＴＬＡ４抗体による処置後のＥＭＴ６腫瘍担持マウスの免疫細胞のＦＡＣＳ分析。腫瘍内Ｔｒｅｇ細胞の絶対数。両方の時点で、例えば１０ｍｇ／ｋｇの抗ＣＣＲ８抗体について有意差が観察された。ＣＤ８陽性細胞対Ｔｒｅｇ比。ＣＤ４＋ｃｏｎｖ細胞対Ｔｒｅｇ比。ＣＤ４＋Ｔ細胞のＴｒｅｇ細胞のパーセンテージ。

【図５１－１】異なる用量の抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５又は抗ＣＴＬＡ４抗体での処置後、２回目の処置の２４時間後又は試験終了時のＥＭＴ６腫瘍担持マウスの免疫細胞のＦＡＣＳ分析。腫瘍内ＣＤ４５＋細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ４＋ｃｏｎｖ細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ４＋Ｔ細胞の絶対数。腫瘍内活性化ＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数。腫瘍内ＮＫ細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数。例えば１０ｍｇ／ｋｇの抗ＣＣＲ８抗体について、研究終了時に差が観察された。

【図５１－２】異なる用量の抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５又は抗ＣＴＬＡ４抗体での処置後、２回目の処置の２４時間後又は試験終了時のＥＭＴ６腫瘍担持マウスの免疫細胞のＦＡＣＳ分析。腫瘍内ＣＤ４５＋細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ４＋ｃｏｎｖ細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ４＋Ｔ細胞の絶対数。腫瘍内活性化ＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数。腫瘍内ＮＫ細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数。例えば１０ｍｇ／ｋｇの抗ＣＣＲ８抗体について、研究終了時に差が観察された。

【図５１－３】異なる用量の抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５又は抗ＣＴＬＡ４抗体での処置後、２回目の処置の２４時間後又は試験終了時のＥＭＴ６腫瘍担持マウスの免疫細胞のＦＡＣＳ分析。腫瘍内ＣＤ４５＋細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ４＋ｃｏｎｖ細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ４＋Ｔ細胞の絶対数。腫瘍内活性化ＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数。腫瘍内ＮＫ細胞の絶対数。腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数。例えば１０ｍｇ／ｋｇの抗ＣＣＲ８抗体について、研究終了時に差が観察された。

【図５２】異なる用量の抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５又は抗ＰＤＬ１抗体での処置後のＦ９腫瘍成長。

【図５３】異なる用量の抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５又は抗ＰＤＬ１抗体での処置開始後１６日目のＦ９腫瘍体積。少なくとも１０ｍｇ／ｋｇの抗体用量で有意な改善が観察された。
【図５４】異なる用量の抗ＣＣＲ８抗体又は抗ＰＤＬ１抗体で処置した後のＦ９腫瘍担持マウスのスパイダープロット。
【図５５】２回目の抗体処置の２４時間後にＦＡＣＳによって分析されたＦ９腫瘍における免疫細胞集団及びそれらの比に対する抗ＣＣＲ８抗体又は抗ＰＤＬ１抗体の効果。抗ＣＣＲ８抗体は、一致したアイソタイプ対照と比較して、腫瘍内ＣＤ４５＋Ｔ細胞、腫瘍内ＣＤ４＋Ｔ細胞、腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞、腫瘍内ＣＤ４＋ｃｏｎｖ　Ｔ細胞及び腫瘍内ＮＫ細胞の絶対数を増加させた。１０ｍｇ／ｋｇの抗ＣＣＲ８抗体は、腫瘍内Ｔｒｅｇ細胞の絶対数を減少させた（ＣＤ４＋、ＣＤ２５＋、ＦｏｘＰ３＋）。
【図５６】ＣＤ８＋Ｔ細胞対Ｔｒｅｇ比、Ｔｒｅｇ対ＣＤ４＋Ｔ細胞の頻度、ＣＤ８＋Ｔ細胞の４－１ＢＢ＋細胞の頻度、Ｔｒｅｇの４－１ＢＢ＋細胞の頻度及び従来のＣＤ４＋Ｔ細胞の４－１ＢＢ＋細胞の頻度としてプロットした、２回目の処置の２４時間後にＦＡＣＳによって分析されたＦ９腫瘍における免疫細胞集団及びそれらの比に対する抗ＣＣＲ８抗体又は抗ＰＤＬ１抗体の効果。１０ｍｇ／ｋｇで、抗ＣＣＲ８抗体は、Ｔｒｅｇ細胞に対するＣＤ８＋細胞の比をおよそ５４以上に増加させた（表１２．５．１を参照）。
【図５７ａ】Ｃ３８腫瘍担持マウスにおける併用処置の有効性。ａ．抗ＣＣＲ８代用抗体ＴＰＰ－１４０９９若しくはＴＰＰ－１５２８５若しくは抗ＰＤ－Ｌ１抗体での処置後、又は３ｍｇ／ｋｇ抗ＰＤＬ１抗体、１０ｍｇ／ｋｇ　ＴＰＰ－１５２８５との併用処置後のＣ３８腫瘍成長。対数変換後の１元配置ＡＮＯＶＡ＋Ｓｉｄａｋの事後検定によって決定される有意性。ｂ．抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）、抗マウスＰＤ－Ｌ１抗体（ＰＤＬ１、３ｍｇ／ｋｇ）又はＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）と抗マウスＰＤ－１抗体（３ｍｇ／ｋｇ）の組み合わせで処置した後のＣ３８腫瘍担持マウスの生存プロット。
【図５７ｂ】Ｃ３８腫瘍担持マウスにおける併用処置の有効性。ａ．抗ＣＣＲ８代用抗体ＴＰＰ－１４０９９若しくはＴＰＰ－１５２８５若しくは抗ＰＤ－Ｌ１抗体での処置後、又は３ｍｇ／ｋｇ抗ＰＤＬ１抗体、１０ｍｇ／ｋｇ　ＴＰＰ－１５２８５との併用処置後のＣ３８腫瘍成長。対数変換後の１元配置ＡＮＯＶＡ＋Ｓｉｄａｋの事後検定によって決定される有意性。ｂ．抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）、抗マウスＰＤ－Ｌ１抗体（ＰＤＬ１、３ｍｇ／ｋｇ）又はＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）と抗マウスＰＤ－１抗体（３ｍｇ／ｋｇ）の組み合わせで処置した後のＣ３８腫瘍担持マウスの生存プロット。
【図５８】フローサイトメトリーによるＣ３８腫瘍における腫瘍Ｔｒｅｇ枯渇の分析（２回目の抗体処置の２４時間後のサンプリング）。Ｃ３８腫瘍担持マウスを、単独療法における抗ＣＣＲ８代用抗体ＴＰＰ－１４０９９若しくはＴＰＰ－１５２８５若しくは抗ＰＤ－Ｌ１抗体、又は抗ＰＤ－Ｌ１抗体と組み合わせたＴＰＰ－１５２８５で処置した。絶対Ｔｒｅｇ枯渇ＣＤ８＋Ｔ細胞／Ｔｒｅｇ細胞比。
【図５９】フローサイトメトリーによって分析した場合のＣ３８腫瘍におけるＣＤ１１＋Ｆ４／８０＋マクロファージ（試験終了時のサンプリング）。
【図６０】ＴＰＰ－１５２８５、抗ＣＴＬＡ４抗体又はその両方による処置後のＢ１６Ｆ１０－ＯＶＡ腫瘍成長。
【図６１】抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（１ｍｇ／ｋｇ）、抗マウスＰＤ－１抗体（ＣＤＲ：アテゾリズマブ、１０ｍｇ／ｋｇ）又はＴＰＰ－１５２８５（１ｍｇ／ｋｇ）と抗マウスＰＤ－１抗体（１０ｍｇ／ｋｇ）の組み合わせ（週２回ｉ．ｐ．）での処置後のＥＭＴ－６腫瘍成長。平均及び標準偏差。
【図６２－１】２回目の抗体処置の２４時間後にサンプリングした、フローサイトメトリーによって分析されたＥＭＴ－６腫瘍における免疫細胞集団のＦＡＣＳ分析。ＣＤ４＋Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞、Ｔｒｅｇに対するＣＤ８＋Ｔ細胞の比。四角及びひげ、最小から最大、中央値（ＧｒａｐｈＰａｄ）。

【図６２－２】２回目の抗体処置の２４時間後にサンプリングした、フローサイトメトリーによって分析されたＥＭＴ－６腫瘍における免疫細胞集団のＦＡＣＳ分析。ＣＤ４＋Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞、Ｔｒｅｇに対するＣＤ８＋Ｔ細胞の比。四角及びひげ、最小から最大、中央値（ＧｒａｐｈＰａｄ）。

【図６３ａ】ａ．抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（５ｍｇ／ｋｇ）、抗マウスＰＤ－１抗体（ＣＤＲ：アテゾリズマブ、５ｍｇ／ｋｇ）又はＴＰＰ－１５２８５（５ｍｇ／ｋｇ）と抗マウスＰＤ－１抗体（５ｍｇ／ｋｇ）の組み合わせで処置した後のＣ３８腫瘍担持マウスの分析（各々週２回ｉ．ｐ．）。ａ．腫瘍体積。平均及び標準偏差。ｂ．生存プロット。

【図６３ｂ】ａ．抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（５ｍｇ／ｋｇ）、抗マウスＰＤ－１抗体（ＣＤＲ：アテゾリズマブ、５ｍｇ／ｋｇ）又はＴＰＰ－１５２８５（５ｍｇ／ｋｇ）と抗マウスＰＤ－１抗体（５ｍｇ／ｋｇ）の組み合わせで処置した後のＣ３８腫瘍担持マウスの分析（各々週２回ｉ．ｐ．）。ａ．腫瘍体積。平均及び標準偏差。ｂ．生存プロット。

【図６４－１】フローサイトメトリーによる、Ｃ３８腫瘍における腫瘍ＣＤ４＋Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞又はＣＤ８＋Ｔ細胞対Ｔｒｅｇの比の分析（２回目の抗体処置の２４時間後のサンプリング）。

【図６４－２】フローサイトメトリーによる、Ｃ３８腫瘍における腫瘍ＣＤ４＋Ｔ細胞、Ｔｒｅｇ、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞又はＣＤ８＋Ｔ細胞対Ｔｒｅｇの比の分析（２回目の抗体処置の２４時間後のサンプリング）。

【図６５】抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）単独、抗ＰＤ－１抗体（ａＰＤ－１、ＣＤＲ：アテゾリズマブ、１０ｍｇ／ｋｇ）単独又はＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）と抗ＰＤ－１抗体（１０ｍｇ／ｋｇ）の逐次併用処置（両方とも週２回ｉ．ｐ．）による処置後のＭＢ４９腫瘍成長。

【図６６－１】フローサイトメトリーによるＭＢ４９腫瘍における腫瘍ＣＤ４５＋細胞、Ｔｒｅｇ、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞及びＣＤ８対Ｔｒｅｇの比の分析（試験終了時のサンプリング）。

【図６６－２】フローサイトメトリーによるＭＢ４９腫瘍における腫瘍ＣＤ４５＋細胞、Ｔｒｅｇ、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞及びＣＤ８対Ｔｒｅｇの比の分析（試験終了時のサンプリング）。

【図６７】抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（５ｍｇ／ｋｇ、ｑ３／４ｄ　ｉ．ｐ．）、オキサリプラチン（５ｍｇ／ｋｇ、ｑ４ｄ　ｉ．ｐ．）、ドキソルビシン（６ｍｇ／ｋｇ、ｉ．ｖ．ＳＤ）、ドセタキセル（１０ｍｇ／ｋｇ、ｑ２ｄｘ５、ｉ．ｖ．）又はＴＰＰ－１５２８５とオキサリプラチン、ドキソルビシン又はドセタキセルのいずれかとの組み合わせでの処置後のＥＭＴ－６腫瘍成長。

【図６８】抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５、ゲムシタビン又はＴＰＰ－１５２８５とゲムシタビンとの組み合わせによる処置後のＭＢ４９腫瘍成長。

【図６９】抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）単独、抗ＰＤ－１抗体（ａＰＤ－１、ＣＤＲ：アテゾリズマブ、１０ｍｇ／ｋｇ）単独、抗ＰＤ－Ｌ１抗体（１０ｍｇ／ｋｇ）単独、抗ＣＴＬＡ４抗体単独、ＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）と抗マウスＰＤ－１抗体（１０ｍｇ／ｋｇ）との組み合わせ、又はＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）と抗ＰＤ－Ｌ１抗体（１０ｍｇ／ｋｇ）との組み合わせによる処置後のルイス肺腫瘍成長。

【図７０】抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（３ｍｇ／ｋｇ）又は放射線療法（ＲＴ、３×２Ｇｙ）単独又は組み合わせでの処置後のＥＭＴ－６腫瘍成長。有意性は、対数変換後の１元配置ＡＮＯＶＡ＋Ｓｉｄａｋの事後検定によって決定した。

【図７１】アイソタイプ対照（ＴＰＰ－９８０９）又は抗ＣＣＲ８抗体（ＴＰＰ－１４０９９）のいずれかで処置した異なる同系腫瘍モデルにおける異なる免疫細胞マーカーのｍＲＮＡ発現レベル。アイソタイプ処置対照群における発現の中央値を０に設定する。遺伝子発現は、ＲＳＥＭアルゴリズムによって推定されるトランスクリプトパーミリオン（Ｔ

ＰＭ）で測定される。Ｔｒｅｇマーカー Ｆｏｘｐ３。有意に高いＦｏｘｐ３レベルが、ＴＰＰ－１４０９９で処置したＣＴ２６、Ｈ２２、Ｈｅｐａ１－６及びＲＭ１モデルで観察され、少なくとも３用量のＴＰＰ－１４０９９の投与後のＴｒｅｇ浸潤の増加を示している。

【図７２】炎症マーカーｌｆｎｇ。ＴＰＰ－１４０９９で処置したＨ２２、ＣＴ２６及びＲＭ１モデルでは、有意に高いｌｆｎｇレベルが観察され、ＴＰＰ－１４０９９によって誘導される強い炎症促進活性を指し示している。

【図７３】マクロファージマーカーＭｓ４ａ７。有意に高いＭｓ４ａ７レベルが、ＴＰＰ－１４０９９で処置したＣＴ２６、Ｈ２２及びＨｅｐａ１－６モデルで観察され、ＴＰＰ－１４０９９によって引き起こされるマクロファージの浸潤の増加を示している。

【図７４】細胞傷害性Ｔ細胞マーカーＣｄ８ａ及びＣｄ８ｂ１。ＴＰＰ－１４０９９で処置したＣＴ２６、Ｈ２２、ＲＭ１及びＨｅｐａ１－６モデルで有意に高い細胞傷害性Ｔ細胞レベルが観察され、ＴＰＰ－１４０９９による細胞傷害性Ｔ細胞浸潤及び／又は増殖の誘導を示している。

【図７５】ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞マーカーＮｃｒ１。有意に高いＮＫ細胞レベルが、ＴＰＰ－１４０９９で処置したＣＴ２６、Ｈ２２及びＨｅｐａ１－６モデルにおいて観察される。

【図７６】Ｐａｎ　Ｔ細胞マーカーＣｄ３ｅ／ｄ／ｇ。有意に高いＴ細胞レベルが、ＴＰＰ－１４０９９で処置したＣＴ２６、Ｈ２２及びＨｅｐａ１－６モデルにおいて観察される。

【図７７】活性化Ｔｒｅｇマーカー及び抗体標的Ｃｃｒ８。有意に高いＣｃｒ８レベルが、ＴＰＰ－１４０９９で処置したＣＴ２６、Ｈ２２及びＨｅｐａ１－６モデルにおいて観察される。

【図７８ａ】高度に特異的な炎症促進性Ｍ１マクロファージマーカーＡｃｏｄ１（ａ）及び高度に特異的な抗炎症性Ｍ２マクロファージマーカーＭｒｃ１（ｂ）。顕著に高いＭ１マクロファージレベルは、ＴＰＰ－１４０９９で処置したＣＴ２６、４Ｔ１、Ｈ２２、Ｈｅｐａ１－６、及びＲＭ１モデルで観察されるが、顕著に高いＭ２マクロファージレベルは、ＴＰＰ－１４０９９で処置した全てのモデルにわたって観察されない。

【図７８ｂ】高度に特異的な炎症促進性Ｍ１マクロファージマーカーＡｃｏｄ１（ａ）及び高度に特異的な抗炎症性Ｍ２マクロファージマーカーＭｒｃ１（ｂ）。顕著に高いＭ１マクロファージレベルは、ＴＰＰ－１４０９９で処置したＣＴ２６、４Ｔ１、Ｈ２２、Ｈｅｐａ１－６、及びＲＭ１モデルで観察されるが、顕著に高いＭ２マクロファージレベルは、ＴＰＰ－１４０９９で処置した全てのモデルにわたって観察されない。

【図７９】高度に特異的な炎症促進性Ｍ１マクロファージマーカーＡｃｏｄ１と高度に特異的な抗炎症性Ｍ２マクロファージマーカーＭｒｃ１との比。まとめると、抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１４０９９の複数回投与は、これらの腫瘍モデルにおいてＭ１／Ｍ２マクロファージ比を増加させた。

【図８０】Ｂ細胞マーカーＣｄ１９及びＣｄ２２。ＴＰＰ－１４０９９で処置したＣＴ２６、Ｈ２２、ＲＭ１及びＨｅｐａ１－６モデルでは、顕著に高いＢ細胞レベルが観察される。抗ＣＣＲ８抗体は、Ｂ細胞を腫瘍に動員するようである。理論に拘束されるものではないが、Ｂ細胞の動員は、ＴＰＰ－１４０９９によって誘発される抗腫瘍応答に影響を及ぼし得る。

【図８１－１】ＬＴｔａ／ｂ並びにＣｘｃｒ５及びそのリガンドＣｘｃｌ１３の発現レベル。これらのマーカーは、ヒトにおける抗腫瘍効果の重要なドライバーであるリンパ節並びに三次リンパ系構造（Ｃｙｓｔｅｒ，Ｊａｓｏｎ　Ｇ．“Ｂｌｏｗｎ　ａｗａｙ：ｔｈｅ　ｕｎｅｘｐｅｃｔｅｄ　ｒｏｌｅ　ｏｆ　ｌｙｍｐｈｏｔｏｘｉｎ　ｉｎ　ｌｙｍｐｈｏｉｄ　ｏｒｇａｎ　ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ．”Ｔｈｅ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１９２．５（２０１４）：２００７－２００９．、及びＣｕｐｅｄｏ，Ｔｏｍ，ｅｔ　ａｌ．“Ｉｎｄｕｃｔｉｏｎ　ｏｆ　ｓｅｃｏｎｄａｒｙ　ａｎｄ　ｔｅｒｔｉａｒｙ　ｌｙｍｐｈｏｉｄ　ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ　ｉｎ　ｔｈｅ　ｓｋｉｎ．”Ｉｍｍ

unity 21.5（2004）：655－667.を参照）の発生に重要である（Dieu－Nosjean，Marie－Caroline，et al.“Tertiary lymphoid structures，drivers of the anti－tumor responses in human cancers.”Immunological reviews 271.1（2016）：260－275.を参照）。3つの刊行物は全て、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【図81－2】LTta／b並びにCxcr5及びそのリガンドCxcl13の発現レベル。これらのマーカーは、ヒトにおける抗腫瘍効果の重要なドライバーであるリンパ節並びに三次リンパ系構造（Cyster，Jason G.“Blown away：the unexpected role of lymphotoxin in lymphoid organ development.”The Journal of Immunology 192.5（2014）：2007－2009.、及びCupedo，Tom，et al.“Induction of secondary and tertiary lymphoid structures in the skin.”Immunity 21.5（2004）：655－667.を参照）の発生に重要である（Dieu－Nosjean，Marie－Caroline，et al.“Tertiary lymphoid structures，drivers of the anti－tumor responses in human cancers.”Immunological reviews 271.1（2016）：260－275.を参照）。3つの刊行物は全て、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【図81－3】LTta／b並びにCxcr5及びそのリガンドCxcl13の発現レベル。これらのマーカーは、ヒトにおける抗腫瘍効果の重要なドライバーであるリンパ節並びに三次リンパ系構造（Cyster，Jason G.“Blown away：the unexpected role of lymphotoxin in lymphoid organ development.”The Journal of Immunology 192.5（2014）：2007－2009.、及びCupedo，Tom，et al.“Induction of secondary and tertiary lymphoid structures in the skin.”Immunity 21.5（2004）：655－667.を参照）の発生に重要である（Dieu－Nosjean，Marie－Caroline，et al.“Tertiary lymphoid structures，drivers of the anti－tumor responses in human cancers.”Immunological reviews 271.1（2016）：260－275.を参照）。3つの刊行物は全て、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【図82－1】異なる腫瘍モデルについてのTPP－14099処置群（三角形で示す）及びアイソタイプ対照処置群（円で示す）における経時的な腫瘍成長（mm^3で測定）のスパイダープロット。試験終了時のT細胞浸潤のレベルは、対応するバルク腫瘍試料中のCd8a mRNAレベルによって判断されるように、灰色の陰影（黒及び薄灰色は、それぞれ最高及び最低Cd8aレベルに対応する）によって示される。H22及びCT26では、腫瘍サイズはCd8aレベルと優れた逆相関を示した。

【図82－2】異なる腫瘍モデルについてのTPP－14099処置群（三角形で示す）及びアイソタイプ対照処置群（円で示す）における経時的な腫瘍成長（mm^3で測定）のスパイダープロット。試験終了時のT細胞浸潤のレベルは、対応するバルク腫瘍試料中のCd8a mRNAレベルによって判断されるように、灰色の陰影（黒及び薄灰色は、それぞれ最高及び最低Cd8aレベルに対応する）によって示される。H22及びCT26では、腫瘍サイズはCd8aレベルと優れた逆相関を示した。

【図83－1】異なる免疫細胞マーカーのmRNAレベル及び腫瘍サイズによって判断される、異なる免疫細胞集団による腫瘍浸潤の間の相関。TPP－14099処置腫瘍を三角で示し、アイソタイプ処置腫瘍を丸で示す。腫瘍サイズはmm^3で測定される。細胞傷害性T細胞浸潤（Cd8a＋Cd8b1 mRNAレベルによって判断される）とCT2

６腫瘍サイズとの間の強い負の相関。ＴＰＰ－１４０９９処置腫瘍はサイズが小さく、対照よりも高いＣｄ８ａ＋Ｃｄ８ｂ１　Ｔ細胞浸潤レベルを示し、ＴＰＰ－１４０９９処置時のＴ細胞浸潤の増加が腫瘍増殖の減少を引き起こすことを示している。ＴＰＰ－１４０９９処置腫瘍におけるＴ細胞浸潤（Ｃｄ３　ｍＲＮＡレベルによって測定）とＣＴ２６腫瘍サイズとの間の強い負の相関。ＴＰＰ－１４０９９で処置された腫瘍はサイズが小さく、より高いＴ細胞浸潤レベルを示し、すなわちＣｄ３　ｍＲＮＡのレベルが高いほど腫瘍が小さくなる。ＮＫ細胞浸潤（ＮＫマーカーＮｃｒ１発現によって判断される）とＣＴ２６腫瘍サイズとの間の負の相関。ＴＰＰ－１４０９９処置腫瘍はサイズが小さく、より高いＮＫ細胞浸潤を示す。腫瘍サイズはＮＫ浸潤と強く負の相関があり、ＮＫのレベルが高いほど腫瘍は小さくなる。ＴＰＰ－１４０９９処置腫瘍におけるＬｔａ／Ｌｔｂ／Ｃｘｃｒ５及びＣｘｃｌ１３　ｍＲＮＡレベル及びＣＴ２６腫瘍サイズによって判断される三次リンパ系構造の想定される誘導の間の相関。４つのマーカーのそれぞれについて、レベルはＴＰＰ－１４０９９処置後に強く増加し、腫瘍サイズは発現レベルと強く負の相関があり、ＴＰＰ－１４０９９処置時の三次リンパ系構造の形成の増加が腫瘍増殖の減少を引き起こすことを示している。

【図８３－２】異なる免疫細胞マーカーのｍＲＮＡレベル及び腫瘍サイズによって判断される、異なる免疫細胞集団による腫瘍浸潤の間の相関。ＴＰＰ－１４０９９処置腫瘍を三角で示し、アイソタイプ処置腫瘍を丸で示す。腫瘍サイズはｍｍ^{3}で測定される。細胞傷害性Ｔ細胞浸潤（Ｃｄ８ａ＋Ｃｄ８ｂ１　ｍＲＮＡレベルによって判断される）とＣＴ２６腫瘍サイズとの間の強い負の相関。ＴＰＰ－１４０９９処置腫瘍はサイズが小さく、対照よりも高いＣｄ８ａ＋Ｃｄ８ｂ１　Ｔ細胞浸潤レベルを示し、ＴＰＰ－１４０９９処置時のＴ細胞浸潤の増加が腫瘍増殖の減少を引き起こすことを示している。ＴＰＰ－１４０９９処置腫瘍におけるＴ細胞浸潤（Ｃｄ３　ｍＲＮＡレベルによって測定）とＣＴ２６腫瘍サイズとの間の強い負の相関。ＴＰＰ－１４０９９で処置された腫瘍はサイズが小さく、より高いＴ細胞浸潤レベルを示し、すなわちＣｄ３　ｍＲＮＡのレベルが高いほど腫瘍が小さくなる。ＮＫ細胞浸潤（ＮＫマーカーＮｃｒ１発現によって判断される）とＣＴ２６腫瘍サイズとの間の負の相関。ＴＰＰ－１４０９９処置腫瘍はサイズが小さく、より高いＮＫ細胞浸潤を示す。腫瘍サイズはＮＫ浸潤と強く負の相関があり、ＮＫのレベルが高いほど腫瘍は小さくなる。ＴＰＰ－１４０９９処置腫瘍におけるＬｔａ／Ｌｔｂ／Ｃｘｃｒ５及びＣｘｃｌ１３　ｍＲＮＡレベル及びＣＴ２６腫瘍サイズによって判断される三次リンパ系構造の想定される誘導の間の相関。４つのマーカーのそれぞれについて、レベルはＴＰＰ－１４０９９処置後に強く増加し、腫瘍サイズは発現レベルと強く負の相関があり、ＴＰＰ－１４０９９処置時の三次リンパ系構造の形成の増加が腫瘍増殖の減少を引き起こすことを示している。

【図８４－１】異なる腫瘍モデルについての、Ｃｄ８ａ　ｍＲＮＡ発現によって判断されるＣｄ８　ａ浸潤レベルと、ＴＰＰ－１４０９９処置腫瘍（三角で示す）及びアイソタイプ処置対照群（丸で示す）の腫瘍サイズとの相関。ＴＰＰ－１４０９９処置腫瘍はサイズが小さく、より高いＣｄ８ａ浸潤レベルを示す。腫瘍サイズはＣｄ８ａ浸潤と強く負の相関があり、Ｃｄ８ａのレベルが高いほど腫瘍は小さくなる。

【図８４－２】異なる腫瘍モデルについての、Ｃｄ８ａ　ｍＲＮＡ発現によって判断されるＣｄ８　ａ浸潤レベルと、ＴＰＰ－１４０９９処置腫瘍（三角で示す）及びアイソタイプ処置対照群（丸で示す）の腫瘍サイズとの相関。ＴＰＰ－１４０９９処置腫瘍はサイズが小さく、より高いＣｄ８ａ浸潤レベルを示す。腫瘍サイズはＣｄ８ａ浸潤と強く負の相関があり、Ｃｄ８ａのレベルが高いほど腫瘍は小さくなる。

【図８５】４つの異なる処置スキーム：単一処置、２回のＢＩＷ処置、３回のＢＩＷ処置又は４回のＢＩＷ処置で処置したＥＭＴ６腫瘍担持マウスにおけるＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５の有効性。各群をビヒクル対照又は０．１ｍｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ若しくは５ｍｇ／ｋｇのＴＰＰ－１５２８５で処置した。

【図８６】表１２．６．９．１に示すＭＢＴ２同系腫瘍担持マウスにおいて単独又は組み合わせて試験した本発明の抗ＣＣＲ８抗体、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体又はパク

リタキセルの治療有効性。
【図８７】ジフテリア毒素処置ＤＴＲマウスにおけるＣＤ８ａ発現の定量的枯渇後の本発明の抗ＣＣＲ８抗体の治療有効性。枯渇Ｃｄ８＋Ｔ細胞は、ＴＰＰ１５８２５の抗腫瘍成長効果を無効にする（群０２ｂ対群０１ｂを参照）。
【図８８】ジフテリア毒素処置ＤＴＲマウスにおけるＣＤ１９＋発現の定量的枯渇後の本発明の抗ＣＣＲ８抗体の治療有効性。枯渇Ｃｄ１９＋Ｂ細胞は、ＴＰＰ１５８２５の抗腫瘍成長効果を増強する（群０２ｂ対群０１ｂを参照）。
【図８９】ＨＵＶＥＣ細胞における種々の本発明の抗ＣＣＲ８抗体の内在化曲線。既知の内在化プロファイルを有する抗ＣＤ７１抗体を陽性対照として使用した。対応するデータを表１０．５．２に示す。本発明による方法で得られた抗体はいずれも実質的な内在化を示さず、ＡＤＣＣ／ＡＤＣＰベースのアプローチに特に有用であった。
【発明を実施するための形態】
【００６４】
配列番号の簡単な説明
電子出願を介して本出願と共に提供される配列表は、その全体が本明細書に含まれる。
【００６５】
配列番号１～配列番号１０８及び配列番号１５７～配列番号１６８は、抗原として又はオフターゲットパニングのために使用することができる単離されたポリペプチドに関する。
【００６６】
配列番号１０９～配列番号１５６は、異なる種由来のケモカイン受容体タンパク質に関する。配列番号２０１～配列番号９６５は、本発明の抗体に関する。硫酸化に関するカラムは便宜上提供されているにすぎず、決してそれぞれの配列を制限することを意図するものではない。
【００６７】

【表１】

配列名	配列領域	種類	配列番号	硫酸化
P32246_CCR1_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 1	Y10, Y18
Q2Y2P0_CCR1_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 2	Y10, Y18
P51675_CCR1_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 3	Y10, Y18
P32246_CCR1_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 4	Y10, Y18
Q2Y2P0_CCR1_MACFA_N term	抗原	PRT	配列番号 5	Y10, Y18
P51675_CCR1_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 6	Y10, Y18
P41597_CCR2_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 7	Y26, Y28
O18793_CCR2_MACMU_TRD	抗原	PRT	配列番号 8	Y26, Y28
P51683_CCR2_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 9	Y37, Y39
P41597_CCR2_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 10	Y26, Y28
O18793_CCR2_MACMU_N term	抗原	PRT	配列番号 11	Y26, Y28
P51683_CCR2_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 12	Y37, Y39
P51677_CCR3_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 13	Y16, Y17
Q9BDS8_CCR3_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 14	Y16
P51678_CCR3_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 15	Y20, Y22
P51677_CCR3_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 16	Y16, Y17
Q9BDS8_CCR3_MACFA_N term	抗原	PRT	配列番号 17	Y16
P51678_CCR3_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 18	Y20, Y22
P51679_CCR4_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 19	(Y16, Y19, Y20), Y22
G7NYB7_CCR4_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 20	(Y16, Y19, Y20), Y22
P51680_CCR4_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 21	(Y16, Y19, Y20), Y22
P51679_CCR4_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 22	(Y16, Y19, Y20), Y22
G7NYB7_CCR4_MACFA_N term	抗原	PRT	配列番号 23	(Y16, Y19, Y20), Y22
P51680_CCR4_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 24	(Y16, Y19, Y20), Y22
P51681_CCR5_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 25	Y3, Y10, Y14, Y15
P61814_CCR5_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 26	Y3, Y10, Y14, Y15
P51682_CCR5_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 27	Y10, Y12, Y16
P51681_CCR5_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 28	Y3, Y10, Y14, Y15
P61814_CCR5_MACFA_N term	抗原	PRT	配列番号 29	Y3, Y10, Y14, Y15
P51682_CCR5_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 30	Y10, Y12, Y16
P51684_CCR6_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 31	Y18, Y26, Y27
A0A2K5WY45_CCR6_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 32	Y23, Y31, Y32
O54689_CCR6_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 33	(Y7), Y13, Y18, Y19
P51684_CCR6_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 34	Y18, Y26, Y27
A0A2K5WY45_CCR6_MACFA_N term	抗原	PRT	配列番号 35	Y23, Y31, Y32
O54689_CCR6_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 36	(Y7), Y13, Y18, Y19
P32248_CCR7_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 37	Y8, Y17
C0ISS3_CCR7_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 38	Y8, Y17
P47774_CCR7_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 39	Y8, Y17, Y20
P32248_CCR7_HUMAN_N term(シグナルペプチドなし)	抗原	PRT	配列番号 40	Y8, Y17
C0ISS3_CCR7_MACFA_N term(シグナルペプチドなし)	抗原	PRT	配列番号 41	Y8, Y17
P47774_CCR7_MOUSE_N term(シグナルペプチドなし)	抗原	PRT	配列番号 42	Y8, Y17, Y20

P51685_CCR8_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 43	Y3, Y15, (16), Y17
G7NYJ2_CCR8_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 44	Y3, Y15, (16), Y17
P56484_CCR8_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 45	Y3, Y14, Y15
P51685_CCR8_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 46	Y3, Y15, (16), Y17
G7NYJ2_CCR8_MACFA_N term	抗原	PRT	配列番号 47	Y3, Y15, (16), Y17
P56484_CCR8_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 48	Y3, Y14, Y15
P51685_CCR8_HUMAN_LID	抗原	PRT	配列番号 49	
G7NYJ2_CCR8_MACFA_LID	抗原	PRT	配列番号 50	
P56484_CCR8_MOUSE_LID	抗原	PRT	配列番号 51	
P51685_CCR8_HUMAN_ECL1	抗原	PRT	配列番号 52	
G7NYJ2_CCR8_MACFA_ECL1	抗原	PRT	配列番号 53	
P56484_CCR8_MOUSE_ECL1	抗原	PRT	配列番号 54	
P51685_CCR8_HUMAN_ECL2	抗原	PRT	配列番号 55	
G7NYJ2_CCR8_MACFA_ECL2	抗原	PRT	配列番号 56	
P56484_CCR8_MOUSE_ECL2	抗原	PRT	配列番号 57	
P51685_CCR8_HUMAN_ECL3	抗原	PRT	配列番号 58	
G7NYJ2_CCR8_MACFA_ECL3	抗原	PRT	配列番号 59	
P56484_CCR8_MOUSE_ECL3	抗原	PRT	配列番号 60	
P51686_CCR9_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 61	Y17, Y28, Y37
Q0H741_CCR9_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 62	Y17, Y28, Y37
Q9WUT7_CCR9_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 63	Y19, Y28
P51686_CCR9_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 64	Y17, Y28, Y37
Q0H741_CCR9_MACFA_N term	抗原	PRT	配列番号 65	Y17, Y28, Y37
Q9WUT7_CCR9_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 66	Y19, Y28
P46092_CCR10_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 67	Y14, Y22
A0A2K5UAP1_CCR10_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 68	Y14, Y22
Q9JL21_CCR10_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 69	Y14, Y17, Y22
P46092_CCR10_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 70	Y14, Y22
A0A2K5UAP1_CCR10_MACFA_N term	抗原	PRT	配列番号 71	Y14, Y22
Q9JL21_CCR10_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 72	Y14, Y17, Y22
P25024_CXCR1_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 73	Y27
A0A2K5X9E4_CXCR1_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 74	Y14, Y28
Q810W6_CXCR1_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 75	Y6, Y32
P25024_CXCR1_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 76	Y27
A0A2K5X9E4_CXCR1_MACFA_N term	抗原	PRT	配列番号 77	Y14, Y28
Q810W6_CXCR1_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 78	Y6, Y32
P25025_CXCR2_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 79	Y23, Y25
Q28519_CXCR2_MACMU_TRD	抗原	PRT	配列番号 80	Y20, Y22
P35343_CXCR2_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 81	Y24
P25025_CXCR2_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 82	Y23, Y25
Q28519_CXCR2_MACMU_N term	抗原	PRT	配列番号 83	Y20, Y22
P35343_CXCR2_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 84	Y24
P49682_CXCR3_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 85	Y27, Y29
A0A2K5UV19_CXCR3_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 86	Y27, Y29

O88410_CXCR3_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 87	Y2, Y27, Y29
P49682_CXCR3_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 88	Y27, Y29
A0A2K5UV19_CXCR3_MACFA_N term	抗原	PRT	配列番号 89	Y27, Y29
O88410_CXCR3_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 90	Y2, Y27, Y29
P61073_CXCR4_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 91	(Y7), Y12, Y21
Q28474_CXCR4_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 92	(Y7), Y12, Y21
P70658_CXCR4_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 93	Y9, Y14, Y23
P61073_CXCR4_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 94	(Y7), Y12, Y21
Q28474_CXCR4_MACFA_N term	抗原	PRT	配列番号 95	(Y7), Y12, Y21
P70658_CXCR4_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 96	Y9, Y14, Y23
P32302_CXCR5_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 97	Y3, Y27
G8F5K4_CXCR5_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 98	Y3, Y27
Q04683_CXCR5_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 99	Y3, Y14, Y20, Y26
P32302_CXCR5_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 100	Y3, Y27
G8F5K4_CXCR5_MACFA_N term	抗原	PRT	配列番号 101	Y3, Y27
Q04683_CXCR5_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 102	Y3, Y14, Y20, Y26
O00574_CXCR6_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 103	Y6, Y10
Q9BDS6_CXCR6_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 104	Y4, Y7, Y39
Q9EQ16_CXCR6_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 105	Y11, (Y15)
O00574_CXCR6_HUMAN_N term	抗原	PRT	配列番号 106	Y6, Y10
Q9BDS6_CXCR6_MACFA_N term	抗原	PRT	配列番号 107	Y4, Y7, Y39
Q9EQ16_CXCR6_MOUSE_N term	抗原	PRT	配列番号 108	Y11, (Y15)
P32246_CCR1_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 109	
Q2Y2P0_CCR1_MACFA	抗原	PRT	配列番号 110	
P51675_CCR1_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 111	
P41597_CCR2_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 112	
O18793_CCR2_MACMU	抗原	PRT	配列番号 113	
P51683_CCR2_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 114	
P51677_CCR3_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 115	
Q9BDS8_CCR3_MACFA	抗原	PRT	配列番号 116	
P51678_CCR3_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 117	
P51679_CCR4_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 118	
G7NYB7_CCR4_MACFA	抗原	PRT	配列番号 119	
P51680_CCR4_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 120	
P51681_CCR5_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 121	
P61814_CCR5_MACFA	抗原	PRT	配列番号 122	
P51682_CCR5_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 123	
P51684_CCR6_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 124	
A0A2K5WY45_CCR6_MACFA	抗原	PRT	配列番号 125	
O54689_CCR6_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 126	
P32248_CCR7_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 127	
C0ISS3_CCR7_MACFA	抗原	PRT	配列番号 128	
P47774_CCR7_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 129	
P51685_CCR8_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 130	
G7NYJ2_CCR8_MACFA	抗原	PRT	配列番号 131	
P56484_CCR8_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 132	
P51686_CCR9_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 133	

Q0H741_CCR9_MACFA	抗原	PRT	配列番号 134	
Q9WUT7_CCR9_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 135	
P46092_CCR10_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 136	
A0A2K5UAP1_CCR10_MACFA	抗原	PRT	配列番号 137	
Q9JL21_CCR10_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 138	
P25024_CXCR1_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 139	
A0A2K5X9E4_CXCR1_MACFA	抗原	PRT	配列番号 140	
Q810W6_CXCR1_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 141	
P25025_CXCR2_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 142	
Q28519_CXCR2_MACMU	抗原	PRT	配列番号 143	
P35343_CXCR2_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 144	
P49682_CXCR3_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 145	
A0A2K5UV19_CXCR3_MACFA	抗原	PRT	配列番号 146	
O88410_CXCR3_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 147	
P61073_CXCR4_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 148	
Q28474_CXCR4_MACFA	抗原	PRT	配列番号 149	
P70658_CXCR4_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 150	
P32302_CXCR5_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 151	
G8F5K4_CXCR5_MACFA	抗原	PRT	配列番号 152	
Q04683_CXCR5_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 153	
O00574_CXCR6_HUMAN	抗原	PRT	配列番号 154	
Q9BDS6_CXCR6_MACFA	抗原	PRT	配列番号 155	
Q9EQ16_CXCR6_MOUSE	抗原	PRT	配列番号 156	
P49238_CX3CR1_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 157	Y14
Q6Y3J6_CX3CR1_MACFA_TRD	抗原	PRT	配列番号 158	Y20
Q9Z0D9_CX3CR1_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 159	Y15
P49238_CX3CR1_HUMAN_N Term	抗原	PRT	配列番号 160	Y14, Y22
Q6Y3J6_CX3CR1_MACFA_N Term	抗原	PRT	配列番号 161	Y20, Y22
Q9Z0D9_CX3CR1_MOUSE_N Term	抗原	PRT	配列番号 162	Y15, Y23
P25024_CXCR1_HUMAN_TRD	抗原	PRT	配列番号 163	Y27
Q2YEG0_CXCR1_MACMU_TRD	抗原	PRT	配列番号 164	Y14, Y28
Q810W6_CXCR1_MOUSE_TRD	抗原	PRT	配列番号 165	Y6, Y32
P25024_CXCR1_HUMAN_N Term	抗原	PRT	配列番号 166	Y27
Q2YEG0_CXCR1_MACMU_N Term	抗原	PRT	配列番号 167	Y14, Y28, Y41
Q810W6_CXCR1_MOUSE_N Term	抗原	PRT	配列番号 168	Y6, Y32

【００６８】

【表 2】

TPP ID	配列名	配列領域	種類	配列番号
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 201
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 202
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 203
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 204
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 205
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 206
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 207
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 208
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 209
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 210
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 211
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 212
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 213
TPP-14095	497A-M005-E07 -hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 214
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 215
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 216
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 217
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 218
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 219
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 220
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 221
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 222
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 223
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 224
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 225
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 226
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 227
TPP-14099	497A-M005-F02 -hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 228
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	VH	PRT	配列番号 229
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	HCDR1	PRT	配列番号 230
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	HCDR2	PRT	配列番号 231
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	HCDR3	PRT	配列番号 232
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	VL	PRT	配列番号 233
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	LCDR1	PRT	配列番号 234
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	LCDR2	PRT	配列番号 235
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	LCDR3	PRT	配列番号 236
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	VH	DNA	配列番号 237
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	VL	DNA	配列番号 238
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	HC	PRT	配列番号 239
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	LC	PRT	配列番号 240
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	HC	DNA	配列番号 241
TPP-15285	497A-M005-F02-mIgG2aLambda	LC	DNA	配列番号 242
TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	VH	PRT	配列番号 243
TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	HCDR1	PRT	配列番号 244
TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	HCDR2	PRT	配列番号 245
TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	HCDR3	PRT	配列番号 246
TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	VL	PRT	配列番号 247
TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	LCDR1	PRT	配列番号 248
TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	LCDR2	PRT	配列番号 249
TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	LCDR3	PRT	配列番号 250
TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	VH	DNA	配列番号 251
TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	VL	DNA	配列番号 252

TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	HC	PRT	配列番号 253
TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	LC	PRT	配列番号 254
TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	HC	DNA	配列番号 255
TPP-15286	497A-M005-E07-mIgG2aLambda	LC	DNA	配列番号 256
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 257
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 258
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 259
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 260
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 261
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 262
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 263
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 264
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 265
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 266
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 267
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 268
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 269
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 270
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 271
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 272
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 273
TPP-16966	15291-deglyco-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 274
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 275
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 276
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 277
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 278
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 279
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 280
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 281
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 282
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 283
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 284
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 285
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 286
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 287
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 288
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 289
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 290
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 291
TPP-17575	497A-M181-C17-1-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 292
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 293
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 294
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 295
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 296
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 297
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 298
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 299
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 300
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 301
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 302
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 303
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 304
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 305
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 306
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 307
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 308
TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 309

TPP-17576	497A-M136-O21-1-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 310
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 311
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 312
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 313
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 314
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 315
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 316
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 317
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 318
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 319
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 320
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 321
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 322
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 323
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 324
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 325
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 326
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 327
TPP-17577	497A-M178-K09-1-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 328
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 329
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 330
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 331
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 332
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 333
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 334
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 335
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 336
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 337
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 338
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 339
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 340
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 341
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 342
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 343
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 344
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 345
TPP-17578	497A-M128-B10-1-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 346
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 347
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 348
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 349
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 350
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 351
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 352
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 353
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 354
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 355
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 356
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 357
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 358
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 359
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 360
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 361
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 362
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 363
TPP-17579	497A-M180-K04-1-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 364
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 365
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 366

TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 367
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 368
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 369
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 370
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 371
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 372
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 373
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 374
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 375
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 376
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 377
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 378
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 379
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 380
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 381
TPP-17580	497A-M193-A08-1-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 382
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 383
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 384
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 385
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 386
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 387
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 388
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 389
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 390
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 391
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 392
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 393
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 394
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 395
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 396
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 397
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 398
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 399
TPP-17581	497A-M177-L03-1-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 400
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 401
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 402
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 403
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 404
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 405
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 406
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 407
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 408
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 409
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 410
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 411
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 412
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 413

TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 414
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 415
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 416
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 417
TPP-18205	004-F10_497A-M296-L12+497A-M326-O09-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 418
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 419
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 420
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 421
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 422
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 423
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 424
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 425
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 426
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 427
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 428
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 429
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 430
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 431
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 432
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 433
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 434
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 435
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 436
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 437
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 438
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 439
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 440
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 441
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 442
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 443
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 444
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-	VH	DNA	配列番号 445

	hIgG1Lambda			
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 446
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 447
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 448
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 449
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 450
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 451
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 452
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 453
TPP-18207	001-B08_497A-M301-B18+497A-M316-D16-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 454
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 455
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 456
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 457
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 458
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 459
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 460
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 461
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 462
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 463
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 464
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 465
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 466
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 467
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 468
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 469
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 470
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 471
TPP-19546	17578-gl33-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 472
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	VH	PRT	配列番号 473
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 474
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 475
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 476
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	VL	PRT	配列番号 477
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 478
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 479
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 480
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	VH	DNA	配列番号 481
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 482
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 483
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 484
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	VL	DNA	配列番号 485
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 486
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 487
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 488
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	HC	PRT	配列番号 489
TPP-20950	18206-gl-42-hIgG1wt-Lambda	LC	PRT	配列番号 490
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	VH	PRT	配列番号 491
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 492
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 493
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 494

TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	VL	PRT	配列番号 495
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 496
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 497
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 498
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	VH	DNA	配列番号 499
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 500
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 501
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 502
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	VL	DNA	配列番号 503
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 504
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 505
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 506
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	HC	PRT	配列番号 507
TPP-20955	18206-gl-47-hIgG1wt-Lambda	LC	PRT	配列番号 508
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	VH	PRT	配列番号 509
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 510
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 511
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 512
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	VL	PRT	配列番号 513
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 514
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 515
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 516
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	VH	DNA	配列番号 517
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 518
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 519
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 520
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	VL	DNA	配列番号 521
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 522
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 523
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 524
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	HC	PRT	配列番号 525
TPP-20965	18206-gl-58-hIgG1wt-Lambda	LC	PRT	配列番号 526
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	VH	PRT	配列番号 527
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 528
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 529
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 530
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	VL	PRT	配列番号 531
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 532
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 533
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 534
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	VH	DNA	配列番号 535
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 536
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 537
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 538
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	VL	DNA	配列番号 539
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 540
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 541
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 542
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	HC	PRT	配列番号 543
TPP-21045	17578-gl79-hIgG1-wt-Lambda	LC	PRT	配列番号 544
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	VH	PRT	配列番号 545
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 546
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 547
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 548
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	VL	PRT	配列番号 549
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 550
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 551

TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 552
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	VH	DNA	配列番号 553
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 554
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 555
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 556
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	VL	DNA	配列番号 557
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 558
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 559
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 560
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	HC	PRT	配列番号 561
TPP-21047	17578-gl81-hIgG1-wt-Lambda	LC	PRT	配列番号 562
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	VH	PRT	配列番号 563
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 564
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 565
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 566
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	VL	PRT	配列番号 567
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 568
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 569
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 570
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	VH	DNA	配列番号 571
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 572
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 573
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 574
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	VL	DNA	配列番号 575
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 576
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 577
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 578
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	HC	PRT	配列番号 579
TPP-21181	18205-gl46 -hIgG1-wt-Lambda	LC	PRT	配列番号 580
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	VH	PRT	配列番号 581
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 582
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 583
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 584
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	VL	PRT	配列番号 585
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 586
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 587
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 588
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	VH	DNA	配列番号 589
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 590
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 591
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 592
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	VL	DNA	配列番号 593
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 594
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 595
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 596
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	HC	PRT	配列番号 597
TPP-21183	18205-gl48 -hIgG1-wt-Lambda	LC	PRT	配列番号 598
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 599
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 600
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 601
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 602
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 603
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 604
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 605
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 606
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 607
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 608

TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 609
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 610
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 611
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 612
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 613
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 614
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 615
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 616
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	VH	PRT	配列番号 617
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	HCDR1	PRT	配列番号 618
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	HCDR2	PRT	配列番号 619
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	HCDR3	PRT	配列番号 620
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	VL	PRT	配列番号 621
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	LCDR1	PRT	配列番号 622
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	LCDR2	PRT	配列番号 623
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	LCDR3	PRT	配列番号 624
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	VH	DNA	配列番号 625
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	HCDR1	DNA	配列番号 626
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	HCDR2	DNA	配列番号 627
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	HCDR3	DNA	配列番号 628
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	VL	DNA	配列番号 629
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	LCDR1	DNA	配列番号 630
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	LCDR2	DNA	配列番号 631
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	LCDR3	DNA	配列番号 632
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	HC	PRT	配列番号 633
TPP-23411	21360-hIgG1wtlambda	LC	PRT	配列番号 634
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	VH	PRT	配列番号 660
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	HCDR1	PRT	配列番号 661
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	HCDR2	PRT	配列番号 662
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	HCDR3	PRT	配列番号 663
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	VL	PRT	配列番号 664
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	LCDR1	PRT	配列番号 665
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	LCDR2	PRT	配列番号 666
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	LCDR3	PRT	配列番号 667
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	VH	DNA	配列番号 668
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	HCDR1	DNA	配列番号 669
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	HCDR2	DNA	配列番号 670
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	HCDR3	DNA	配列番号 671
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	VL	DNA	配列番号 672
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	LCDR1	DNA	配列番号 673
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	LCDR2	DNA	配列番号 674
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	LCDR3	DNA	配列番号 675
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	HC	PRT	配列番号 676
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	LC	PRT	配列番号 677
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	HC	DNA	配列番号 678
TPP-29596	18206-gl13-gl14-hIgG1wtLambda	LC	DNA	配列番号 679
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	VH	PRT	配列番号 680
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	HCDR1	PRT	配列番号 681
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	HCDR2	PRT	配列番号 682
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	HCDR3	PRT	配列番号 683
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	VL	PRT	配列番号 684
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	LCDR1	PRT	配列番号 685
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	LCDR2	PRT	配列番号 686
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	LCDR3	PRT	配列番号 687
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	VH	DNA	配列番号 688
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	HCDR1	DNA	配列番号 689
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	HCDR2	DNA	配列番号 690

TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	HCDR3	DNA	配列番号 691
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	VL	DNA	配列番号 692
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	LCDR1	DNA	配列番号 693
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	LCDR2	DNA	配列番号 694
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	LCDR3	DNA	配列番号 695
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	HC	PRT	配列番号 696
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	LC	PRT	配列番号 697
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	HC	DNA	配列番号 698
TPP-29597	18206-gl11-gl25-hIgG1wtLambda	LC	DNA	配列番号 699
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 700
TPP-18206	002-F01_497A-M281-P02+497A-M317-O07-hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 701
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 702
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 703
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 704
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 705
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 706
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 707
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 708
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 709
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 710
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 711
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 712
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 713
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 714
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 715
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 716
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 717
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 718
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 719
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 720
TPP-18429	18206-gl10-hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 721
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 722
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 723
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 724
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 725
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 726
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 727
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 728
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 729
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 730
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 731
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 732
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 733
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 734
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 735
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 736
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 737
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 738
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 739
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 740
TPP-18430	18206-gl11-hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 741
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 742
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 743
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 744
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 745

TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 746
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 747
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 748
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 749
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 750
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 751
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 752
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 753
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 754
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 755
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 756
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 757
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 758
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 759
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 760
TPP-18432	18206-gl13-hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 761
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 762
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 763
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 764
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 765
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 766
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 767
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 768
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 769
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 770
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 771
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 772
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 773
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 774
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 775
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 776
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 777
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 778
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 779
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 780
TPP-18433	18206-gl14-hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 781
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 782
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 783
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 784
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 785
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 786
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 787
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 788
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 789
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 790
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 791
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 792
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 793
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 794
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 795
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 796
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 797
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 798
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 799
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 800
TPP-18436	18206-gl17-hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 801
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 802

TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 803
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 804
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 805
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 806
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 807
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 808
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 809
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 810
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 811
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 812
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 813
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 814
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 815
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 816
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 817
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 818
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 819
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 820
TPP-19571	18206-gl25-hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 821
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 822
TPP-21360	18206-gl25-gl13-hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 823
TPP-23411	21360-hIgG1lambda	HC	DNA	配列番号 824
TPP-23411	21360-hIgG1lambda	LC	DNA	配列番号 825
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 826
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 827
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 828
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 829
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 830
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 831
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 832
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 833
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 834
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 835
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 836
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 837
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 838
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 839
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 840
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 841
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 842
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 843
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 844
TPP-27477	18206-gl10-gl25-hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 845
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 846
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 847
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 848
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 849
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 850
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 851
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 852
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 853
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 854
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 855
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 856
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 857
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 858
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 859

TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 860
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 861
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 862
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 863
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 864
TPP-27478	18206-gl11-gl25-hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 865
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 866
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 867
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 868
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 869
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 870
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 871
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 872
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 873
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 874
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 875
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 876
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 877
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 878
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 879
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 880
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 881
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 882
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 883
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 884
TPP-27479	18206-gl13-gl14-hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 885
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	VH	PRT	配列番号 886
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	HCDR1	PRT	配列番号 887
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	HCDR2	PRT	配列番号 888
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	HCDR3	PRT	配列番号 889
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	VL	PRT	配列番号 890
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	LCDR1	PRT	配列番号 891
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	LCDR2	PRT	配列番号 892
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	LCDR3	PRT	配列番号 893
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	VH	DNA	配列番号 894
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	HCDR1	DNA	配列番号 895
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	HCDR2	DNA	配列番号 896
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	HCDR3	DNA	配列番号 897
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	VL	DNA	配列番号 898
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	LCDR1	DNA	配列番号 899
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	LCDR2	DNA	配列番号 900
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	LCDR3	DNA	配列番号 901
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	HC	PRT	配列番号 902
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	LC	PRT	配列番号 903
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	HC	DNA	配列番号 904
TPP-27480	18206-gl13-gl20-hIgG1Lambda	LC	DNA	配列番号 905
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	VH	PRT	配列番号 906
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	HCDR1	PRT	配列番号 907
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	HCDR2	PRT	配列番号 908
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	HCDR3	PRT	配列番号 909
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	VL	PRT	配列番号 910
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	LCDR1	PRT	配列番号 911
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	LCDR2	PRT	配列番号 912
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	LCDR3	PRT	配列番号 913
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	VH	DNA	配列番号 914
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	HCDR1	DNA	配列番号 915
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	HCDR2	DNA	配列番号 916

TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	HCDR3	DNA	配列番号 917
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	VL	DNA	配列番号 918
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	LCDR1	DNA	配列番号 919
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	LCDR2	DNA	配列番号 920
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	LCDR3	DNA	配列番号 921
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	HC	PRT	配列番号 922
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	LC	PRT	配列番号 923
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	HC	DNA	配列番号 924
TPP-29367	18206-hIgG1wtLambda	LC	DNA	配列番号 925
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	VH	PRT	配列番号 926
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	HCDR1	PRT	配列番号 927
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	HCDR2	PRT	配列番号 928
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	HCDR3	PRT	配列番号 929
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	VL	PRT	配列番号 930
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	LCDR1	PRT	配列番号 931
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	LCDR2	PRT	配列番号 932
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	LCDR3	PRT	配列番号 933
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	VH	DNA	配列番号 934
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	HCDR1	DNA	配列番号 935
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	HCDR2	DNA	配列番号 936
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	HCDR3	DNA	配列番号 937
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	VL	DNA	配列番号 938
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	LCDR1	DNA	配列番号 939
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	LCDR2	DNA	配列番号 940
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	LCDR3	DNA	配列番号 941
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	HC	PRT	配列番号 942
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	LC	PRT	配列番号 943
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	HC	DNA	配列番号 944
TPP-29368	18432-hIgG1wtLambda	LC	DNA	配列番号 945
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	VH	PRT	配列番号 946
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	HCDR1	PRT	配列番号 947
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	HCDR2	PRT	配列番号 948
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	HCDR3	PRT	配列番号 949
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	VL	PRT	配列番号 950
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	LCDR1	PRT	配列番号 951
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	LCDR2	PRT	配列番号 952
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	LCDR3	PRT	配列番号 953
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	VH	DNA	配列番号 954
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	HCDR1	DNA	配列番号 955
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	HCDR2	DNA	配列番号 956
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	HCDR3	DNA	配列番号 957
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	VL	DNA	配列番号 958
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	LCDR1	DNA	配列番号 959
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	LCDR2	DNA	配列番号 960
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	LCDR3	DNA	配列番号 961
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	HC	PRT	配列番号 962
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	LC	PRT	配列番号 963
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	HC	DNA	配列番号 964
TPP-29369	19571-hIgG1wtlambda	LC	DNA	配列番号 965

【００６９】

定義

他に定義されない限り、本明細書、図及び特許請求の範囲で使用される全ての科学用語及び技術用語は、当業者によって一般的に理解されるそれらの通常の意味を有する。本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許、及び他の参考文献は、その全体が参照により組み込まれる。矛盾する場合には、定義を含む本明細書が優先する。参照により組み込まれる２つ以上の文書が、互いに矛盾する及び／又は矛盾する開示を含む場合、より遅い有効日を有する文書が優先されるものとする。データベースを参照する場合、別段の指示がない限り、有効データは２６．０５．２０２１に適用可能なバージョン番号とする

。材料、方法、及び実施例は例示にすぎず、限定することを意図するものではない。特に明記しない限り、本明細書で使用される以下の用語（説明及び特許請求の範囲を含む）は、以下に示す定義を有する。

【００７０】

本明細書で使用される「約」又は「～」という表現は、当業者によって決定される特定の値に対して許容可能な誤差範囲内にある値を指し、これは、値がどのように測定又は決定されるか、すなわち測定システムの制限に部分的に依存する。例えば、「約」は、当技術分野の慣例に従って、１標準偏差以内又は１標準偏差を超えることを意味することができる。「約」という用語はまた、問題の量又は値が指定された値又はほぼ同じである他の何らかの値であり得ることを示すために使用される。この語句は、同様の値が本明細書に記載の同等の結果又は効果を促進することを伝えることを意図している。この文脈において、「約」は、最大１０％の上及び／又は下の範囲を指し得る。「約」という用語が特定のアッセイ又は実施形態について指定されている場合はいつでも、その定義が特定の状況に優先する。

【００７１】

「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」、「含有する（ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ）」、「有する（ｈａｖｉｎｇ）」等の用語は、拡張的又はオープンエンドで限定されずに読まれるものとする。本明細書で使用される場合、含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）という用語は、「からなる」を含む。

【００７２】

「１つの（ａ）」、「１つの（ａｎ）」又は「その（ｔｈｅ）」等の単数形は、文脈が明らかにそうでないことを示さない限り、複数の言及を含む。したがって、例えば、「モノクローナル抗体」への言及は、単一のモノクローナル抗体並びに同じ又は異なる複数のモノクローナル抗体を含む。同様に、「細胞」への言及は、単一の細胞及び複数の細胞を含む。

【００７３】

特に明記しない限り、一連の要素に先行する「少なくとも」という用語は、一連の要素の全ての要素を指すと理解されるべきである。「少なくとも１つ」及び「少なくとも１つの」という用語は、例えば、１つ、２つ、３つ、４つ、５つ又はそれ以上の要素を含む。

【００７４】

さらに、記載された範囲の上下のわずかな変動を使用して、その範囲内の値と実質的に同じ結果を達成することができることが理解される。また、特に明記しない限り、範囲の開示は、最小値と最大値との間の全ての値を含む連続範囲として意図される。

【００７５】

本明細書で使用される「アミノ酸」又は「アミノ酸残基」という用語は、典型的には、天然に存在するアミノ酸を指す。一文字コードは、本明細書ではそれぞれのアミノ酸を指すために使用される。本明細書で使用される場合、「荷電アミノ酸」は、負に荷電した又は正に荷電したアミノ酸である。「負に荷電したアミノ酸」は、アスパラギン酸（Ｄ）及びグルタミン酸（Ｅ）である。「正に荷電したアミノ酸」は、アルギニン（Ｒ）リジン（Ｋ）及びヒスチジン（Ｈ）である。「極性アミノ酸」は、供与体又は受容体として水素結合を形成する全てのアミノ酸である。これらは全て荷電アミノ酸であり、アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、チロシン（Ｙ）及びシステイン（Ｃ）である。「極性非荷電アミノ酸」は、アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、チロシン（Ｙ）及びシステイン（Ｃ）である。「両親媒性アミノ酸」は、トリプトファン（Ｗ）、チロシン（Ｙ）及びメチオニン（Ｍ）である。「芳香族アミノ酸」は、フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）及びトリプトファン（Ｗ）である。「疎水性アミノ酸」は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、バリン（Ｖ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、プロリン（Ｐ）、フェニルアラニン（Ｆ）、メチオニン（Ｍ）及びシステインである。「小アミノ酸」は、グリシン（Ｇ）、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、プロリン（Ｐ）、トレオニン（Ｔ）、アスパラギン酸（Ｄ）及び

アスパラギン（Ｎ）である。

【００７６】

本明細書で使用される場合、「ペプチド」、「ポリペプチド」、及び「タンパク質」という用語は互換的に使用され、ペプチド結合によって共有結合したアミノ酸残基から構成される化合物を指す。タンパク質又はペプチドは少なくとも２つのアミノ酸を含有しなければならず、アミノ酸の最大数に制限はない。ポリペプチドは、ペプチド結合によって互いに結合した２つ以上のアミノ酸を含む任意のペプチド又はタンパク質を含む。本明細書で使用される場合、この用語は、例えば、当技術分野で一般にペプチド、オリゴペプチド及びオリゴマーとも呼ばれる短鎖と、当技術分野で一般にタンパク質と呼ばれる長鎖の両方を指し、その多くの種類がある。「ポリペプチド」には、例えば、とりわけ、生物学的に活性な断片、実質的に相同なポリペプチド、オリゴペプチド、ホモ二量体、ヘテロ二量体、ポリペプチドの変異体、修飾ポリペプチド、誘導体、類縁体、融合タンパク質が含まれる。ポリペプチドには、天然ペプチド、組換えペプチド、合成ペプチド、又はそれらの組み合わせが含まれる。

【００７７】

マウス等の特定の種に由来する遺伝子又はタンパク質を一般的に参照する場合、他に記載されていないか又は明らかに不適合でない場合、ヒト由来の類縁体も同様に意味するものとする。これは、特にバイオマーカーの文脈において当てはまる。

【００７８】

「単離」という用語は、核酸、ポリペプチド、タンパク質又は抗体に適用される場合、核酸、ポリペプチド、タンパク質又は抗体が、自然状態で会合している他の細胞成分を本質的に含まないことを示す。これは、好ましくは均質な状態にある。これは、乾燥溶液又は水溶液のいずれかであり得る。純度及び均一性は、典型的には、ポリアクリルアミドゲル電気泳動又は高速液体クロマトグラフィー等の分析化学技術を使用して決定される。調製物中に存在する優勢な種であるタンパク質、ポリペプチド又は抗体を実質的に精製する。特に、単離された遺伝子は、遺伝子に隣接し、目的の遺伝子以外のタンパク質をコードするオープンリーディングフレームから分離される。しかしながら、単離されたポリペプチドは、例えば適切なリンカーを介して、例えばビーズ又は粒子上に固定化され得る。

【００７９】

「精製」という用語は、核酸又はタンパク質が電気泳動ゲル中に本質的に１つのバンドを生じさせることを意味する。特に、これは、核酸又はタンパク質が少なくとも８５％純粋であり、より好ましくは少なくとも９５％純粋であり、最も好ましくは少なくとも９９％純粋であることを意味する。

【００８０】

本明細書で使用される場合、例えば合成核酸分子又は合成遺伝子又は合成ペプチドに関して、「合成」という用語は、組換え方法及び／又は化学合成方法によって産生される核酸分子又はポリペプチド分子を指す。本明細書で使用される場合、組換えＤＮＡ法を使用することによる組換え手段による産生は、クローン化ＤＮＡによってコードされるタンパク質を発現させるための分子生物学の周知の方法の使用を意味する。

【００８１】

「翻訳後修飾」（ＰＴＭ）は、天然条件下でのタンパク質生合成後に導入されるペプチド又はタンパク質の共有結合修飾を指す。この用語には、グリコシル化、リン酸化、アシル化、アデニル化、ファルネシル化、ユビキチン化及び硫酸化が含まれるが、これらに限定されない。翻訳後修飾は、ペプチド又はタンパク質の活性に影響を及ぼし得る。２００４年に、Ｇｕｔｉｅｒｒｅｚ ｅｔ ａｌ．は、マウスＣＣＲ８ケモカイン受容体の硫酸化及びグリコシル化状態、並びにこれらの翻訳後修飾がＣＣＲ８活性に影響を及ぼす方法を記載した。それらは、マウスＣＣＲ８の位置１４及び１５のチロシンは硫酸化アミノ酸残基であるが、アスパラギン８並びにトレオニン１０及び１２はグリコシル化されていることを示唆している。さらに、それらは、硫酸化がＣＣＲ８の活性に重要であることを示している（Ｇｕｔｉｅｒｒｅｚ，Ｊｕｌｉｏ，ｅｔ ａｌ．“Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ

post−translational CCR8 modifications and their influence on receptor activity.”Journal of Biological Chemistry 279.15（2004）：14726−14733.）。

【0082】

「硫酸化」は、ポリペプチド又はタンパク質のチロシン残基等のアミノ酸に硫酸基が付加される翻訳後修飾である。チロシン硫酸かは、全ての多細胞生物において起こる。生理学的条件下では、これは、補因子ＰＡＰＳ（３’−ホスホアデノシン５’−ホスホスルフェート）からタンパク質基質中のコンテキスト依存性チロシンに硫酸を転移するゴルジ常在酵素であるチロシルタンパク質スルホトランスフェラーゼ（ＴＰＳＴ）１及び２によって触媒される。チロシンの合成硫酸化は、例えばBunschoten，Anton，et al.“A general sequence independent solid phase method for the site specific synthesis of multiple sulfated−tyrosine containing peptides.”Chemical Communications 21（2009）：2999−3001に記載されているように、当技術分野で公知の技術を用いて行うことができる。硫酸化ポリペプチドは、少なくとも１つの硫酸化を含むポリペプチドである。非硫酸化ポリペプチドは、硫酸化を含まないポリペプチドである。

【0083】

「チロシンリッチドメイン」（ＴＲＤ）は、ＣＸＣ及びＣＣケモカイン受容体等の７回膜貫通タンパク質を特徴付ける保存されたドメインである。ＴＲＤは、典型的にはケモカイン受容体のＮ末端に位置し、典型的にはシステインを介してＬＩＤドメインに連結される（図２ｂを参照）。したがって、本明細書で使用される場合、ＴＲＤという用語は、Ｎ末端から数えて第１のシステインのＮ末端に位置するＣＸＣ又はＣＣケモカイン受容体のアミノ酸又はタンパク質配列を指す。ＴＲＤはシグナルペプチドを含んでも含まなくてもよい。ＴＲＤは変更されてもされなくてもよい。チロシンに加えて、ＴＲＤは、アスパラギン酸等の負に荷電したアミノ酸残基を含むことが多い。ＴＲＤは、ケモカイン受容体とその内因性リガンドとの相互作用のための重要な構造であることが提案されている。生理学的条件下では、ＴＲＤ中のチロシン残基は、硫酸化、非硫酸化又は部分硫酸化され得る。それぞれのケモカイン受容体のＴＲＤの特異的配列を表４．１に提供する。しかしながら、全体的な電荷及び相互作用パターンを変化させることなく、ＴＲＤ配列に変異を導入することができることは明らかである。好ましくは、ＴＲＤは、表４．１による少なくとも１つのＴＲＤ配列と少なくとも９０％、９５％又は９９％の配列同一性又は配列類似性を有する。

【0084】

本明細書で使用されるケモカイン受容体の「Ｎ末端（Ｎ terminus）」又は「Ｎ末端（Ｎ term）」という用語は、少なくともＴＲＤを含むケモカイン受容体のＮ末端アミノ酸を指す。ポリペプチド又はタンパク質がシグナルペプチドを含む場合、Ｎ末端はまた、ポリペプチド又はタンパク質の天然切断部位の後ろのＮ末端配列を指し得る。

【0085】

いくつかの好ましい実施形態によれば、Ｎ末端は、ケモカイン受容体のＬＩＤドメイン及びＴＲＤドメインを含むが、これらの２つのドメインの間に天然システインを含まない。

【0086】

代わりに、システインを除去するか、又は異なるアミノ酸で置換することができる。

【0087】

本明細書で使用されるケモカイン受容体の「ＬＩＤ」ドメインは、ケモカイン受容体のＴＲＤのＣ末端に位置するアミノ酸配列を指す。ＴＲＤ及びＬＩＤドメインは、典型的には、単一のシステインによって分離されている。

【0088】

「配列同一性」又は「パーセント同一性」は、クエリ配列が標的配列にどの程度類似し

ているか、より正確には、アラインメント後に各配列中の何文字が同一であるかを記述する番号である。配列同一性を計算するための最も一般的なツールは、ＢＬＡＳＴ（ｂａｓｉｃ ｌｏｃａｌ ａｌｉｇｎｍｅｎｔ ｓｅａｒｃｈ ｔｏｏｌ、ｈｔｔｐｓ：／／ｂｌａｓｔ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／）であり、これは、配列の対間の比較を行い、局所類似性の領域を検索する。適切なアライメント方法は、当技術分野で公知であり、例えば、ＢＬＯＳＵＭ６２マトリックスを使用して、１１のギャップオープニングペナルティ及び１のギャップ拡張ペナルティで、グローバル－グローバルアライメントのためのＮｅｅｄｌｅｍａｎ－Ｗｕｎｓｃｈアルゴリズムである。その後、アラインメントされた同一の残基の対をカウントし、次いでアラインメントの全長（ギャップ、内部及び外部を含む）で除算して、同一性パーセント値に到達することができる。

【００８９】

「パーセント類似性」又は「配列類似性」値の場合、同一の残基の対の代わりに、カウントされるものが、負ではない（すなわち、≧０）ＢＬＯＳＵＭ６２値を有するアラインメントされた残基対であることを除いて、パーセント同一性値の場合と同じアプローチを使用することができる。

【００９０】

「７回膜貫通受容体」（７－ＴＭ受容体）は、７つの膜貫通ヘリックスを含む内在性膜タンパク質である。本明細書で使用される場合、７－ＴＭ受容体はＧタンパク質共役受容体である。

【００９１】

「ケモカイン受容体」は、７回膜貫通受容体である。ケモカイン受容体ファミリーは、ヒトにおいて２４個のメンバーを含有し、それらが結合するケモカインのクラスに基づいて、４つのサブファミリー：ＣＸ３ＣＲ、ＣＸＣＲ、ＣＣＲ、及びＸＣＲに細分することができ、それらは全てＧタンパク質を活性化し、６つの非定型受容体を含有するＡＣＫＲは、リガンド結合時にＧタンパク質を活性化することができない。

【００９２】

「ＣＸＣケモカイン受容体」（ＣＸＣＲ）は、ＣＸＣケモカインファミリーのサイトカインに特異的に結合して応答する内在性膜タンパク質である。それらは、ケモカイン受容体の１つのサブファミリーに相当し、７回細胞膜をまたぐため、７回膜貫通（７－ＴＭ）タンパク質として知られるＧタンパク質連結受容体の大きなファミリーである。現在、哺乳動物には、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５及びＣＸＣＲ６と呼ばれる７つの既知のＣＸＣケモカイン受容体が存在する。ＣＸＣＲ６は、他のＣＸＣケモカイン受容体よりもＣＣケモカイン受容体に構造的に密接に関連している。

【００９３】

「ＣＣケモカインレセプター」（ＣＣＲ、ベータケモカイン受容体）は、ＣＣケモカインファミリーのサイトカインに特異的に結合して応答する内在性膜タンパク質である。それらは、ケモカイン受容体の１つのサブファミリーに相当し、７回細胞膜をまたぐため、７回膜貫通（７－ＴＭ）タンパク質として知られるＧタンパク質連結受容体の大きなファミリーである。ＣＣケモカイン受容体のサブファミリーは、ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９及びＣＣＲ１０を含む。

【００９４】

「ＣＣＲ８」という用語は、Ｃ－Ｃケモカイン受容体８型を指す。ＣＣＲ８タンパク質は、遺伝子ＣＣＲ８（ＮＣＢＩ遺伝子ＩＤ１２３７）によってコードされる。ＣＣＲ８の同義語は、とりわけ、ＣＣ－ＣＫＲ－８、ＣＣＲ－８、ＣＤｗ１９８、ＣＫＲＬ１、ＣＭＫＢＲ８、ＣＭＫＢＲＬ２、ＧＰＲＣＹ６、ＣＹ６、ＴＥＲ１である。ＣＣＲ８タンパク質は、ヒト、マウス、ラット、アカゲザル並びに更なる哺乳動物及び非哺乳動物ホモログを含む。ヒトＣＣＲ８の（１又は複数の）配列は、ＵｎｉＰｒｏｔ識別子Ｐ５１６８５（ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ）、例えばヒトアイソフォームＰ５１６８５－１又はＰ５１６８５－２（ＵｎｉＰｒｏｔ、２０１９年１１月２９日）を介してアクセス可能である。マウス

ＣＣＲ８の（１又は複数の）配列は、ＵｎｉＰｒｏｔ識別子Ｐ５６４８４（ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ）を介してアクセス可能である。アカゲザルＣＣＲ８の（１又は複数の）配列は、ＵｎｉＰｒｏｔ識別子Ｏ９７６６５（ＣＣＲ８＿ＭＡＣＭＵ）を介してアクセス可能である。異なるアイソフォーム及び変異体は、異なる種に対して存在してもよく、全てＣＣＲ８という用語に含まれる。成熟前及び成熟後のＣＣＲ８分子、すなわち、１つ以上プロドメインの切断とは無関係のＣＣＲ８分子も含まれる。さらに、ＣＣＲ８タンパク質の合成変異体を生成することができ、ＣＣＲ８という用語に含まれる。タンパク質ＣＣＲ８は更に、様々な修飾、例えば合成又は天然に存在する修飾、例えば翻訳後修飾を受け得る。

【００９５】

組換えヒトＣＣＲ８は市販されているか、又は当技術分野で公知のように製造することができる。ＣＣＲ８は、ケモカインＣＣＬ１／ＳＣＹＡ１／Ｉ－３０９の受容体である。Ｂａｒｉｎｇｔｏｎ ｅｔ ａｌ．は、ケモカイン受容体ＣＣＲ８におけるリガンド結合及び活性化のための細胞外ループ２（ＥＣＬ－２）における保存された細胞外ジスルフィド架橋及び芳香族残基の重要性を報告している（Ｂａｒｉｎｇｔｏｎ，Ｌｉｎｅ，ｅｔ ａｌ．“Ｒｏｌｅ ｏｆ ｃｏｎｓｅｒｖｅｄ ｄｉｓｕｌｆｉｄｅ ｂｒｉｄｇｅｓ ａｎｄ ａｒｏｍａｔｉｃ ｒｅｓｉｄｕｅｓ ｉｎ ｅｘｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒ ｌｏｏｐ ２ ｏｆ ｃｈｅｍｏｋｉｎｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ＣＣＲ８ ｆｏｒ ｃｈｅｍｏｋｉｎｅ ａｎｄ ｓｍａｌｌ ｍｏｌｅｃｕｌｅ ｂｉｎｄｉｎｇ．”Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２９１．３１（２０１６）：１６２０８－１６２２０．）。さらに、Ｂａｒｉｎｇｔｏｎ ｅｔ ａｌ．は、ＥＣＬ－２中の２つの異なる芳香族残基、Ｔｙｒ１８４（Ｃｙｓ＋１）及びＴｙｒ１８７（Ｃｙｓ＋４）が、それぞれＣＣケモカインＣＣＬ１（アゴニスト）及びＭＣ１４８（アンタゴニスト）の結合に重要であるが、小分子結合には重要でないことを見出した。

【００９６】

「プログラム死－１（ＰＤ－１）」は、ＣＤ２８ファミリーに属する免疫抑制受容体を指す。ＰＤ－１は、ｉｎ ｖｉｖｏで以前に活性化されたＴ細胞上に主に発現され、２つのリガンド、ＰＤ－Ｌ１及びＰＤ－Ｌ２に結合する。本明細書で使用される「ＰＤ－１」という用語は、限定されないが、ヒトＰＤ－１（ｈＰＤ－１）、ｈＰＤ－１の変異体、アイソフォーム及び種ホモログ、並びにｈＰＤ－１と少なくとも１つの共通エピトープを有する類縁体を含む。完全なｈＰＤ－１配列は、ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号Ｕ６４８６３（２０１９年１１月２９日）のもと見出すことができる。

【００９７】

「プログラム死リガンド－１（ＰＤ－Ｌ１）」は、ＰＤ－１に結合するとＴ細胞活性化及びサイトカイン分泌を下方制御するＰＤ－１に対する２つの細胞表面糖タンパク質リガンドの１つである（もう１つはＰＤ－Ｌ２である）。本明細書で使用される「ＰＤ－Ｌ１」という用語は、限定されないが、ヒトＰＤ－Ｌ１（ｈＰＤＬ１）、ｈＰＤ－Ｌ１の変異体、アイソフォーム及び種ホモログ、並びにｈＰＤ－Ｌ１と少なくとも１つの共通エピトープを有する類縁体を含む。完全なｈＰＤ－Ｌ１配列は、ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号Ｑ９ＮＺＱ７（２０１９年１１月２９日）のもと見出すことができる。

【００９８】

「Ｔｕｍｏｒ Ｐｒｏｐｏｒｔｉｏｎ Ｓｃｏｒｅ」（ＴＰＳ）は、任意の強度で部分的又は完全な膜染色を示す生存腫瘍細胞のパーセンテージである。例えば、検体は、ＴＰＳ≧１％の場合はＰＤ－Ｌ１発現を有し、ＴＰＳ≧５０％の場合は高いＰＤＬ１発現を有すると見なされるべきである。例えば、ＮＳＣＬＣにおけるＰＤ－Ｌ１タンパク質発現は、通常、Ｔｕｍｏｒ Ｐｒｏｐｏｒｔｉｏｎ Ｓｃｏｒｅ（ＴＰＳ）を用いて測定される。

【００９９】

「複合陽性スコア」（ＣＰＳ）は、染色細胞の数（腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ）を生存腫瘍細胞の総数で割って１００を掛けたものである。例えば、検体は、ＣＰＳ≧１の場合にＰＤ－Ｌ１発現を有し、ＣＰＳ≧１０の場合にＰＤ－Ｌ１発現が高いと見なされるべきである。ＦＤＡは、治療用抗体ペンブロリズマブに対する患者の適格性を決定

するためのＰＤ－Ｌ１　ＩＨＣ　２２Ｃ３　ｐｈａｒｍＤｘアッセイの使用を承認した。

【０１００】

「ＦＯＸＰ３」は、フォークヘッドボックスタンパク質Ｐ３、Ｓｃｕｒｆｉｎ、ＪＭ２、又はＩＰＥＸとしても知られる５０～５５ｋＤの転写因子である。ＦＯＸＰ３は、ほとんどの細胞表面マーカーよりもＴ制御性細胞のマスター制御遺伝子及びより特異的なマーカーであることが提案されている。ＣＤ４＋／ＣＤ２５－細胞におけるＦＯＸＰ３の形質導入発現は、ＧＩＴＲ、ＣＤ１０３及びＣＴＬＡ４を誘導し、制御性Ｔ細胞表現型を付与することが示されている。生物遺伝子抗体クローン２０６Ｄ及び２５９Ｄは、アミノ酸１０５～２３５の領域のヒトＦＯＸＰ３エピトープを認識する。Ｐｏｌｙ６２３８は、ヒト及びマウスの両方のＦＯＸＰ３を認識し、ＦＯＸＰ３のＮ末端部分に対して惹起された。

【０１０１】

「調節」という用語は、既存のプロセス又は挙動の任意の変化、例えば遮断（拮抗作用）及び誘導（作動作用）を指す。例えば、Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達の調節は、Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達の任意の有意な変化を指す。

【０１０２】

抗体、断片又はコンジュゲートの「内在化」という用語は、細胞への抗体、断片又はコンジュゲートの取り込みを指す。好ましくは、内在化は、例えばヒト又はマウスＣＣＲ８について本明細書の他の箇所に記載されているように、内因性標的発現を有する細胞株について決定される。好ましくは、内在化は、例えば実施例１０．５に記載されるように、細胞あたりの全内在化蛍光強度を測定することによって決定され、アイソタイプ対照と比較して定量される。簡単に記載すると、抗体、断片又はコンジュゲート及び一致するアイソタイプ対照を色素で標識し、内在化蛍光を決定し、抗体、断片又はコンジュゲートについて、アイソタイプ対照と比較して定量する。「非内在化抗体」は、対応するアイソタイプ対照と実質的に同じ内在化を示す抗体として定義される。「低内在化抗体」は、アイソタイプ対照の内在化の１０倍以下、好ましくはアイソタイプ対照の内在化の９倍、８倍、７倍、６倍、５倍、４倍、３倍、２倍、１．５倍、１．４倍、１．３倍、１．２倍又は１．１倍未満である内在化を示す抗体として定義される。「中程度の内在化抗体」は、アイソタイプ対照の内在化の２１倍以下であり、アイソタイプ対照の内在化の１０倍より高い内在化を示す抗体として定義される。「高内在化抗体」は、アイソタイプ対照の内在化の２１倍より高い内在化を示す抗体として定義される。

【０１０３】

代替において、内在化は、ｔ（１／２）に基づいて、すなわち、抗体、断片又はコンジュゲートの量の半分が内在化されるまでの時間として更に定量化され得る。好ましくは、本発明による抗体は、抗体、断片又はコンジュゲートの量の半分が内在化されるまでの時間が２時間超、好ましくは４時間超、５時間超、６時間超、７時間超、８時間超、９時間超、１０時間超、１１時間超、１２時間超、１３時間超、１４時間超、１５時間超、１６時間超、１７時間超、１８時間超、１９時間超、２０時間超、２１時間超、２２時間超、２３時間超、２４時間超、２６時間超、２８時間超、３０時間超又は４８時間超であることを特徴とする。最も好ましくは、本発明による抗体は全く内在化されない、すなわち、抗体、断片又はコンジュゲートの量の半分が内在化されるまで時間を規定することができない。

【０１０４】

「アイソタイプ対照」は、標的に結合しないが、標的を認識する参照抗体又は断片と同じクラス及びタイプを有する抗体又は断片である。

【０１０５】

抗体又は断片が２つ以上の異なる種からの抗原に、例えば１０－７Ｍ以下、より好ましくは１０－８Ｍ未満、更により好ましくは１０－９Ｍ～１０－１１Ｍの範囲のＫＤ値で結合する場合、抗体又は断片は「交差反応性（ｃｒｏｓｓ－ｒｅａｃｔｉｖｅ）」又は「交差反応性（ｃｒｏｓｓ　ｒｅａｃｔｉｖｅ）」と呼ばれる。

【０１０６】

抗体に関して本明細書で使用される場合、「特異的に結合する」という用語は、特異的抗原を認識するが、試料中の他の分子を実質的に認識又は結合しない抗体を意味し、実質的な非特異的結合を特徴とする抗体は治療適用性を欠き、その結果、これらの実施形態は排除される。しかしながら、当技術分野で知られているように、抗体又は結合剤の特異的結合は、更なる抗原／標的分子への抗体又は結合剤の結合を必ずしも排除しない。１つの種からの抗原に特異的に結合する抗体は、１つ以上の更なる種からのその抗原にも結合し得る。そのような交差種反応性は、それ自体抗体の特異的な分類を変更しない。

【０１０７】

いくつかの例では、「特異的結合」又は「特異的に結合する」という用語は、抗体、タンパク質、又はペプチドと第２の化学種との相互作用に関して使用することができ、相互作用が化学種上の特定の構造（例えば、抗原決定基又はエピトープ）の存在に依存することを意味し、例えば、抗体は、一般にタンパク質ではなく特定のタンパク質構造を認識して結合する。抗体がエピトープ「Ａ」に特異的である場合、標識された「Ａ」及び抗体を含有する反応において、エピトープＡを含有する分子（又は遊離の非標識Ａ）の存在は、抗体に結合した標識されたＡの量を減少させる。

【０１０８】

疑いがある場合、抗体又は結合剤の特異的結合は、好ましくは、少なくとも１０－７Ｍ（ＫＤ値として；すなわち、好ましくは１０－７Ｍ未満のＫＤ値を有するもの）の親和性での抗体、抗体断片又は結合剤のその抗原／標的への結合を表し、抗体又は結合剤は、所定の抗原／標的分子又は密接に関連する抗原／標的分子ではない非特異的抗原に対して少なくとも２分の１の親和性を有する。

【０１０９】

「多特異性」、また「多反応性」又は「非特異的結合」は、関連のない抗原の定義されたセットに結合する結合剤又は抗体の能力を指す。抗体の（治療）適用性が損なわれる場合、非特異的結合は実質的である。標的陰性細胞株又は組織、バキュロウイルス粒子（ＢＶＰ）、インスリン又はＤＮＡを含むがこれらに限定されない非タンパク質構造の多特異性は、当技術分野で公知であり、本明細書に記載されるように評価することができる。例えば、標的陰性ヒト細胞株への非特異的結合は、例えば、擬似トランスフェクトＣＨＯ又はＨＥＫ細胞を使用するＦＡＣＳ分析によって決定することができる。第２の例では、異なる組織への非特異的結合を、それぞれの組織に由来する細胞株又は細胞株のパネルのＦＡＣＳ分析によって分析することができる。第３の例では、免疫細胞集団への非特異的結合は、当技術分野で公知のように免疫細胞集団を選別した後、ＦＡＣＳによって分析することができる。第４の例では、ＢＶＰ、インスリン又はＤＮＡへの非特異的結合を、例えばＨｏｔｚｅｌ，Ｉｓｉｄｒｏ，ｅｔ ａｌ．“Ａ ｓｔｒａｔｅｇｙ ｆｏｒ ｒｉｓｋ ｍｉｔｉｇａｔｉｏｎ ｏｆ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｗｉｔｈ ｆａｓｔ ｃｌｅａｒａｎｃｅ．”ＭＡｂｓ．Ｖｏｌ．４．Ｎｏ．６．Ｔａｙｌｏｒ＆Ｆｒａｎｃｉｓ，２０１２．；Ａｖｅｒｙ，Ｌｉｎｄｓａｙ Ｂ．，ｅｔ ａｌ．“Ｅｓｔａｂｌｉｓｈｉｎｇ ｉｎ ｖｉｔｒｏ ｉｎ ｖｉｖｏ ｃｏｒｒｅｌａｔｉｏｎｓ ｔｏ ｓｃｒｅｅｎ ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｆｏｒ ｐｈｙｓｉｃｏｃｈｅｍｉｃａｌ ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ ｒｅｌａｔｅｄ ｔｏ ｆａｖｏｒａｂｌｅ ｈｕｍａｎ ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ．”ＭＡｂｓ．Ｖｏｌ．１０．Ｎｏ．２．Ｔａｙｌｏｒ＆Ｆｒａｎｃｉｓ，２０１８．、及びＪａｉｎ，Ｔｕｓｈａｒ，ｅｔ ａｌ．“Ｂｉｏｐｈｙｓｉｃａｌ ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ ｏｆ ｔｈｅ ｃｌｉｎｉｃａｌ－ｓｔａｇｅ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｌａｎｄｓｃａｐｅ．”Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １１４．５（２０１７）：９４４－９４９（それらの全体が、特に、非特異的結合を分析及び定量するために必要な技術的詳細に関して本明細書に組み込まれる）に記載されるＥＬＩＳＡを使用して分析することができる。実質的な非特異的結合を有しない抗体は、好ましくは、参照抗体ガンテネルマブ（Ｒｏｃｈｅ）の非特異的結合よりも低い、最も好ましくは参照抗体レミケード（Ｊａｎｓｓｅｎ Ｂｉｏｔｅｃｈ）の非特異的結合よりも低い非特異的結合を特徴とする。

【０１１０】
「オフターゲット結合」という用語は、意図された標的とは異なる個々のタンパク質、例えば標的のタンパク質ファミリーのタンパク質に結合する抗体の能力を指す。オフターゲット結合は、当技術分野で公知の市販のアッセイ、例えば、Ｒｅｔｒｏｇｅｎｉｘオフターゲットプロファイリングアッセイを用いて評価され得る。簡単に記載すると、抗体は、数千のヒト膜タンパク質及び分泌タンパク質を個々に発現するＨＥＫ２９３細胞を含むマイクロアレイで試験される。潜在的なオフターゲットへの抗体の結合は、潜在的なオフターゲットを過剰発現する細胞を使用するＦＡＣＳによって確認する必要がある。
【０１１１】
「親和性」という用語は当技術分野の用語であり、結合剤、抗体又は抗体断片と標的との間の結合の強度を表す。標的に対する抗体及びその断片の「親和性」は、当技術分野で周知の又は本明細書に記載される技術を使用して、例えばＥＬＩＳＡ、等温滴定熱量測定（ＩＴＣ）、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）、フローサイトメトリー又は蛍光偏光アッセイによって決定することができる。好ましくは、親和性は解離定数ＫＤとして提供される。
【０１１２】
「解離定数」（ＫＤ）はモル単位（Ｍ）を有し、標的タンパク質の半分が平衡状態で占有される結合剤／抗体の濃度に対応する。解離定数が小さいほど、結合剤又は抗体とその標的との間の親和性が高くなる。
【０１１３】
本発明によれば、抗体は、好ましくは、少なくとも１０－７Ｍ（ＫＤ値として）、より好ましくは少なくとも１０－８Ｍ、更により好ましくは１０－９Ｍ～１０－１１Ｍの範囲の標的親和性を有する。ＫＤ値は、好ましくは、例えば本明細書の他の箇所に記載されるように、表面プラズモン共鳴分光法によって決定することができる。アッセイ条件が決定されたＫＤに影響を及ぼすことが分かった場合、最小の標準偏差を有するアッセイ設定を使用するものとする。
【０１１４】
「最大半量有効濃度」（ＥＣ５０）は、特定のインキュベーション時間後にベースラインと最大値との中間の応答を誘導する薬物、抗体、断片、コンジュゲート又は分子の濃度を指す。したがって、抗体結合との関連において、ＥＣ５０は、最大結合の半分に必要な抗体濃度を反映する。適用された薬物、抗体、断片、コンジュゲート又は分子濃度とシグナルとの間の関係を説明する用量応答曲線の数学的モデリング（例えば、非線形回帰）によって変曲点を決定することができる場合、ＥＣ５０を決定することができる。例えば、用量－反応曲線がシグモイド曲線に従う場合、ＥＣ５０を決定することができる。応答が阻害である場合、ＥＣ５０は最大半量阻害濃度（ＩＣ５０）と呼ばれる。ＥＣ８０は必要な変更を加えて決定することができる。
【０１１５】
「抗体」（Ａｂ）という用語は、特定の抗原に特異的に結合するか、又は特定の抗原と免疫学的に反応性である免疫グロブリン分子（例えば限定されないが、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、マウスＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａ、ＩｇＧ２ｂ、ＩｇＧ２ｃ、ＩｇＧ３、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ又はＩｇＭ、ラットＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａ、ＩｇＧ２ｂ、ＩｇＧ２ｃ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ又はＩｇＭ、ウサギＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＡ３、ＩｇＥ、ＩｇＧ、ＩｇＭ、ヤギＩｇＡ、ＩｇＥ、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＥ、ＩｇＭ又はニワトリＩｇＹ）を指す。抗体又は抗体断片は、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインの両方に、超可変領域としても知られる相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む。可変ドメインのより高度に保存された部分は、フレームワーク（ＦＲ）と呼ばれる。当技術分野で知られているように、抗体の超可変領域を描写するアミノ酸位置／境界は、文脈及び当技術分野で知られている様々な定義に応じて変化し得る。本明細書で使用される場合、免疫グロブリンアミノ酸残基のナンバリングは、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．の免疫グロブリンアミノ酸残基ナンバリングシステム

に従って行われる。天然の重鎖及び軽鎖の可変ドメインはそれぞれ、４つのＦＲ領域を含む。各鎖における３つのＣＤＲは、ＦＲ領域によって近接して、他方の鎖由来のＣＤＲと共に保持され、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する（Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．，ｅｔ ａｌ．“Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ（Ｎａｔｌ．Ｉｎｓｔ．Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ），ＧＰＯ Ｐｕｂｌ．”Ｎｏ１６５－４６２（１９８７）を参照）。本明細書で使用される抗体という用語はまた、特に明記しない限り、抗体断片を指す。それぞれの文脈に応じて、抗体という用語はまた、免疫グロブリン様機能を有する任意のタンパク質性結合分子を指し得る。

【０１１６】

「ＣＤＲ」という用語は、抗体の相補性決定領域を指す。当技術分野で公知のように、相補性決定領域（ＣＤＲ）は、抗体及びＴ細胞受容体の可変鎖の一部である。ＣＤＲのセットはパラトープを構成する。ＣＤＲは、抗原特異性の多様性にとって極めて重要である。抗原受容体の可変ドメインのアミノ酸配列上に非連続的に配置された３つのＣＤＲ（ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３）が存在する。抗原受容体は典型的には２つの可変ドメイン（２つの異なるポリペプチド鎖上、重鎖及び軽鎖）から構成されるため、抗原と集合的に接触することができる各抗原受容体に対して通常６つのＣＤＲが存在する。軽鎖のＣＤＲは、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２及びＬＣＤＲ３である。重鎖のＣＤＲは、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２及びＨＣＤＲ３と呼ばれる。ＨＣＤＲ３は、最も可変的な相補性決定領域である（例えば、Ｃｈｏｔｈｉａ，Ｃｙｒｕｓ，ａｎｄ Ａｒｔｈｕｒ Ｍ．Ｌｅｓｋ．“Ｃａｎｏｎｉｃａｌ ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ ｆｏｒ ｔｈｅ ｈｙｐｅｒｖａｒｉａｂｌｅ ｒｅｇｉｏｎｓ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎｓ．”Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｂｉｏｌｏｇｙ １９６．４（１９８７）：９０１－９１７．；Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．，ｅｔ ａｌ．“Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ ｉｎｔｅｒｅｓｔ．Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ：ＵＳ Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ．”Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ（１９９１）：１０３－５１１を参照）。

【０１１７】

「一定領域」は、エフェクター機能を付与する抗体分子の部分を指す。重鎖定常領域は、５つのアイソタイプ：アルファ（α）、デルタ（δ）、イプシロン（ε）、ガンマ（ｇ）又はミュー（μ）のいずれかから選択することができる。

【０１１８】

本明細書で使用される「Ｆｃドメイン」、「Ｆｃ領域」又は「Ｆｃ部分」という用語は、定常領域の少なくとも一部を含有する抗体重鎖のＣ末端領域を指す。この用語は、天然配列Ｆｃ領域及び変異体Ｆｃ領域を含む。例えば、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は、Ｃｙｓ２２６又はＰｒｏ２３０から重鎖のカルボキシル末端まで延在し得る。

【０１１９】

本発明による抗体又は結合断片は、少なくとも１つの定常領域媒介性生物学的エフェクター機能を変化させるように修飾されていてもよい。例えば、いくつかの実施形態において、抗体は、未改変抗体と比較して少なくとも１つの定常領域媒介生物学的エフェクター機能を低減又は増強するように、例えばＦｃ受容体（ＦｃγＲ）への結合を低減又は改善するように修飾され得る。ＦｃγＲ結合は、例えば、ＦｃγＲ相互作用に必要な特定の領域で抗体の免疫グロブリン定常領域セグメントを変異させることによって低減され得る（例えば、Ｃａｎｆｉｅｌｄ，Ｓｔｅｐｈｅｎ Ｍ．，ａｎｄ Ｓｈｅｒｉｅ Ｌ．Ｍｏｒｒｉｓｏｎ．“Ｔｈｅ ｂｉｎｄｉｎｇ ａｆｆｉｎｉｔｙ ｏｆ ｈｕｍａｎ ＩｇＧ ｆｏｒ ｉｔｓ ｈｉｇｈ ａｆｆｉｎｉｔｙ Ｆｃ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｉｓ ｄｅｔｅｒｍｉｎｅｄ ｂｙ ｍｕｌｔｉｐｌｅ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄｓ ｉｎ ｔｈｅ ＣＨ２ ｄｏｍａｉｎ ａｎｄ ｉｓ ｍｏｄｕｌａｔｅｄ ｂｙ ｔｈｅ ｈｉｎｇｅ ｒｅｇｉｏｎ．”Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ｍｅｄｉｃｉｎｅ

１７３．６（１９９１）：１４８３－１４９１；and Lund，John，et al.“Human Fc gamma RI and Fc gamma RII interact with distinct but overlapping sites on human IgG.”The Journal of Immunology １４７．８（１９９１）：２６５７－２６６２を参照）。ＦｃγＲ結合は、例えば、アフコシル化によって増強され得る。ＦｃγＲ結合の減少はまた、オプソニン化、食作用及び抗原依存性細胞傷害（「ＡＤＣＣ」）等のＦｃγＲ相互作用に依存する他のエフェクター機能を減少させ得る。

【０１２０】

さらに、ＦｃとＦｃＲｎとの相互作用に対処することにより、ｉｎ ｖｉｖｏでの抗体の半減期を調節することが可能になる。例えば変異Ｈ４３５Ａの導入による相互作用の妨害は、抗体がもはやＦｃＲｎリサイクルによるリソソーム分解から保護されないため、極めて短い半減期をもたらす。全ての態様によるいくつかの好ましい実施形態において、本発明による抗体は変異Ｈ４３５Ａを含むか、又は半減期の短縮のために操作されている。

【０１２１】

対照的に、「ＹＴＥ」変異（Ｍ２５２Ｙ／Ｓ２５４Ｔ／Ｔ２５６Ｅ）及び／又は「ＬＳ」変異（Ｍ４２８Ｌ／Ｎ４３４Ｓ）等の同等の変異を含む抗体は、前臨床種並びにヒトの両方において、エンドソームからのより効率的なリサイクルによって半減期を有意に延長することが示されている（Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ，Ｗｉｌｌｉａｍ Ｆ．，ｅｔ ａｌ．“Ｉｎｃｒｅａｓｉｎｇ ｔｈｅ ａｆｆｉｎｉｔｙ ｏｆ ａ ｈｕｍａｎ ＩｇＧ１ ｆｏｒ ｔｈｅ ｎｅｏｎａｔａｌ Ｆｃ ｒｅｃｅｐｔｏｒ：ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ｃｏｎｓｅｑｕｅｎｃｅｓ．”Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １６９．９（２００２）：５１７１－５１８０．；Ｚａｌｅｖｓｋｙ，Ｊｏｎａｔｈａｎ，ｅｔ ａｌ．“Ｅｎｈａｎｃｅｄ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｈａｌｆ－ｌｉｆｅ ｉｍｐｒｏｖｅｓ ｉｎ ｖｉｖｏ ａｃｔｉｖｉｔｙ．”Ｎａｔｕｒｅ ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２８．２（２０１０）：１５７－１５９．）。全ての態様によるいくつかの好ましい実施形態において、本発明による抗体は、ＹＴＥ変異（Ｍ２５２Ｙ／Ｓ２５４Ｔ／Ｔ２５６Ｅ）及び／又は等価な変異、例えばＬＳ（Ｍ４２８Ｌ／Ｎ４３４Ｓ）を含むか、あるいは、改善された半減期のために操作されている。半減期を延長するための適切なＦｃ操作アプローチは、Ｈａｒａｙａ、Ｋｅｎｔａ、Ｔａｔｓｕｈｉｋｏ Ｔａｃｈｉｂａｎａ、及びＴｏｍｏｙｕｋｉ Ｉｇａｗａ．“Ｉｍｐｒｏｖｅｍｅｎｔ ｏｆ ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃ ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ ｏｆ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｂｙ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ．”Ｄｒｕｇ ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ ａｎｄ ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ ３４．１（２０１９）：２５－４１．、及び／又はＬｅｅ，Ｃｈａｎｇ－Ｈａｎ，ｅｔ ａｌ．“Ａｎ ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ ｈｕｍａｎ Ｆｃ ｄｏｍａｉｎ ｔｈａｔ ｂｅｈａｖｅｓ ｌｉｋｅ ａ ｐＨ－ｔｏｇｇｌｅ ｓｗｉｔｃｈ ｆｏｒ ｕｌｔｒａ－ｌｏｎｇ ｃｉｒｃｕｌａｔｉｏｎ ｐｅｒｓｉｓｔｅｎｃｅ．”Ｎａｔｕｒｅ ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎｓ １０．１（２０１９）：１－１１（いずれも参照により本明細書に組み込まれる）に見出すことができる。

【０１２２】

「アフコシル化」抗体は、抗体のＦｃ領域中のオリゴ糖がフコース糖単位を有さないように操作された抗体である。抗体のグリコシル化は、その機能を変化させ得る。例えば、ＩｇＧのＣＨ２ドメイン中のＮ２９７でのグリコシル化が完全に排除されると、ＦｃγＲへの結合が失われる。しかしながら、Ｎ２９７での特異的炭水化物組成物の調節は、反対の効果を有し、抗体のＡＤＣＣ活性を増強することができる。簡単に記載すると、活性化ＦｃγＲに対する抗体の親和性は、Ｎ２９７　Ｎ結合型オリゴ糖の組成に依存する。この部位で起こり得るオリゴ糖の３２の異なる可能な組み合わせがある。天然に存在するヒトＩｇＧ及びハイブリドーマ又は他の一般的な発現系によって産生されるヒトＩｇＧは、通常、Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）及びコア炭水化物を形成する３つのマン

ノース残基から構成される。このコアは、２つの更なるＧｌｃＮＡｃ基に付着されて、二分岐分岐を形成する。各分枝におけるガラクトースの付加、並びにこれらのガラクトース分子へのシアル酸の末端付加が起こり得る。フコースはコアＧｌｃＮＡｃの一部であることが多い。このフコースは、立体障害を介して、抗体とＦｃγＲＩＩＩＡとの相互作用を妨害する。したがって、この部位で他の形態のグリコシル化を維持しながらこのフコース分子を除去すると、活性化ＦｃγＲへの抗体の結合が増加し、ＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰを誘発するその能力が増強される（Ａｌｍａｇｒｏ，Ｊｕａｎ Ｃ．，ｅｔ ａｌ．“Ｐｒｏｇｒｅｓｓ ａｎｄ ｃｈａｌｌｅｎｇｅｓ ｉｎ ｔｈｅ ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ ｃｌｉｎｉｃａｌ ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ ｏｆ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｆｏｒ ｃａｎｃｅｒ ｔｈｅｒａｐｙ．”Ｆｒｏｎｔｉｅｒｓ ｉｎ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ８（２０１８）：１７５１．）。フコースを含まない抗体を調製する方法には、ラット骨髄腫ＹＢ２／０細胞（ＡＴＣＣ ＣＲＬ １６６２）における成長が含まれる。ＹＢ２／０細胞は、ポリペプチドのフコシル化に必要な酵素であるα－１，６－フコシルトランスフェラーゼをコードする低レベルのＦＵＴ８ ｍＲＮＡを発現する。本発明には、アフコシル化抗体が好ましい。

【０１２３】

「抗体依存性細胞傷害性」（「ＡＤＣＣ」）は、「抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性」とも呼ばれ、免疫細胞が、その膜表面抗原が特異的抗体によって結合されている標的細胞を能動的に溶解する細胞媒介性免疫防御の機構である。ＡＤＣＣは、抗体又は断片とＦｃγＲＩＩＩａとの相互作用を介して媒介される。ヒトでは、ＦｃγＲＩＩＩは２つの異なる形態：ＦｃγＲＩＩＩａ（ＣＤ１６ａ）及びＦｃγＲＩＩＩｂ（ＣＤ１６ｂ）で存在する。ＦｃγＲＩＩＩａは単球、好中球、肥満細胞、マクロファージ、及び膜貫通受容体としてのナチュラルキラー細胞上に発現されるが、ＦｃγＲＩＩＩｂは好中球上にのみ発現される。これらの受容体は、ＩｇＧ抗体のＦｃ部分に結合し、次いで、ヒトエフェクター細胞によって媒介される抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を活性化する。

【０１２４】

ヒト対象におけるＡＤＣＣ誘導を決定するための様々なアッセイ系が文献に記載されており、本明細書に開示される主題の特徴付けに適している。例えば、Ｙａｏ－Ｔｅ Ｈｓｉｅｈ ｅｔ ａｌ．は、異なるＡＤＣＣアッセイ系、すなわち（ｉ）ヒトドナー由来のナチュラルキラー細胞（ＦｃγＲＩＩＩＡ＋原発性ＮＫ）、（ｉｉ）ＦｃγＲＩＩＩＡ操作ＮＫ－９２細胞及び（ｉｉｉ）ＦｃγＲＩＩＩＡ／ＮＦＡＴ－ＲＥ／ｌｕｃ２操作Ｊｕｒｋａｔ Ｔ細胞に基づくアッセイを研究した（Ｈｓｉｅｈ，Ｙａｏ－Ｔｅ，ｅｔ ａｌ．“Ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ ＦｃγＲＩＩＩＡ ｅｆｆｅｃｔｏｒ ｃｅｌｌｓ ｕｓｅｄ ｉｎ ｉｎ ｖｉｔｒｏ ＡＤＣＣ ｂｉｏａｓｓａｙ：ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ｏｆ ｐｒｉｍａｒｙ ＮＫ ｃｅｌｌｓ ｗｉｔｈ ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ ＮＫ－９２ ａｎｄ Ｊｕｒｋａｔ Ｔ ｃｅｌｌｓ．”Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ ４４１（２０１７）：５６－６６、全体が本明細書に組み込まれる；特に、これらのアッセイの方法の説明を参照）。簡単に記載すると、３つ全てのエフェクター細胞系がＦｃγＲＩＩＩＡを差次的に発現し、用量依存的なＡＤＣＣ経路活性を提供するが、初代ＮＫ細胞及び操作されたＮＫ－９２細胞のみがＡＤＣＣ媒介性細胞溶解を誘導することができる。したがって、ＡＤＣＣ活性の機能的評価のために、初代ＮＫ又はＮＫ－９２（Ｖ－１５８）細胞は、生理学的に関連するＡＤＣＣ作用機序をよりよく反映する。操作された細胞株として、ＮＫ－９２細胞は、初代ＮＫよりも再現性よく挙動することができ、したがって、例えば、疑いがある場合、ヒト対象におけるＡＤＣＣ応答を決定するための好ましいアッセイ系である。

【０１２５】

ＡＤＣＣを誘導する抗体又は抗原結合断片は、ＮＫエフェクター細胞の存在下で標的細胞の相当量の溶解を誘発し得る抗体である。好ましくは、ＡＤＣＣ誘導は、標的細胞の少なくとも２％、５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５

％又は９９％の溶解をもたらす。

【０１２６】

「抗体依存性細胞食作用」（「ＡＤＣＰ」）は、抗体オプソニン化標的細胞がマクロファージの表面のＦｃγＲを活性化して食作用を誘導し、標的細胞の内在化及び分解をもたらす機構である。ＡＤＣＰの場合、エフェクター細胞としてのマクロファージへの結合は、典型的には、抗体ＦＣ部分とマクロファージによって発現されるＦｃγＲＩＩａ（ＣＤ３２ａ）との相互作用を介して起こる。

【０１２７】

ＡＤＣＰを誘導する抗体又は抗原結合断片は、マクロファージの存在下で標的細胞のかなりの量の食作用を誘発し得る抗体である。好ましくは、ＡＤＣＰ誘導は、標的細胞の少なくとも２％、５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は９９％の食作用をもたらす。

【０１２８】

「補体依存性細胞傷害」（「ＣＤＣ」）は、ＩｇＧ及びＩｇＭ抗体のエフェクター機能である。それらが標的細胞（例えば細菌又はウイルス感染細胞）上の表面抗原に結合すると、古典的補体経路は、タンパク質Ｃ１ｑをこれらの抗体に結合することによって引き起こされ、膜攻撃複合体（ＭＡＣ）の形成及び標的細胞溶解をもたらす。補体系は、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ３及びＩｇＭ抗体によって効率的に活性化され、ＩｇＧ２抗体によって弱く活性化され、ＩｇＧ４抗体によって活性化されない。補体系は、治療用抗体（本発明による抗体の特定の実施形態でもある）が抗腫瘍効果を達成することができる作用機序の１つである。ＣＤＣの有効性を決定するためのいくつかの実験方法が存在し、当技術分野で公知である。

【０１２９】

ＣＤＣを誘導する抗体又は抗原結合断片は、かなりの量の膜攻撃複合体の形成及び標的細胞の溶解を誘発し得る抗体である。好ましくは、ＣＤＣ誘導は、標的細胞の少なくとも２％、５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は９９％の溶解をもたらす。

【０１３０】

Ｆｃ領域を含む抗体は、Ｆｃドメインの第１及び第２のサブユニットの会合を促進する修飾を含んでも含まなくてもよい。

【０１３１】

「Ｆｃドメインの第１及び第２のサブユニットの会合を促進する修飾」は、Ｆｃドメインサブユニットを含むポリペプチドと同一のポリペプチドとの会合を低減又は防止してホモ二量体を形成する、Ｆｃドメインサブユニットのペプチド骨格又は翻訳後修飾の操作である。Ｆｃ領域を含む抗体は、Ｆｃドメインの第１及び第２のサブユニットの会合を促進する修飾を含んでも含まなくてもよい。本明細書で使用される会合を促進する修飾は、特に、会合することが望まれる２つのＦｃドメインサブユニット（すなわち、Ｆｃドメインの第１及び第２のサブユニット）のそれぞれに行われる別々の修飾を含み、修飾は、２つのＦｃドメインサブユニットの会合を促進するように互いに相補的である。例えば、会合を促進する修飾は、Ｆｃドメインサブユニットの一方又は両方の構造又は電荷を変化させて、それらの会合を立体的又は静電的に有利にし得る。したがって、第１のＦｃドメインサブユニットを含むポリペプチドと第２のＦｃドメインサブユニットを含むポリペプチドとの間で（ヘテロ）二量体化が起こり、これは、例えば、各サブユニットに融合した更なる成分（例えば抗原結合部分）が同じではないという意味で、同一ではない可能性がある。いくつかの実施形態において、会合を促進する修飾は、Ｆｃドメイン中のアミノ酸変異、具体的にはアミノ酸置換を含む。特定の実施形態において、会合を促進する修飾は、Ｆｃドメインの２つのサブユニットのそれぞれに別々のアミノ酸変異、具体的にはアミノ酸置換を含む。

【０１３２】
本明細書で使用される抗体の「断片」は、全長抗体の所望の親和性を実質的に保持するために必要である。したがって、抗ヒトＣＣＲ８抗体の適切な断片は、標的ケモカイン受容体に結合する能力、例えばヒトＣＣＲ８受容体に結合する能力を保持する。抗体の断片は、完全長抗体の一部、一般にはその抗原結合領域又は可変領域を含む。抗体断片の例には、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、及びＦｖ断片、一本鎖抗体分子、ダイアボディ及びドメイン抗体が含まれるが、これらに限定されない（Ｈｏｌｔ，Ｌｕｃｙ Ｊ．，ｅｔａｌ．“Ｄｏｍａｉｎ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｆｏｒ ｔｈｅｒａｐｙ．”Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２１．１１（２００３）：４８４－４９０を参照）。

【０１３３】
「Ｆａｂ断片」は、軽鎖の定常ドメイン及び重鎖の第１の定常ドメイン（ＣＨ２）を含む。

【０１３４】
「Ｆａｂ’断片」は、抗体ヒンジ領域由来の１つ以上のシステインを含む重鎖ＣＨ２ドメインのカルボキシル末端にいくつかの残基を付加することによってＦａｂ断片とは異なる。

【０１３５】
「Ｆ（ａｂ’）断片」は、Ｆ（ａｂ’）２ペプシン消化産物のヒンジシステインでのジスルフィド結合の切断によって生成される。抗体断片の更なる化学的カップリングは、当業者に公知である。Ｆａｂ及びＦ（ａｂ’）２断片は、インタクトな抗体のＦｃ断片を欠き、動物の循環からより迅速に消失し、インタクトな抗体よりも非特異的な組織結合が少ない場合がある（例えば、Ｗａｈｌ，Ｒｉｃｈａｒｄ Ｌ．，Ｃｈａｒｌｅｓ Ｗ．Ｐａｒｋｅｒ，ａｎｄ Ｇｏｒｄｏｎ Ｗ．Ｐｈｉｌｐｏｔｔ．“Ｉｍｐｒｏｖｅｄ ｒａｄｉｏｉｍａｇｉｎｇ ａｎｄ ｔｕｍｏｒ ｌｏｃａｌｉｚａｔｉｏｎ ｗｉｔｈ ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ｆ（ａｂ’）２．”Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｎｕｃｌｅａｒ ｍｅｄｉｃｉｎｅ：ｏｆｆｉｃｉａｌ ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ，Ｓｏｃｉｅｔｙ ｏｆ Ｎｕｃｌｅａｒ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ ２４．４（１９８３）：３１６－３２５）。

【０１３６】
「Ｆｖ断片」は、完全な標的認識及び結合部位を含む抗体の最小断片である。この領域は、緊密な非共有結合的会合の１つの重鎖可変ドメインと１つの軽鎖可変ドメインの二量体（ＶＨ－ＶＬ二量体）からなる。この構成では、各可変ドメインの３つのＣＤＲが相互作用して、ＶＨ－ＶＬ二量体の表面上に抗原結合部位を規定する。多くの場合、６つのＣＤＲは、抗体に抗原結合特異性を付与する。しかしながら、いくつかの例では、単一の可変ドメイン（又は標的に特異的な３つのＣＤＲのみを含むＦｖの半分）でさえ、結合部位全体よりも低い親和性ではあるが、抗原を認識して結合する能力を有し得る。

【０１３７】
「単鎖Ｆｖ」又は「ｓｃＦｖ」抗体断片は、単一のポリペプチド鎖に抗体のＶＨ及びＶＬドメインを含む。一般に、Ｆｖポリペプチドは、ｓｃＦｖが抗原結合のための所望の構造を形成することを可能にする、ＶＨドメインとＶＬドメインとの間のポリペプチドリンカーを更に含む。

【０１３８】
「単一ドメイン抗体」は、標的に対して十分な親和性を示す単一のＶＨ又はＶＬドメインから構成される。特定の実施形態において、単一ドメイン抗体はラクダ化抗体であり、例えば、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ，Ｌｕｔｚ，ａｎｄ Ｓｅｒｇｅ Ｍｕｙｌｄｅｒｍａｎｓ．“Ｓｉｎｇｌｅ ｄｏｍａｉｎ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ｏｆ ｃａｍｅｌ ＶＨ ａｎｄ ｃａｍｅｌｉｓｅｄ ｈｕｍａｎ ＶＨ ｄｏｍａｉｎｓ．”Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ ｍｅｔｈｏｄｓ ２３１．１－２（１９９９）：２５－３８を参照されたい。

【０１３９】

「二重特異性抗体」は、同じ又は異なる抗原上の少なくとも２つの異なるエピトープに対して結合特異性を有するモノクローナル抗体である。本開示では、結合特異性の１つは、ＣＣＲ８等の標的ケモカイン受容体に向けられ得、もう１つは、任意の他の抗原、例えば限定されないが、細胞表面タンパク質、受容体、受容体サブユニット、組織特異的抗原、ウイルス由来タンパク質、ウイルスにコードされたエンベロープタンパク質、細菌由来タンパク質、又は細菌表面タンパク質に対するものであり得る。本発明による二重特異性抗体コンストラクトはまた、複数の結合ドメイン／結合部位を含む多重特異性抗体コンストラクト、例えば三重特異性抗体コンストラクトを包含し、コンストラクトは３つの結合ドメインを含む。

【０１４０】

「誘導体化抗体」は、典型的には、グリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、硫酸化、アミド化、既知の保護基／ブロッキング基による誘導体化、タンパク質分解切断、細胞リガンド又は他のタンパク質への結合によって修飾される。多くの化学修飾のいずれかは、限定されないが、特異的な化学的切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成等を含む公知の技術によって行われ得る。更に、誘導体は、例えば、アンブラックス技術を使用して、１つ以上の非天然アミノ酸を含有し得る（例えば、Ｗｏｌｆｓｏｎ，Ｗｅｎｄｙ．“Ａｍｂｅｒ ｃｏｄｏｎ ｆｌａｓｈｉｎｇ ａｍｂｒｘ ａｕｇｍｅｎｔｓ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｗｉｔｈ ｕｎｎａｔｕｒａｌ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄｓ．”Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ＆ｂｉｏｌｏｇｙ １３．１０（２００６）：１０１１－１０１２を参照）。本発明による抗体は、誘導体化されていてもよく、例えば、グリコシル化又は硫酸化されていてもよい。

【０１４１】

「モノクローナル抗体」は、特定の抗原に結合する抗体の実質的に均一な集団である。

【０１４２】

モノクローナル免疫グロブリンは、当業者に周知の方法（例えば、Ｋｏｈｌｅｒ，Ｇｅｏｒｇｅｓ，ａｎｄ Ｃｅｓａｒ Ｍｉｌｓｔｅｉｎ．“Ｃｏｎｔｉｎｕｏｕｓ ｃｕｌｔｕｒｅｓ ｏｆ ｆｕｓｅｄ ｃｅｌｌｓ ｓｅｃｒｅｔｉｎｇ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｏｆ ｐｒｅｄｅｆｉｎｅｄ ｓｐｅｃｉｆｉｃｉｔｙ．”ｎａｔｕｒｅ ２５６．５５１７（１９７５）：４９５－４９７．，ａｎｄ Ｕ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ Ｎｏ．４，３７６，１１０を参照）によって得ることができる。特異的結合親和性を有する免疫グロブリン又は免疫グロブリン断片は、原核生物又は真核生物から単離、濃縮又は精製することができる。当業者に公知のルーチンな方法は、原核生物及び真核生物の両方において、免疫グロブリン又は免疫グロブリン断片及び免疫グロブリン様機能を有するタンパク質性結合分子の両方の産生を可能にする。本発明による抗体は、好ましくはモノクローナルである。

【０１４３】

「ヒト化抗体」は、例えば、任意の必要なフレームワークの復帰突然変異と共に、ヒト配列由来Ｖ領域に移植された、マウス等の非ヒト種に由来するＣＤＲ領域を含む。したがって、大部分において、ヒト化抗体は、レシピエントの超可変領域からの残基が、所望の特異性、親和性及び能力を有する非ヒト種（ドナー抗体）、例えばマウス、ラット、ウサギ又は非ヒト霊長類の超可変領域からの残基によって置き換えられたヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。例えば、参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第５，２２５，５３９号、同第５，５８５，０８９号、同第５，６９３，７６１号、同第５，６９３，７６２号、同第５，８５９，２０５号を参照されたい。いくつかの例において、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられる。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体又はドナー抗体には見られない残基を含み得る。これらの修飾は、抗体の性能を更に改良するために（例えば、所望の親和性を得るために）行われる。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも１つ、典型的には２つの可変ドメインの実質的に全てを含み、超可変領域の全て又は実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、フレームワーク領域の全て又は実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部、典

型的にはヒト免疫グロブリンの少なくとも一部を含んでいてもよい。更なる詳細については、参照により本明細書に組み込まれる、Ｐｅｔｅｒ Ｔ．，ｅｔ ａｌ．“Ｒｅｐｌａｃｉｎｇ ｔｈｅ ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔａｒｉｔｙ－ｄｅｔｅｒｍｉｎｉｎｇ ｒｅｇｉｏｎｓ ｉｎ ａ ｈｕｍａｎ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｗｉｔｈ ｔｈｏｓｅ ｆｒｏｍ ａ ｍｏｕｓｅ．”Ｎａｔｕｒｅ ３２１．６０６９（１９８６）：５２２－５２５．；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ，Ｌｕｔｚ，ｅｔ ａｌ．“Ｒｅｓｈａｐｉｎｇ ｈｕｍａｎ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｆｏｒ ｔｈｅｒａｐｙ．”Ｎａｔｕｒｅ ３３２．６１６２（１９８８）：３２３－３２７．；及びＰｒｅｓｔａ，Ｌｅｏｎａｒｄ Ｇ．“Ａｎｔｉｂｏｄｙ ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ．”Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２．４（１９９２）：５９３－５９６を参照されたい。

【０１４４】

完全ヒト抗体（ヒト抗体）は、ヒト由来ＣＤＲ、すなわちヒト起源のＣＤＲを含む。好ましくは、本発明による完全ヒト抗体は、最も近いヒトＶＨ生殖細胞系遺伝子（例えば、推奨リストから抽出され、ＩＭＧＴ／ドメインギャップアラインメントで分析される配列）と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．５％又は１００％の配列同一性を有する抗体である。

【０１４５】

２０１７年まで有効であったＩＮＮ種サブシステム等の通常の命名法システムによって認められるように、完全ヒト抗体は、ＩＭＧＴデータベース（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｉｍｇｔ．ｏｒｇ，２０１９年１１月２９日）に基づいて決定された最も近いヒト生殖系列参照と比較して、少ない数の生殖系列偏差を含み得る。例えば、本発明による完全ヒト抗体は、最も近いヒト生殖系列参照と比較して、ＣＤＲ中に最大１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１２、１３、１４又は１５の生殖系列偏差を含み得る。完全ヒト抗体は、細胞濃縮又は不死化工程と組み合わせたクローニング技術によって、ヒト由来Ｂ細胞から開発することができる。しかしながら、臨床使用における完全ヒト抗体の大部分は、ヒトＩｇＧ遺伝子座について遺伝子導入された免疫マウス、又はファージディスプレイによって精巧なコンビナトリアルライブラリーのいずれかから単離された（Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ，Ｍａｒｉａｎｎｅ，ｅｔ ａｌ．“Ｈｕｍａｎ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｉｎ ｔｒａｎｓｇｅｎｉｃ ａｎｉｍａｌｓ．”Ａｒｃｈｉｖｕｍ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉａｅ ｅｔ ｔｈｅｒａｐｉａｅ ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌｉｓ ６３．２（２０１５）：１０１－１０８．；Ｃａｒｔｅｒ，Ｐａｕｌ Ｊ．“Ｐｏｔｅｎｔ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ ｂｙ ｄｅｓｉｇｎ．”Ｎａｔｕｒｅ ｒｅｖｉｅｗｓ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ６．５（２００６）：３４３－３５７．；Ｆｒｅｎｚｅｌ，Ａｎｄｒｅ，Ｔｈｏｍａｓ Ｓｃｈｉｒｒｍａｎｎ，ａｎｄ Ｍｉｃｈａｅｌ Ｈｕｓｔ．“Ｐｈａｇｅ ｄｉｓｐｌａｙ－ｄｅｒｉｖｅｄ ｈｕｍａｎ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｉｎ ｃｌｉｎｉｃａｌ ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ ａｎｄ ｔｈｅｒａｐｙ．”ＭＡｂｓ．Ｖｏｌ．８．Ｎｏ．７．Ｔａｙｌｏｒ＆Ｆｒａｎｃｉｓ，２０１６．；Ｎｅｌｓｏｎ，Ａａｒｏｎ Ｌ．，Ｅｕｇｅｎ Ｄｈｉｍｏｌｅａ，ａｎｄ Ｊａｎｉｃｅ Ｍ．Ｒｅｉｃｈｅｒｔ．“Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ ｔｒｅｎｄｓ ｆｏｒ ｈｕｍａｎ ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ．”Ｎａｔｕｒｅ ｒｅｖｉｅｗｓ ｄｒｕｇ ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ ９．１０（２０１０）：７６７－７７４．）。

【０１４６】

完全ヒト抗体を作製するために、又はヒト由来ＣＤＲ（国際公開第２００８１１２６４０号）を含む抗体を作製するために、いくつかの技術が利用可能である。Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ（ＣＡＴ）及びＤｙａｘは、免疫化ヒトから単離された末梢Ｂ細胞から抗体ｃＤＮＡ配列を得て、特定の特異性のヒト可変領域配列を同定するためのファージディスプレイライブラリーを考案した。簡潔には、抗体可変領域配列を、Ｍ１３バクテリオファージの遺伝子ＩＩＩ又は遺伝子ＶＩＩＩ構造のいずれかと融合する。これらの抗体可変領域配列は、それぞれの配列を有するファージの先

端でＦａｂ又は一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）構造のいずれかとして発現される。様々なレベルの抗原結合条件（ストリンジェンシー）を使用する一連のパニングプロセスを通して、目的の抗原に特異的なＦａｂ又はｓｃＦｖ構造を発現するファージを選択し、単離することができる。次いで、選択されたファージの抗体可変領域ｃＤＮＡ配列を、標準的な配列決定手順を用いて解明することができる。次いで、これらの配列を、確立された抗体工学技術を使用して所望のアイソタイプを有する完全抗体の再構築に使用することができる。この方法に従って構築された抗体は、完全ヒト抗体（ＣＤＲを含む）と見なされる。選択された抗体の免疫反応性（抗原結合親和性及び特異性）を改善するために、異なる重鎖及び軽鎖のコンビナトリアル会合、重鎖及び軽鎖のＣＤＲ３での欠失／付加／変異（Ｖ－Ｊ及びＶ－Ｄ－Ｊの組換えを模倣する）、及びランダム変異（体細胞高頻度変異を模倣するため）を含むｉｎ　ｖｉｔｒｏ成熟プロセスを導入することができる。この方法によって生成される「完全ヒト」抗体の例は、抗腫瘍壊死因子α抗体、ヒュミラ（アダリムマブ）である。

【０１４７】

「ポリヌクレオチド」という用語は、組換え又は合成によって生成されたポリマー性デオキシリボヌクレオチド若しくはその類縁体、又は修飾ポリヌクレオチドを指す。この用語は、二本鎖及び一本鎖のＤＮＡ又はＲＮＡを含む。ポリヌクレオチドは、例えばミニサークル、プラスミド、コスミド、ミニ染色体又は人工染色体に組み込むことができる。ポリヌクレオチドは、別の核酸分子、例えば真核宿主細胞の発現ベクター又は染色体に単離又は組み込まれ得る。

【０１４８】

本明細書で使用される「ベクトル」という用語は、それが連結されている核酸分子を増殖させることができる核酸分子を指す。この用語は、プラスミド（非ウイルス）及びウイルスベクターを更に含む。特定のベクターは、それらが作動可能に連結されている核酸又はポリヌクレオチドの発現を指示することができる。そのようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と呼ばれる。真核生物使用のための発現ベクターは、少なくとも１つの目的のタンパク質（ＰＯＩ）をコードするポリヌクレオチド配列を適切なベクター骨格に挿入することによって構築することができる。ベクター骨格は、ベクターの維持を確実にし、所望であれば宿主内で増幅を提供するために必要な要素を含むことができる。ウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクター又はレトロウイルスベクターでは、構造要素又は他の要素等の更なるウイルス特異的要素が必要とされ得、当技術分野で周知である。これらの要素は、例えば、シス（同じプラスミド上）又はトランス（別々のプラスミド上）で提供することができる。ウイルスベクターは、大規模トランスフェクションのためにヘルパーウイルス又はパッケージングラインを必要とし得る。ベクターは、哺乳動物細胞における複製のためのプラスミド複製のエンハンサーエレメント（例えば、ウイルス、真核生物）、イントロン及びウイルス複製起点等の更なるエレメントを含有し得る。本発明によれば、発現ベクターは、典型的には、ＰＯＩの発現を駆動するプロモーター配列を有する。ＰＯＩ及び／又は選択マーカータンパク質の発現は、構成的であっても調節されていてもよい（例えば、小分子誘導因子の添加又は除去によって誘導可能）。哺乳動物宿主細胞発現のための好ましい調節配列には、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）、シミアンウイルス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Ａｄ　ＬＰ）又はポリオーマに由来する調節エレメント、プロモーター及び／又はエンハンサー等の、哺乳動物細胞におけるＰＯＩの高レベルの発現を指示するウイルスエレメントが含まれる。ウイルス調節エレメント及びその配列の更なる説明については、例えば、米国特許第５，１６８，０６２号、米国特許第４，５１０，２４５号及び米国特許第４，９６８，６１５号を参照されたい。

【０１４９】

本明細書で使用される「リンカー」又は「スペーサー」という用語は、２つの部分間の直接的なトポロジー接続を可能にする任意の分子を指す。部分は、とりわけ、ポリペプチド、タンパク質、抗体、抗体断片、細胞傷害性部分、結合部分、フルオロフォア等の検出

用部分、ビーズ又は磁気ビーズ等の固定化又は回収用部分、反応性部分、又は任意の他の分子であり得る。２つの部分は、同じタイプであっても異なっていてもよい。リンカーは、コンジュゲートの一部であり得、それらの機能に寄与し得る。例えば、ポリペプチドとビオチンとを含むコンジュゲートの場合、ビオチンのカルボキシ基とペプチドの１番目のかさ高いアミノ酸との間におよそ４Å（約５原子）のスペーサーが存在することにより、ビオチンが（ストレプト）アビジン結合ポケットに到達することが可能になる。様々なリンカーが当技術分野で公知であり、連結されるべき部分に基づいて選択することができる。リンカー長は、典型的には、４原子～２００原子超の範囲である。長さが６０原子を超えるリンカーは、一般に、平均長を有する化合物の集団を含む。

【０１５０】

「ポリペプチドに対するリンカー」は、アミド結合又は任意の他の機能的残基を介して付着され得る。ポリペプチドに対するリンカーは、ポリペプチドのＮ末端又はＣ末端に付着していてもよく、又は反応性官能基若しくはアミノ酸側鎖を介して付着していてもよい。ポリペプチドは、例えばビオチン、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）等のタンパク質、キーホールリンペットヘモシアニン（ＫＬＨ）、オボアルブミン（ＯＶＡ）若しくはウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）等の担体タンパク質、蛍光色素、Ｆｌａｇタグ、ＨＡタグ、Ｍｙｃタグ若しくはＨｉｓタグ等の短いアミノ酸配列、マレイミド、ヨードアセトアミド、ハロゲン化アルキル、３－メルカプトプロピル若しくは４－アジドブチリン酸等の反応性タグ、又は様々な更なる適切な部分にカップリングされ得る。適切なリンカー、例えばポリペプチドのコンジュゲーションに適したリンカーの非限定的な例としては、β－アラニン、４－アミノ酪酸（ＧＡＢＡ）、（２－アミノエトキシ）酢酸（ＡＥＡ）、５－アミノ吉草酸（Ａｖａ）、６－アミノヘキサン酸（Ａｈｘ）、ＰＥＧ２スペーサー（８－アミノ－３，６－ジオキサオクタン酸）、ＰＥＧ３スペーサー（１２アミノ－４，７，１０トリオキサドデカン酸）、ＰＥＧ４スペーサー（１５アミノ－４，７，１０，１３テトラオキサペンタ－デカン酸）及びＴｔｄｓ（トリオキサトリデカン－コハク酸）が挙げられる。いくつかの場合、リンカーは、反応性部分、例えば、マレイミド、ヨードアセトアミド、ハロゲン化アルキル、３－メルカプトプロピル又は４－アジド酪酸から誘導され得る。いくつかの場合、リンカーは、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ポリプロピレングリコール、ポリオキシアルキレン、又はポリエチレングリコール若しくはポリプロピレングリコールのコポリマーを含み得る。

【０１５１】

「抗体に対するリンカー」は、異なる抗体部分間の共有結合を確立するリンカーであり、ペプチドリンカー及び非タンパク質性ポリマー（ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ポリプロピレングリコール、ポリオキシアルキレン、又はポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールのコポリマーが含まれるが、これらに限定されない）を含む。

【０１５２】

対象における疾患を「処置する（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」又は疾患を有する対象を「処置する（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」とは、疾患の少なくとも１つの症状が減少するか又は悪化が防止されるように、対象を医薬処置、例えば薬物の投与に供することを指す。

【０１５３】

「予防する（ｐｒｅｖｅｎｔ）」、「予防する（ｐｒｅｖｅｎｔｉｎｇ）」、「予防（ｐｒｅｖｅｎｔｉｏｎ）」等の用語は、疾患、障害又は状態を有しないが、疾患、障害又は状態を発症するリスクがあるか又は発症しやすい対象において疾患、障害又は状態を発症する確率を低下させることを指す。

【０１５４】

「有効量」又は「治療有効量」という用語は、本明細書では互換的に使用され、特定の生物学的結果を達成するか、又は対象における症状を調節若しくは改善するのに十分な量、又は典型的には少なくとも約１０％、通常少なくとも約２０％、好ましくは少なくとも約３０％、若しくはより好ましくは少なくとも約５０％の症状の発症時間を指す。癌治療における抗体の使用の有効性は、腫瘍量の変化に基づいて評価することができる。腫瘍縮

小（客観的応答）及び疾患進行の発生までの時間の両方が、癌臨床試験における重要なエンドポイントである。標準化された奏効基準（ＲＥＣＩＳＴ（Ｒｅｓｐｏｎｓｅ Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ Ｃｒｉｔｅｒｉａ ｉｎ Ｓｏｌｉｄ Ｔｕｍｏｒｓ）として知られている）が２０００年に発表された。２００９年に更新版（ＲＥＣＩＳＴ １．１）が公開された。ＲＥＣＩＳＴ基準は、典型的には、客観的応答が主要試験エンドポイントである臨床試験、並びに安定疾患、腫瘍進行又は進行までの時間分析の評価が行われる試験で使用されるが、これは、これらの転帰測定が、解剖学的腫瘍負荷及び試験の経過にわたるその変化の評価に基づくためである。特定の対象に対する有効量は、処置される状態、対象の全体的な健康状態、投与の方法、経路及び用量並びに副作用の重症度等の因子に応じて変動し得る。組み合わせた場合、有効量は成分の組み合わせに比例し、効果は個々の成分のみに限定されない。

【０１５５】

別途定義されない場合、「完全奏効」（ＣＲ）は、全ての標的病変の消失と定義される。病理学的リンパ節はいずれも（標的であろうと非標的であろうと）、短軸が１０ｍｍ未満に減少しなければならない。「部分奏効」（ＰＲ）の場合、ベースラインの合計直径を基準として、標的病変の直径の合計の少なくとも３０％の減少に達しなければならない。

【０１５６】

「進行性疾患」（ＰＤ）については、試験中の最小合計を参照として採用して、標的病変の直径の合計の少なくとも２０％の増加（試験中の最小である場合、これはベースライン合計を含む）。２０％の相対的増加に加えて、合計はまた、少なくとも５ｍｍの絶対的増加を示さなければならない。「安定疾患」（ＳＤ）では、試験中の最小合計直径を基準として、ＰＲに適格となるのに十分な収縮も、ＰＤに適格となるのに十分な増加も観察されない。

【０１５７】

本明細書中に記載される本発明の抗体の治療的利益を明らかにするために使用され得る二次的結果測定値には、下記が含まれる：「客観的奏効率」（ＯＲＲ）が、完全奏効（ＣＲ）又は部分奏効（ＰＲ）を達成する対象の割合として定義される。「無増悪生存期間」（ＰＦＳ）は、抗体の最初の投与日から疾患の進行又は死のいずれかが最初に起こるまでの時間として定義される。「全生存」（ＯＳ）は、疾患と診断された患者が依然として生存している、疾患の診断日又は処置開始日のいずれかからの時間の長さとして定義される。「全奏効期間」（ＤＯＲ）は、参加者の最初のＣＲ又はＰＲから疾患進行の時点までの時間と定義される。「応答深度」（ＤｐＲ）は、ベースライン腫瘍負荷量と比較して最大応答点で観察された腫瘍縮小のパーセンテージとして定義される。ＯＲＲ及びＰＦＳの両方の臨床エンドポイントは、上記のＲＥＣＩＳＴ １．１基準に基づいて決定することができる。

【０１５８】

非ヒト対象が分析される場合、治療有効性及び利益を決定するための前述のパラメータは、本明細書の他の箇所で議論されるように適合されなければならない（実施例１２ｆｆを参照）。

【０１５９】

本発明による典型的な「対象」には、ヒト対象及び非ヒト対象が含まれる。対象は、マウス、ラット、ネコ、イヌ、霊長類及び／又はヒト等の哺乳動物であり得る。

【０１６０】

抗体、断片又はコンジュゲートの「医薬組成物」（また「治療製剤」）は、所望の純度を有する抗体を、任意の生理学的に許容され得る担体、賦形剤又は安定剤と、例えばＲｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（１８ｔｈ ｅｄ．；Ｍａｃｋ Ｐｕｂ．Ｃｏ．：Ｅａｔｏｎ，Ｐａ．，１９９０）に従って、例えば凍結乾燥製剤又は水溶液の形態で混合することによって調製することができる。許容され得る担体、賦形剤、又は安定剤は、使用される投与量及び濃度でレシピエントに対して非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸等の緩衝液；アスコルビン酸及びメチオ

ニンを含む酸化防止剤；防腐剤（例えばオクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル又はベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えばメチル又はプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；及びｍ－クレゾール）；低分子量（約１０残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、リジン等のアミノ酸；単糖類、二糖類、及びグルコース、マンノース、又はデキストリンを含む他の炭水化物；ＥＤＴＡ等のキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトール等の糖；ナトリウム等の塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Ｚｎ－タンパク質複合体）；及び／又は非イオン性界面活性剤、例えばＴｗｅｅｎ（登録商標）、Ｐｌｕｒｏｎｉｃ（登録商標）又はポリエチレングリコール（ＰＥＧ）を含む。

【０１６１】

「宿主細胞」は、ベクターを受信し、維持し、再生し、増幅するために使用される細胞である。宿主細胞を使用して、ポリペプチド、例えばベクターによってコードされる抗体又はその断片を発現させることもできる。ベクターに含まれる核酸は、宿主細胞が分裂する際に複製され、核酸を増幅する。好ましい宿主細胞は、ＣＨＯ細胞又はＨＥＫ細胞等の哺乳動物細胞である。更に好ましい宿主細胞は、ラット骨髄腫ＹＢ２／０細胞である。

【０１６２】

「内因性標的発現を有する細胞」は、生理学的状況又は病的状況に匹敵するレベルで標的タンパク質を発現する細胞である。典型的には、過剰発現のために操作された細胞は、はるかに高いレベルで標的タンパク質を発現する。

【０１６３】

細胞、構造、タンパク質、抗体又はマーカーの文脈における「腫瘍内」、「腫瘍内」、「腫瘍浸潤」又は「腫瘍」という用語は、腫瘍組織内でのそれらの局在化を指す。

【０１６４】

特定のマーカー又はタンパク質について「陽性」又は「＋」である細胞は、そのマーカー又はタンパク質の実質的な発現を特徴とする細胞である。マーカー又はタンパク質の発現は、例えば、異なる細胞集団を定義するために、当技術分野で公知のように決定及び定量することができる。（免疫）細胞集団の特徴付けのために、マーカー発現は、ＦＡＣＳによって、又は本明細書に記載される任意の他の技術を使用して決定することができる。

【０１６５】

「白血球」は、ＣＤ４５を発現する免疫細胞である。本明細書で使用される場合、「ＣＤ４５＋細胞」は、全ての白血球を指す。ＣＤ４５は、免疫細胞と非免疫細胞とを区別するためのマーカーとして使用することができる。

【０１６６】

「リンパ球」という用語は、組織特異的及び特殊化された品種を含む、全ての未成熟、成熟、未分化、及び分化した白色リンパ球集団を指す。それは、非限定的な例として、Ｂ細胞、Ｔ細胞、ＮＫＴ細胞及びＮＫ細胞を包含する。いくつかの実施形態において、リンパ球は、プレＢ細胞、前駆Ｂ細胞、初期プロＢ細胞、後期プロＢ細胞、大型プレＢ細胞、小型プレＢ細胞、未成熟Ｂ細胞、成熟Ｂ細胞、形質Ｂ細胞、メモリーＢ細胞、Ｂ－１細胞、Ｂ－２細胞、及びアネルギーＡＮ１／Ｔ３細胞集団を含む全てのＢ細胞系統を含む。

【０１６７】

「Ｔ細胞」は、ＴＣＲαβ、ＣＤ３、及びＣＤ８又はＣＤ４を発現する免疫細胞である。本明細書で使用される場合、この用語は、ナイーブＴ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞、制御性Ｔ細胞、メモリーＴ細胞、活性化Ｔ細胞、アネルギーＴ細胞、耐性Ｔ細胞、キメラＢ細胞、及び抗原特異的Ｔ細胞、並びに当技術分野で公知の更なるＴ細胞集団を含む。いくつかの実施形態において、細胞表面上のＴ細胞受容体（ＴＣＲ）の存在は、Ｔ細胞を他のリンパ球と区別する。

【０１６８】

「ＣＤ８＋Ｔ細胞」（また「細胞傷害性Ｔ細胞」、「ＴＣ」、「細胞傷害性Ｔリンパ球」、「ＣＴＬ」、「Ｔ－キラー細胞」、「細胞溶解性Ｔ細胞」、「ＣＤ８＋Ｔ細胞」又は「キラーＴ細胞」）は、ＣＤ３、ＣＤ４５及びＣＤ８を発現するＴ細胞である。ＣＤ８＋Ｔ細胞は、癌細胞、（特にウイルスに）感染した細胞、又は他の方法で損傷した細胞を死滅させることができる。

【０１６９】

「ＣＤ４＋Ｔ細胞」（「Ｔヘルパー細胞」、「Ｔｈ細胞」もまた）は、ＣＤ３、ＣＤ４及びＣＤ４５を発現する免疫細胞である。Ｔヘルパー細胞のいくつかのサブセット、例えば、限定されないが、Ｔｈ１、Ｔｈ２及びＴｈ１７が存在する。ＣＤ４＋Ｔ細胞は、免疫応答を抑制又は調節するのに役立つ。ＣＤ４＋Ｔ細胞は、Ｂ細胞抗体クラススイッチング、細胞傷害性Ｔ細胞の活性化及び増殖、並びにマクロファージ等の食細胞の殺菌活性を最大化するのに不可欠である。

【０１７０】

本明細書で使用される場合、「Ｔｒｅｇ細胞」（また「Ｔｒｅｇ」、「制御性Ｔ細胞」、「Ｔ制御性細胞」、「サプレッサーＴ細胞」）という用語は、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ４５、及びＦｏｘＰ３を発現し、更に高レベルのＣＤ２５及び低レベルのＣＤ１２７を発現する免疫細胞を指す。Ｔｒｅｇ細胞の同定は、本明細書の他の箇所に記載されるように実施され得る。Ｔｒｅｇ細胞は、典型的には、高レベルのＣＴＬＡ－４、ＧＩＴＲ及びＬＡＧ－３も発現する。文献では、Ｔｒｅｇは更に、メモリーマーカーＣＤ４５ＲＯに基づいて分類されている。

【０１７１】

生理学的条件下では、Ｔｒｅｇ細胞は免疫寛容を維持する。免疫応答の間、Ｔｒｅｇ細胞はＴ細胞媒介性免疫を停止させ、胸腺内の負の選択を脱した自己反応性Ｔ細胞を抑制する。Ｔｒｅｇ細胞はまた、ＮＫ細胞及びＢ細胞等の他の種類の免疫細胞を抑制することができる。適応Ｔｒｅｇ細胞（Ｔｈ３又はＴｒ１細胞と呼ばれる）は、免疫応答中に生成されると考えられている。

【０１７２】

Ｔｒｅｇ細胞は更に、抗腫瘍免疫を抑制することによって免疫回避において重要な役割を果たし、それによって免疫寛容の環境を提供する。癌細胞を認識するＴ細胞は腫瘍内に多数存在することが多いが、それらの細胞傷害機能は近くの免疫抑制細胞によって抑制される。Ｔｒｅｇは、多くの異なる癌において豊富であり、腫瘍微小環境において高度に濃縮されており、腫瘍進行における役割について周知である。

【０１７３】

「活性化Ｔｒｅｇ細胞」は、ＣＤ４、ＣＤ４５、ＦｏｘＰ３、ＣＤ６９及びＣＣＲ８を発現し、更にＣＤ２５の発現が高く、ＣＤ１２７の発現が低い。ＣＤ６９は、Ｔ細胞活性化マーカーである。

【０１７４】

「ＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞」又は「ＣＣＲ８＋制御性Ｔ細胞」は、ＣＣＲ８を発現するＴｒｅｇである。

【０１７５】

「ＣＤ４ｃｏｎｖ細胞」は、従来のＣＤ４＋、ＣＤ２５－Ｔ細胞である。

【０１７６】

「ガンマデルタＴ細胞」は、その表面に特徴的なＴ細胞受容体ＴＣＲγδを発現するＴ細胞である。ガンマデルタＴ細胞もＣＤ３を発現する。

【０１７７】

「Ｂ細胞」は、ＣＤ１９を発現する免疫細胞であり、成熟Ｂ細胞はＣＤ２０及びＣＤ２２を発現する。Ｂ細胞は、ＣＤ４０を介して活性化されると分化を受け、体細胞高頻度変異及び免疫グロブリンクラススイッチの増強が起こり、成熟Ｂ細胞又は形質細胞（Ａｂを分泌することができる）をもたらす。Ｂ細胞は、適応免疫系の液性免疫に関与し、抗原提示細胞である。

【０１７８】
「マクロファージ」は、低ＣＤ１４、高ＣＤ１６、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ６８、ＣＤ１６３、及びＣＤ２０６を発現する免疫細胞である。マクロファージは、食作用によって細胞残屑、異物、微生物又は癌細胞を貪食して消化する。食作用に加えて、マクロファージは自然免疫において重要な役割を果たし、他の免疫細胞を動員することによって適応免疫を開始するのにも役立つ。例えば、マクロファージは、Ｔ細胞への抗原提示細胞として重要である。炎症を促進するマクロファージはＭ１マクロファージと呼ばれ、炎症を減少させ、組織修復を促進するマクロファージはＭ２マクロファージと呼ばれる。
【０１７９】
本明細書で使用される場合、「Ｍ１マクロファージ」は、ＡＣＯＤ１を発現するマクロファージのサブセットである。Ｍ１マクロファージは、炎症促進性、殺菌性及び食作用性の機能を有する。
【０１８０】
本明細書で使用される場合、「Ｍ２マクロファージ」は、ＭＲＣ１（ＣＤ２０６）を発現するマクロファージのサブセットである。Ｍ２マクロファージは抗炎症性インターロイキンを分泌し、創傷治癒において役割を果たし、血行再建及び再上皮化に必要である。腫瘍関連マクロファージは主にＭ２表現型であり、腫瘍増殖を積極的に促進するようである。
【０１８１】
「樹状細胞」（ＤＣ）は、骨髄由来白血球であり、最も強力な種類の抗原提示細胞である。ＤＣは、抗原を捕捉及び処理し、タンパク質をＴ細胞によって認識される主要組織適合遺伝子複合体（ＭＨＣ）分子上に提示されるペプチドに変換するように特殊化されている。本明細書で定義されるように、ＤＣは、ＣＤ１ｃ、ＣＤ１４、ＣＤ１６、ＣＤ１４１、ＣＤ１１ｃ及びＣＤ１２３の発現を特徴とする。樹状細胞の異なる亜集団が存在する。
【０１８２】
ヒトでは、ＤＣ１は免疫原性であるが、ＤＣ２細胞は寛容原性である。成熟ＤＣはＣＤ８３を発現し、形質細胞様ＤＣはＣＤ１２３を発現する。
【０１８３】
「ＮＫ細胞」（ナチュラルキラー細胞でもある）は、ＣＤ４５、ＣＤ１６、ＣＤ５６、ＮＫＧ２Ｄを発現するがＣＤ３陰性である免疫細胞である。ＮＫ細胞は、ＭＨＣクラス１のマーカーを欠く「自己」細胞を死滅させるための活性化を必要としない。ＮＣＲ１（ＣＤ３３５又はＮＫｐ４６とも呼ばれる）は、ＮＫ細胞上及びＮＫＴ細胞のサブセット上に発現される。
【０１８４】
「ナチュラルキラーＴ（ＮＫＴ）細胞」は、Ｔ細胞とナチュラルキラー細胞の両方の特性を共有するＴ細胞の異種グループである。
【０１８５】
「ｉＮＫＴ細胞」（また「インバリアントナチュラルキラーＴ細胞」）は、インバリアントαβ　ＴＣＲ（Ｖα２４－Ｊα１８、ＣＤ２４ｌｏ）、ＣＤ４４ｈｉ、ＮＫ１．１（マウス）、及びＮＫＧ２Ｄを発現する。インバリアントＴＣＲは、非多型ＭＨＣクラスＩ様分子ＣＤ１ｄによって提示される糖脂質抗原を認識する。これらの細胞は、大量のサイトカイン、すなわちＩＦＮｇを迅速に産生することによって免疫応答に影響を及ぼし得る。
【０１８６】
当技術分野で知られているように、「エフェクター細胞」は、刺激後の免疫応答を能動的に支援する免疫細胞である。本明細書で使用される場合、エフェクター細胞は、Ｆｃγ受容体を発現し、したがってＡＤＣＣ又はＡＤＣＰを媒介することができる免疫細胞を指す。エフェクター細胞の非限定的な例は、単球、好中球、肥満細胞、並びに好ましくはマクロファージ及びナチュラルキラー細胞である。
【０１８７】

「三次リンパ系構造」は、ＬＴｔａ、ＬＴｔｂ、Ｃｘｃｒ５及びＣｘｃｌ１３の発現増加を特徴とする腫瘍内構造である。

【０１８８】

本明細書で使用される「キメラ抗原受容体」又は「ＣＡＲ」という用語は、免疫エフェクター細胞上に発現され、抗原に特異的に結合するように操作された人工Ｔ細胞表面受容体を指す。ＣＡＲは、養子細胞移入を伴う治療として使用され得る。単球を患者から取り出し（血液、腫瘍又は腹水）、特定の形態の抗原に特異的な受容体を発現するように修飾する。いくつかの実施形態において、ＣＡＲは腫瘍関連抗原に特異的に発現されている。

【０１８９】

ＣＡＲはまた、細胞内活性化ドメイン、膜貫通ドメイン及び腫瘍関連抗原結合領域を含む細胞外ドメインを含み得る。いくつかの態様において、ＣＡＲは、ＣＤ３－ゼータ膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインに融合した一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）由来モノクローナル抗体の融合物を含む。ＣＡＲ設計の特異性は、受容体のリガンド（例えば、ペプチド）に由来し得る。いくつかの実施形態において、ＣＡＲは、腫瘍関連抗原に特異的なＣＡＲを発現する単球／マクロファージをリダイレクトすることによって癌を標的化することができる。

【０１９０】

投与スキームは、当技術分野で公知のように、例えば毎日（ＱＤ）、２日毎（Ｑ２Ｄ）又は３日毎（Ｑ３Ｄ）と略記される。

【０１９１】

実施形態

抗原及び抗体結合ケモカイン受容体

態様１－抗原

第１の態様によれば、７回膜貫通受容体のチロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）を含む単離された硫酸化ポリペプチドが提供される。チロシンリッチドメインは、保存されたＮ末端ドメインであり、ＣＸＣ及びＣＣケモカイン受容体等の７回膜貫通受容体を特徴付ける（実施例１を参照）。本明細書で使用される場合、ＴＲＤという用語は、Ｎ末端から数えて第１のシステインのＮ末端に位置するＣＸＣ又はＣＣケモカイン受容体のアミノ酸又はタンパク質配列を指す。チロシンに加えて、ＴＲＤは、典型的には、アスパラギン酸等の負に荷電したアミノ酸残基を含む。全てのＣＣ及びＣＸＣケモカイン受容体についてのＴＲＤを実施例４、マウス、サル及びヒトについての表４．１に列挙する。

【０１９２】

チロシン硫酸化は、全ての多細胞生物において起こる遍在的な翻訳後タンパク質修飾である。これは、補因子ＰＡＰＳ（３’－ホスホアデノシン５’－ホスホスルフェート）からタンパク質基質中のコンテキスト依存性チロシンに硫酸を転移するゴルジ常在酵素であるチロシルタンパク質スルホトランスフェラーゼ（ＴＰＳＴ）１及び２によって触媒される。現在、ごく一部の硫酸化タンパク質しか知られておらず、生物学的な硫酸化機構及び特定の修飾位置の理解はまだ進行中である（実施例４を参照）。グリコシル化、リン酸化、アシル化、アデニル化、ファルネシル化、ユビキチン化、及び硫酸化等の翻訳後修飾は、生体系のタンパク質において頻繁であるが、抗体生成は、典型的には、修飾されていない標的配列に基づいて行われる。

【０１９３】

本発明者らは、抗体生成のための独特のアプローチを開発し、驚くべきことに、第１の態様による合成的に硫酸化されたポリペプチドを使用して、本明細書の他の箇所で論じられるように、ケモカイン受容体自体の抗体生成の成功率と、また治療的使用のための優れた機能的特性を有するケモカイン受容体抗体の成功率との両方を増加させることができることを見出した。翻訳後修飾として硫酸化チロシンの配列非依存的検出のために設計された研究抗体はまれであるので、非常に特異的なケモカイン受容体抗体の成功率の増加は特に驚くべきことであった。

【０１９４】

７回膜貫通受容体は、ＴＲＤを特徴とするケモカイン受容体を発現する任意の種、例えばヒト、サル、カニクイザル（カニクイザル）、アカゲザル（アカゲザル）、げっ歯類、マウス、ラット、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコ及びラクダに由来し得る。

【０１９５】

第１の態様のいくつかの第１の実施形態によれば、７回膜貫通受容体のチロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）を含む単離されたポリペプチドであって、ＴＲＤのチロシン残基の少なくとも２５％、少なくとも５０％、又は少なくとも７５％が硫酸化されていることを更に特徴とする、単離されたポリペプチドが提供される。

【０１９６】

例えば、非常に成功した抗体キャンペーンでは、ヒト又はカニクイザルＣＣＲ８のＴＲＤは位置Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７で硫酸化され、Ｙ１６は省略された、すなわちＴＲＤ中のチロシンの７５％が硫酸化された（表６．１）。別の例では、ヒトＣＣＲ４のＴＲＤを１９及び２２の位置で硫酸化し、オフターゲット結合に使用した、すなわちチロシンの５０％が硫酸化されていた（表８．１）。更に別のアプローチでは、マウスＣＣＲ４のＴＲＤを位置２２で硫酸化し、オフターゲット結合に使用した、すなわちＴＲＤ中のチロシンの２５％が硫酸化されていた（表６．１）。

【０１９７】

表４．１は、チロシン硫酸化の好ましい位置を含む硫酸化ペプチドのリストを示す。理論に拘束されるものではないが、本発明者らは、チロシン硫酸化の形態の更なる電荷の導入が、負電荷の特定のパターンを認識するように抗体を調整すると考えている。この認識は、少なくとも抗体のＨＣＤＲ３において、チロシン及び正に荷電したアミノ酸のパーセンテージの増加を必要とするようであり、すなわち、本発明による単離された硫酸化ポリペプチドの使用はまた、抗体の構造組成、特にＨＣＤＲ３のアミノ酸組成に影響を及ぼした（実施例９を参照）。

【０１９８】

第１の態様による第１態様と同じであっても同じでなくてもよい、第１態様のいくつかの第２の実施形態によれば、７回膜貫通受容体がヒト、カニクイザル又はマウスである、単離されたポリペプチドが提供される。

【０１９９】

これらの第２の実施形態のいくつかにおいて、７回膜貫通受容体はマウスである。これらの第２の実施形態のいくつかの好ましい態様において、７回膜貫通受容体はヒト及び／又はカニクイザルである。これらの第２の実施形態のいくつかの好ましい態様において、７回膜貫通受容体はヒトである。これらの第２の実施形態のいくつかにおいて、７回膜貫通受容体はカニクイザルである。

【０２００】

第１の態様による第１及び／又は第２の実施形態と同じであっても同じでなくてもよい、第１の態様のいくつかの第３の実施形態によれば、単離されたポリペプチドが提供され、７回膜貫通受容体はケモカイン受容体であり、好ましくは、

ａ）ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９若しくはＣＣＲ１０等のＣＣケモカイン受容体、

ｂ）ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５若しくはＣＸＣＲ６等のＣＸＣケモカイン受容体、又は

ｃ）ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１

である。

【０２０１】

これらの第３の実施形態のいくつかにおいて、７回膜貫通受容体はＣＣケモカイン受容体又はＣＸＣケモカイン受容体である。これらの第３の実施形態のいくつかにおいて、７回膜貫通受容体は、ＣＣケモカイン受容体、例えばＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９又はＣＣＲ１０である。これらの第３の実施形態のいくつかの好ましい態様において、７回膜貫通受容体はＣＣＲ８又

はＣＣＲ４である。これらの第３の実施形態のいくつかの非常に好ましいものでは、７回膜貫通受容体はＣＣＲ８である。これらの第３の実施形態のいくつかにおいて、７回膜貫通受容体は、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５又はＣＸＣＲ６等のＣＸＣケモカイン受容体である。これらの第３の実施形態のいくつかにおいて、７回膜貫通受容体はＣＸ３ＣＲ１又はＣＸＣＲ１である。

【０２０２】

第１の態様のいくつかの好ましい実施形態において、ヒト又はカニクイザルの７回膜貫通受容体のＴＲＤを含む単離されたポリペプチドであって、ＴＲＤのチロシン残基の少なくとも２５％、少なくとも５０％、又は少なくとも７５％が硫酸化されており、７回膜貫通受容体がＣＣケモカイン受容体又はＣＸＣケモカイン受容体であり、好ましくは７回膜貫通受容体がＣＣＲ８又はＣＣＲ４であることを更に特徴とする、単離されたポリペプチドが提供される。

【０２０３】

第１の態様の第３の実施形態のいくつかの実施形態Ａによれば、単離された硫酸化ポリペプチドは、以下に記載の配列を含むか、又は少なくとも９０％、９５％若しくは９８％の配列同一性を有する配列を含む：

ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号１（ＣＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｂ）好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号７（ＣＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｃ）好ましくはＹ１６及び／又はＹ１７が硫酸化されている、配列番号１３（ＣＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｄ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号１９（ＣＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｅ）好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５のうちの２つ、３つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号２５（ＣＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｆ）好ましくはＹ１８、Ｙ２６及びＹ２７の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３１（ＣＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｇ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号３７（ＣＣＲ７＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｈ）好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４３（ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｉ）少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６１（ＣＣＲ９＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｊ）好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号６７（ＣＣＲ１０＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｋ）好ましくはＹ２７が硫酸化されている、配列番号７３（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｌ）好ましくはＹ２３及び／又はＹ２５が硫酸化されている、配列番号７９（ＣＸＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｍ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８５（ＣＸＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｎ）好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９１（ＣＸＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｏ）好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号９７（ＣＸＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｐ）好ましくはＹ６及びＹ１０の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０３（ＣＸＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は

ｑ）好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている、配列番号１５７（ＣＸ３ＣＲ１

＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
ｒ）好ましくは少なくともＹ２７が硫酸化されている、配列番号１６３（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）。
【０２０４】
第１の態様の第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｂによれば、単離された硫酸化ポリペプチドは、以下に記載の配列を含むか、又は少なくとも９０％、９５％若しくは９８％の配列同一性を有する配列を含む：
ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号３（ＣＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｂ）好ましくは少なくともＹ３７及び／又はＹ３９が硫酸化されている、配列番号９（ＣＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｃ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１５（ＣＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｄ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２１（ＣＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｅ）好ましくはＹ１０、Ｙ１２及びＹ１６のうちの２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号２７（ＣＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｆ）好ましくはＹ１３、Ｙ１８及びＹ１９の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３３（ＣＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、
ｇ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化され、Ｙ２０が硫酸化されていてもよい、配列番号３９（ＣＣＲ７＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｈ）好ましくはＹ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４５（ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｉ）好ましくは少なくともＹ２８が硫酸化されており、好ましくはＹ１９も硫酸化されている、配列番号６３（ＣＣＲ９＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｊ）好ましくはＹ１４、Ｙ１７及びＹ２２の少なくとも１つ、２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号６９（ＣＣＲ１０＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｋ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号７５（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｌ）好ましくはＹ２４が硫酸化されている、配列番号８１（ＣＸＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｍ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８７（ＣＸＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｎ）好ましくは少なくともＹ２３、Ｙ１３及び／又はＹ１４が硫酸化されている、配列番号９３（ＣＸＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｏ）好ましくは少なくともＹ３及び／又はＹ１４及び／又はＹ２０及び／又はＹ２６が硫酸化されている、配列番号９９（ＣＸＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｐ）好ましくはＹ１１及びＹ１５の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０５（ＣＸＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｑ）好ましくは少なくともＹ１５が硫酸化されている、配列番号１５９（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｒ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号１６５（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）。
【０２０５】
第１の態様の第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｃによれば、単離された硫酸化ポリペプチドは、以下に記載の配列を含むか、又は少なくとも９０％、９５％若しくは９８％の配列同一性を有する配列を含む：
ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号２（ＣＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｂ）好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号８（ＣＣＲ２＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）、又は
ｃ）好ましくはＹ１６が硫酸化されている、配列番号１４（ＣＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｄ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２０（ＣＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｅ）好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５のうちの２つ、３つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号２６（ＣＣＲ５＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）、又は
ｆ）好ましくはＹ２３、Ｙ３１及びＹ３２の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３２（ＣＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｇ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号３８（ＣＣＲ７＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｈ）好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４４（ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｉ）好ましくは少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６２（ＣＣＲ９＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｊ）好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号６８（ＣＣＲ１０＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｋ）好ましくはＹ１４及びＹ２８の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号７４（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｌ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号８０（ＣＸＣＲ２＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｍ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８６（ＣＸＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｎ）好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９２（ＣＸＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｏ）好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号９８（ＣＸＣＲ５＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｐ）好ましくはＹ４、Ｙ７及びＹ３９の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号１０４（ＣＸＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｑ）好ましくは少なくともＹ２０が硫酸化されている、配列番号１５８（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
ｒ）好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている配列番号１６４（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）。

【０２０６】

第１の態様による第１、第２及び／又は第３実施形態と同じであっても同じでなくてもよい、第１の態様のいくつかの第４の実施形態において、単離されたポリペプチドは、ＴＲＤドメイン及びＬＩＤドメインを含む７回膜貫通受容体のＮ末端を含み、好ましくはＴＲＤドメインとＬＩＤドメインとの間の少なくともシステインが除去されているか、又は異なるアミノ酸に変化している。

【０２０７】

ケモカイン受容体の細胞外ドメインは、４つの領域へと構成され得る：
（ｉ）Ｎ末端ドメインであって、
（ａ）膜遠位チロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）、
（ｂ）システイン、及び
（ｃ）ＬＩＤドメインに細分され得るＮ末端ドメイン、
（ｉｉｉ）細胞外ドメイン１（ＥＣＬ１）、
（ｉｉｉ）細胞外ドメイン２（ＥＣＬ２）、並びに
（ｉｖ）細胞外ドメイン３（ＥＣＬ３）。

【０２０８】
本発明によるポリペプチドのいくつかは、例えば凝集の傾向が高いため、取り扱いが困難である。理論に拘束されるものではないが、本発明者らは、高い「粘着性」は、荷電アミノ酸及び荷電硫酸残基の数の増加に起因すると考える。ケモカイン受容体のＮ末端を含むポリペプチドの場合、凝集特性は、ＴＲＤドメインとＬＩＤドメインとの間のシステインの除去又はアミノ酸交換によって改善され得る。最適な結果は、システインをセリンに変化させることによって得られた（実施例５、表４．１）。
【０２０９】
第１の態様による第４の実施形態のいくつかでは、システインは省略されてもよく、ＴＲＤとＬＩＤは直接接続される。第１の態様による第４の実施形態のいくつかの異なるものでは、システインは、異なる極性非荷電アミノ酸で置き換えられてもよい。第１の態様による第４の実施形態のいくつかの好ましい実施形態において、システインがセリンで置き換えられる（表４．１を参照）。第１の態様による第４の実施形態のいくつかでは、システインは、少なくとも１つの異なるアミノ酸によって置換され得る。
【０２１０】
第１の態様の第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａによれば、単離された硫酸化ポリペプチドは、以下に記載の配列を含むか、又は少なくとも９０％、９５％若しくは９８％の配列同一性を有する配列を含む：
ａ）、少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号４（ＣＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｂ）少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号１０（ＣＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｃ）Ｙ１６及び／又はＹ１７が硫酸化されている、配列番号１６（ＣＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｄ）少なくともＹ２２が硫酸化されており、好ましくは更にＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２２（ＣＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｅ）Ｙ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５のうちの２つ、３つ又は全てが硫酸化されている、配列番号２８（ＣＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｆ）Ｙ１８、Ｙ２６及びＹ２７の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３４（ＣＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｇ）Ｙ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号４０（ＣＣＲ７＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｈ）Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４６（ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｉ）少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６４（ＣＣＲ９＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｊ）Ｙ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号７０（ＣＣＲ１０＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｋ）Ｙ２７が硫酸化されている、配列番号７６（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｌ）Ｙ２３及び／又はＹ２５が硫酸化されている、配列番号８２（ＣＸＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｍ）Ｙ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８８（ＣＸＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｎ）少なくともＹ１２及び／又はＹ２１は硫酸化されている、配列番号９４（ＣＸＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｏ）Ｙ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号１００（ＣＸＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｐ）Ｙ６及びＹ１０の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０６（ＣＸＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｑ）好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている、配列番号１６０（ＣＸ３ＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｒ）好ましくは少なくともＹ２７が硫酸化されている、配列番号１６６（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）。
【０２１１】
第１の態様の第４の実施形態のいくつかの実施形態Ｂによれば、単離された硫酸化ポリペプチドは、以下に記載の配列を含むか、又は少なくとも９０％、９５％若しくは９８％の配列同一性を有する配列を含む：
ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号６（ＣＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｂ）好ましくは少なくともＹ３７及び／又はＹ３９が硫酸化されている、配列番号１２（ＣＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｃ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１８（ＣＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｄ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２４（ＣＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｅ）好ましくはＹ１０、Ｙ１２及びＹ１６のうちの２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３０（ＣＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｆ）好ましくはＹ１３、Ｙ１８及びＹ１９の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３６（ＣＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｇ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化され、Ｙ２０が硫酸化されていてもよい、配列番号４２（ＣＣＲ７＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｈ）好ましくはＹ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４８（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｉ）好ましくは少なくともＹ２８が硫酸化されており、好ましくはＹ１９も硫酸化されている、配列番号６６（ＣＣＲ９＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｊ）好ましくはＹ１４、Ｙ１７及びＹ２２の少なくとも１つ、２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号７２（ＣＣＲ１０＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｋ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号７８（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｌ）好ましくはＹ２４が硫酸化されている、配列番号８４（ＣＸＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｍ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号９０（ＣＸＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｎ）好ましくは少なくともＹ２３及び／又はＹ１４が硫酸化されている、配列番号９６（ＣＸＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｏ）好ましくは少なくともＹ３及び／又はＹ１４及び／又はＹ２０及び／又はＹ２６が硫酸化されている、配列番号１０２（ＣＸＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｐ）好ましくはＹ１１及びＹ１５の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０８（ＣＸＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｑ）好ましくは少なくともＹ１５が硫酸化されている、配列番号１６２（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｒ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号１６８（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）。
【０２１２】
第１の態様の第４の実施形態のいくつかの実施形態Ｃによれば、単離された硫酸化ポリペプチドは、以下に記載の配列を含むか、又は少なくとも９０％、９５％若しくは９８％の配列同一性を有する配列を含む：
ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号５（

ＣＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｂ）好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号１１（ＣＣＲ２＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｃ）好ましくはＹ１６が硫酸化されている、配列番号１７（ＣＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｄ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２３（ＣＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｅ）好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５のうちの２つ、３つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号２９（ＣＣＲ５＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｆ）好ましくはＹ２３、Ｙ３１及びＹ３２の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３５（ＣＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｇ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号４１（ＣＣＲ７＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｈ）好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４７（ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｉ）好ましくは少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６５（ＣＣＲ９＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｊ）好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号７１（ＣＣＲ１０＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｋ）好ましくはＹ１４及びＹ２８の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号７７（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｌ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号８３（ＣＸＣＲ２＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｍ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８９（ＣＸＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｎ）好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９５（ＣＸＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｏ）好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号１０１（ＣＸＣＲ５＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｐ）好ましくはＹ４、Ｙ７及びＹ３９の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号１０７（ＣＸＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｑ）好ましくは少なくともＹ２０又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１６１（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｒ）好ましくは少なくともＹ１４又はＹ２８が硫酸化されている、配列番号１６７（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）。

【０２１３】

　第１の態様の第４の実施形態のいくつかにおいて、単離された硫酸化ポリペプチドは、いかに記載する配列を含む：
　ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号４（ＣＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号５（ＣＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、若しくは配列番号６（ＣＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｂ）好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号１０（ＣＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）又は配列番号１１（ＣＣＲ２＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｃ）好ましくは少なくともＹ３７及び／又はＹ３９が硫酸化されている、配列番号１２（ＣＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｄ）好ましくはＹ１６及び／又はＹ１７が硫酸化されている、配列番号１６（ＣＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ末端）、又は
　ｅ）好ましくはＹ１６が硫酸化されている、配列番号１７（ＣＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｆ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１８（ＣＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｇ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、好ましくは更にＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２２（ＣＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号２３（ＣＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、若しくは配列番号２４（ＣＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｈ）好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５の２つ、３つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号２８（ＣＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）若しくは配列番号２９（ＣＣＲ５＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｉ）好ましくはＹ１０、Ｙ１２及びＹ１６のうちの２つ若しくは３つが硫酸化されている、配列番号３０（ＣＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｊ）好ましくはＹ１８、Ｙ２６及びＹ２７の少なくとも２つ若しくは３つが硫酸化されている、配列番号３４（ＣＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｋ）好ましくはＹ２３、Ｙ３１及びＹ３２の少なくとも２つ若しくは３つが硫酸化されている、配列番号３５（ＣＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｌ）好ましくはＹ１３、Ｙ１８及びＹ１９の少なくとも２つ若しくは３つが硫酸化されている、配列番号３６（ＣＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｍ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号４０（ＣＣＲ７＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）若しくは配列番号４１（ＣＣＲ７＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｎ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化され、Ｙ２０が硫酸化されていてもよい、配列番号４２（ＣＣＲ７＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｏ）好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号４６（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）若しくは配列番号４７（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｐ）好ましくはＹ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４８（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｑ）好ましくは少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６４（ＣＣＲ９＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）若しくは配列番号６５（ＣＣＲ９＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｒ）好ましくは少なくともＹ２８が硫酸化されており、好ましくはＹ１９も硫酸化されている、配列番号６６（ＣＣＲ９＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｓ）好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号７０（ＣＣＲ１０＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）若しくは配列番号７１（ＣＣＲ１０＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｔ）好ましくはＹ１４、Ｙ１７及びＹ２２の少なくとも１つ、２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号７２（ＣＣＲ１０＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｕ）好ましくはＹ２７が硫酸化されている、配列番号７６（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｖ）好ましくはＹ１４及びＹ２８の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号７７（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｗ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号７８（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｘ）好ましくはＹ２３及び／又はＹ２５が硫酸化されている、配列番号８２（ＣＸＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｙ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号８３（ＣＸＣＲ２＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｚ）好ましくはＹ２４が硫酸化されている、配列番号８４（ＣＸＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ａａ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている

、配列番号８８（ＣＸＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号８９（ＣＸＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、若しくは配列番号９０（ＣＸＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｂｂ）好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９４（ＣＸＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）若しくは配列番号９５（ＣＸＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｃｃ）好ましくは少なくともＹ２３及び／又はＹ１４が硫酸化されている、配列番号９６（ＣＸＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｄｄ）好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号１００（ＣＸＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）若しくは配列番号１０１（ＣＸＣＲ５＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｅｅ）好ましくは少なくともＹ３及び／又はＹ１４及び／又はＹ２０及び／又はＹ２６が硫酸化されている、配列番号１０２（ＣＸＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｆｆ）好ましくはＹ６及びＹ１０の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０６（ＣＸＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｇｇ）好ましくはＹ４、Ｙ７及びＹ３９の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号１０７（ＣＸＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｈｈ）好ましくはＹ１１及びＹ１５の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０８（ＣＸＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｉｉ）好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている、配列番号１６０（ＣＸ３ＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｊｊ）好ましくは少なくともＹ２０又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１６１（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｋｋ）好ましくは少なくともＹ１５が硫酸化されている、配列番号１６２（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｌｌ）好ましくは少なくともＹ２７が硫酸化されている、配列番号１６６（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）又は

ｍｍ）好ましくは少なくともＹ１４又はＹ２８が硫酸化されている、配列番号１６７（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｎｎ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号１６８（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）。

【０２１４】

第１の態様の第１、第２、第３又は第４の実施形態のいくつかにおいて、単離された硫酸化ポリペプチドは、以下に記載の配列又は以下と少なくとも９０％の配列同一性を有する配列を含む：

ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号１（ＣＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号４（ＣＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号２（ＣＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、配列番号５（ＣＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号３（ＣＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号６（ＣＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｂ）好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号７（ＣＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号１０（ＣＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号８（ＣＣＲ２＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１１（ＣＣＲ２＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｃ）好ましくは少なくともＹ３７及び／又はＹ３９が硫酸化されている、配列番号９（ＣＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１２（ＣＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｄ）好ましくはＹ１６及び／又はＹ１７が硫酸化されている、配列番号１３（ＣＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１６（ＣＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｅ）好ましくはＹ１６が硫酸化されている、配列番号１４（ＣＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１７（ＣＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｆ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１５（ＣＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１８（ＣＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｇ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、好ましくは更にＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号１９（ＣＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号２２（ＣＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号２０（ＣＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、配列番号２３（ＣＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号２１（ＣＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号２４（ＣＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｈ）好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５の２つ、３つ又は全てが硫酸化されている、配列番号２５（ＣＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号２８（ＣＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号２６（ＣＣＲ５＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）又は配列番号２９（ＣＣＲ５＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｉ）好ましくはＹ１０、Ｙ１２及びＹ１６のうちの２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号２７（ＣＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号３０（ＣＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｊ）好ましくはＹ１８、Ｙ２６及びＹ２７の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３１（ＣＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号３４（ＣＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｋ）好ましくはＹ２３、Ｙ３１及びＹ３２の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３２（ＣＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号３５（ＣＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｌ）好ましくはＹ１３、Ｙ１８及びＹ１９の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３３（ＣＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号３６（ＣＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｍ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号３７（ＣＣＲ７＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号４０（ＣＣＲ７＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号３８（ＣＣＲ７＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号４１（ＣＣＲ７＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｎ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化され、Ｙ２０が硫酸化されていてもよい、配列番号３９（ＣＣＲ７＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号４２（ＣＣＲ７＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｏ）好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４３（ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号４４（ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、配列番号４６（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）若しくは配列番号４７（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｐ）好ましくはＹ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４５（ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号４８（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｑ）好ましくは少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６１（ＣＣＲ９＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号６４（ＣＣＲ９＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号６２（ＣＣＲ９＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号６５（ＣＣＲ９＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｒ）好ましくは少なくともＹ２８が硫酸化されており、好ましくはＹ１９も硫酸化されている、配列番号６３（ＣＣＲ９＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号６６（ＣＣＲ９＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｓ）好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、

配列番号６７（ＣＣＲ１０＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号７０（ＣＣＲ１０＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号６８（ＣＣＲ１０＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号７１（ＣＣＲ１０＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｔ）好ましくはＹ１４、Ｙ１７及びＹ２２の少なくとも１つ、２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号６９（ＣＣＲ１０＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号７２（ＣＣＲ１０＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｕ）好ましくはＹ２７が硫酸化されている、配列番号７３（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号７６（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｖ）好ましくはＹ１４及びＹ２８の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号７４（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号７７（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｗ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号７５（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号７８（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｘ）好ましくはＹ２３及び／又はＹ２５が硫酸化されている、配列番号７９（ＣＸＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号８２（ＣＸＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｙ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号８０（ＣＸＣＲ２＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号８３（ＣＸＣＲ２＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｚ）好ましくはＹ２４が硫酸化されている、配列番号８１（ＣＸＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号８４（ＣＸＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ａａ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８５（ＣＸＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号８８（ＣＸＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号８６（ＣＸＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、配列番号８９（ＣＸＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号８７（ＣＸＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号９０（ＣＸＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｂｂ）好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９１（ＣＸＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号９４（ＣＸＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号９２（ＣＸＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号９５（ＣＸＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｃｃ）好ましくは少なくともＹ２３及び／又はＹ１４が硫酸化されている、配列番号９３（ＣＸＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号９６（ＣＸＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｄｄ）好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号９７（ＣＸＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号１００（ＣＸＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号９８（ＣＸＣＲ５＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１０１（ＣＸＣＲ５＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｅｅ）好ましくは少なくともＹ３及び／又はＹ１４及び／又はＹ２０及び／又はＹ２６が硫酸化されている、配列番号９９（ＣＸＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１０２（ＣＸＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｆｆ）好ましくはＹ６及びＹ１０の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０３（ＣＸＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１０６（ＣＸＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｇｇ）好ましくはＹ４、Ｙ７及びＹ３９の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号１０４（ＣＸＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１０７（ＣＸＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｈｈ）好ましくはＹ１１及びＹ１５の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０５（ＣＸＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１０８（ＣＸＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｉｉ）好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている、配列番号１５７（ＣＸ３ＣＲ

１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１６０（ＣＸ３ＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｊｊ）好ましくは少なくともＹ２０が硫酸化されている、配列番号１５８（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
　ｋｋ）好ましくは少なくともＹ２０又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１６１（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｌｌ）好ましくは少なくともＹ１５が硫酸化されている、配列番号１５９（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１６２（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｍｍ）好ましくは少なくともＹ２７が硫酸化されている、配列番号１６３（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１６６（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｎｎ）好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている配列番号１６４（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）、又は
　ｏｏ）好ましくは少なくともＹ１４又はＹ２８が硫酸化されている、配列番号１６７（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｐｐ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号１６５（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１６８（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）。

【０２１５】
　好ましくは、本態様による単離されたポリペプチドは、例えばリンカーを介して固定化される。固定は、適切なビーズ、粒子、タンパク質、又は固体支持体に限定されずに起こり得る。

【０２１６】
　態様２－単離されたポリペプチドを含むコンジュゲート
　本発明の第２の態様によれば、第１の態様による単離された硫酸化ポリペプチドを含むコンジュゲートが提供される。

【０２１７】
　例えば、コンジュゲートは、第１の態様の第１の実施形態によるポリペプチドを含み得る。例えば、コンジュゲートは、第１の態様の第２の実施形態によるポリペプチドを含み得る。例えば、コンジュゲートは、第１の態様の第３の実施形態によるポリペプチドを含み得る。例えば、コンジュゲートは、第１の態様の第３の実施形態のいくつかの実施形態Ａ、Ｂ、Ｃによるポリペプチドを含み得る。例えば、コンジュゲートは、第１の態様の第４の実施形態によるポリペプチドを含み得る。例えば、コンジュゲートは、第１の態様の第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａ、Ｂ、Ｃによるポリペプチドを含み得る。

【０２１８】
　例えば、単離された硫酸化ポリペプチドは、固定化又は回収のためにタグ又はリンカーに結合され得る。適切なタグは、当技術分野で公知のタグ、例えばビオチン（ストレプトアビジンに強くかつ非共有結合的に結合する）等の有機小分子、その誘導体、又はＦｌａｇタグ、ＨＡタグ、Ｍｙｃタグ若しくはＨｉｓタグ等の短いペプチド配列から選択される（表４．１又は実施例１０．１．２を参照）。いくつかの用途では、タグは、ヒト血清アルブミン（表４．１又は実施例１０．１．２を参照）等のタンパク質、又はＫＬＨ、ＯＶＡ若しくはＢＳＡ等の担体タンパク質、又はビーズ若しくは磁性粒子等のより大きな構造であり得る。好ましくは、タグは、ＴＲＤのＣ末端又はＮ末端又はケモカイン受容体のＮ末端を介して結合することができるが、ＴＲＤ内のリジン等の反応性残基又はアミノ酸側鎖を介して結合することもできる。いくつかの実施形態において、タグは、当技術分野で公知の任意のリンカーであり得るリンカーを介して結合される。適切なリンカーとしては、トリオキサトリデカン－コハク酸（Ｔｔｄｓ）リンカー（表４．１を参照）、β－アラニン、ＧＡＢＡ、ＡＥＡ、Ａｖａ、Ａｈｘ、ＰＥＧ２スペーサー、ＰＥＧ３スペーサー、ＰＥＧ４スペーサー、Ｏ１Ｐｅｎ、Ｏ２Ｏｃ又はＯ１Ｐｅｎ－Ｏ１が挙げられる。

【０２１９】
態様３－抗原産生方法
硫酸化ペプチドは、例えば、硫酸塩が酸性条件下で不安定であるため合成が困難であり得る（Ｈｏｕｂｅｎ－Ｗｅｙｌ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｖｏｌ．Ｅ ２２ｂ，Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ ａｎｄ Ｐｅｐｔｉｄｏｍｉｍｅｔｉｃｓ，４ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，ｓｅｃｔｉｏｎ ６．６．１．２ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ Ｓｕｌｆａｔｅｄ Ｔｙｒｏｓｉｎｅ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ ｗｉｔｈ Ｔｙｒｏｓｉｎｅ Ｏ－Ｓｕｌｆａｔｅ Ｓｙｎｔｈｏｎｓ，ｐ．４４０ ｆｆ．ｉｎ：Ｆｅｌｉｘ，Ａｒｔｈｕｒ ｅｔ ａｌ．：２００４）。
【０２２０】
第３の態様によれば、第１の態様による単離された硫酸化ポリペプチド又は第２の態様によるコンジュゲートの製造方法が提供され、該方法は、単離されたポリペプチドの合成及びそれぞれのチロシン残基の硫酸化を含む。
【０２２１】
第１の態様による単離されたポリペプチドの合成及びそれぞれのチロシン残基の硫酸化は、実施例５に記載されるように行われてもよく、又は当技術分野で公知の任意の他の方法に従って行われてもよい。第６．６．１章「Ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｖｏｌ．Ｅ ２２ｂ，Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ ａｎｄ Ｐｅｐｔｉｄｏｍｉｍｅｔｉｃｓ」において、Ｈｏｕｂｅｎ－Ｗｅｙｌは、硫酸化チロシンペプチドの合成のための様々な化学的アプローチを記載している。この章、特にこれらの方法は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０２２２】
例えば、合成は、その全体が本明細書に組み込まれる、Ｂｕｎｓｃｈｏｔｅｎ ｅｔ ａｌ．（Ｂｕｎｓｃｈｏｔｅｎ，Ａｎｔｏｎ，ｅｔ ａｌ．“Ａ ｇｅｎｅｒａｌ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｉｎｄｅｐｅｎｄｅｎｔ ｓｏｌｉｄ ｐｈａｓｅ ｍｅｔｈｏｄ ｆｏｒ ｔｈｅ ｓｉｔｅ ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ ｍｕｌｔｉｐｌｅ ｓｕｌｆａｔｅｄ－ｔｙｒｏｓｉｎｅ ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ ｐｅｐｔｉｄｅｓ．”Ｃｈｅｍｉｃａｌ ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎｓ ２１（２００９）：２９９－３００１．）によって以前に記載された配列非依存性固相法を使用して実施され得る。簡単に記載すると、ペプチドは、Ｆｍｏｃ－ｔＢｕ戦略に従って合成され、その後、硫酸化されるチロシン残基の選択的脱保護及び保護された硫酸基の導入が続く。硫酸化ペプチドの合成が完了すると、それは酸分解によって樹脂から切断され、硫酸保護基を除いて保護基が除去され、それにより、この工程中の（１又は複数の）硫酸基の望ましくない酸誘導除去が防止される。最後に、硫酸保護基をわずかに酸性の還元工程で除去して、硫酸基を触れないままにすることができる。
【０２２３】
Ｃｈｅｎ ｅｔ ａｌ．は、Ｆｍｏｃ保護されたフルオロ硫酸化チロシン（Ｙ（ＯＳＯ２Ｆ））が、Ｆｍｏｃベースの固相合成戦略によって目的のペプチドに組み込まれる、ｓＹ含有ペプチドへの短い効率的な一段階経路を報告した（その全体が本明細書に組み込まれる、Ｃｈｅｎ，Ｗｅｎｔａｏ，ｅｔ ａｌ．“Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ Ｓｕｌｆｏｔｙｒｏｓｉｎｅ－Ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ ｂｙ Ｉｎｃｏｒｐｏｒａｔｉｎｇ Ｆｌｕｏｒｏｓｕｌｆａｔｅｄ Ｔｙｒｏｓｉｎｅ Ｕｓｉｎｇ ａｎ Ｆｍｏｃ－Ｂａｓｅｄ Ｓｏｌｉｄ－Ｐｈａｓｅ Ｓｔｒａｔｅｇｙ．”Ａｎｇｅｗａｎｄｔｅ Ｃｈｅｍｉｅ １２８．５（２０１６）：１８６７－１８７０．を参照）。標準的な同時ペプチド－樹脂切断及び酸不安定性側鎖保護基の除去により、フルオロ硫酸化チロシンを含有する粗ペプチドが得られる。溶媒及び反応物質として働く塩基性エチレングリコールは、フルオロ硫酸化チロシンペプチドを高収率でスルホチロシンペプチドに変換する。
【０２２４】
ポリペプチドの全体的な硫酸化も同様に可能であり、例えば、三酸化硫黄－ピリジンを

使用する。本発明によれば、全てのチロシンを硫酸化しなければならない場合、又は部分的に硫酸化されたポリペプチドの「粗」混合物を更なる工程に使用する場合、この経路を使用することができる。さらに、硫酸化は、酵素的に、例えば天然硫酸化酵素又はその操作されたバージョンを使用する生体内変換反応で起こり得る。好ましくは、それぞれのチロシンの硫酸化は、化学的又は酵素的に起こり得る。好ましくは、単離されたポリペプチドの合成は、Ｆｍｏｃ－ｔＢｕ戦略を用いて行われる。

【０２２５】

第３の態様のいくつかの実施形態によれば、上記方法は、得られたポリペプチドを精製する工程を含む。精製は、例えばＨＰＬＣによって、例えばＣ１８カラムを使用して行われ得る。第３の態様のいくつかの実施形態によれば、上記方法は、上記ポリペプチドの分析的特徴付けを含む。限定されないが、分析的特徴付けは、分光法又は質量分析を使用して実施され得る。

【０２２６】

態様４－抗原／方法化合物の使用抗原の使用

第４の態様によれば、第１の態様による単離された硫酸化ポリペプチド又は第２の態様によるコンジュゲートの、抗体生成のための、抗原としての、又はオフターゲットパンニングのための、及び／又は抗体の特徴付けのための使用が提供される。例えば、第１の態様による単離された硫酸化ポリペプチド又は第２の態様によるコンジュゲートは、完全ヒト抗体又はその断片の生成に使用することができる。例えば、第１の態様による単離された硫酸化ポリペプチド又は第２の態様によるコンジュゲートは、交差反応性抗体の作製に使用することができる。

【０２２７】

第４の態様によるいくつかの第１の実施形態によれば、抗体作製のための第１の態様による単離された硫酸化ポリペプチド又は第２の態様によるコンジュゲートの使用が提供される。特に、第１の態様による単離された硫酸化ポリペプチドは、本明細書の他の箇所に記載されるように、ケモカイン受容体を特異的に認識する抗体の生成を促進するために使用され得る。

【０２２８】

第４の態様による第１の実施形態と同じであっても異なっていてもよい、第４の態様によるいくつかの第２の実施形態によれば、第１の態様による単離された硫酸化ポリペプチド又は第２の態様によるコンジュゲートは、例えば、ケモカイン受容体に特異的に結合する抗体、抗体断片又は分子を選択するための抗原として使用される（実施例６及び８を参照）。

【０２２９】

第４の態様による第１及び／又は第２の実施形態と同じであっても異なっていてもよい、第４の態様によるいくつかの第３の実施形態によれば、第１の態様による単離された硫酸化ポリペプチド又は第２の態様によるコンジュゲートは、オフターゲットパニングのために、特定の７回膜貫通受容体、例えばケモカイン受容体（オフターゲット受容体）に結合しない抗体を選択するために使用される（実施例６及び８を参照）。

【０２３０】

いくつかの第４の実施形態によれば、第４の態様による方法は、抗体の特徴付けのための第１の態様による単離された硫酸化ポリペプチド又は第２の態様によるコンジュゲートの使用を含む。好ましくは、抗体は本発明による抗体である。例えば、抗体の特徴付けは、ＥＬＩＳＡ、表面プラズモン共鳴、質量分析、競合アッセイ、染色、ＩＨＣ、ＦＡＣＳ、又は当技術分野で公知の様々な更なるアッセイの使用を含み得る。

【０２３１】

態様５－抗体産生方法

第５の態様によれば、抗体又は結合剤を得るための方法が提供され、該方法は、第１の態様による単離された硫酸化ポリペプチド又は第２の態様によるコンジュゲートの使用を含む。

【０２３２】
いくつかの第１の実施形態によれば、第５の態様による方法は、第１の態様による単離された硫酸化ポリペプチド又は第２の態様によるコンジュゲートの抗原としての使用を含む。
【０２３３】
第５の態様の第１の実施形態のいくつかの好ましい実施形態によれば、上記方法は、少なくとも１つの更なる単離されたポリペプチド又はそのコンジュゲートの使用を含み、少なくとも１つの更なる単離されたポリペプチドは、
ａ）第１の７回膜貫通受容体とは異なる７回膜貫通受容体、又は
ｂ）異なる種に由来する第１の７回膜貫通受容体のＴＲＤを含み、
好ましくは、少なくとも１種類の更なる単離されたポリペプチドは、第１の態様による単離されたポリペプチドである。
【０２３４】
第５の態様の第１の実施形態のいくつかの実施形態Ａによれば、本方法は、少なくとも１つの更なる単離されたポリペプチド又はコンジュゲート、好ましくは第１又は第２の態様によるものを、好ましくは抗原として、又はオフターゲット選択のために使用することを含む。これらの実施形態において、第１の単離された硫酸化ポリペプチドは、最初の７回膜貫通受容体（例えば、ケモカイン受容体）のＴＲＤを含み、更なる単離されたポリペプチド又はコンジュゲートは、最初の７回膜貫通受容体とは異なる７回膜貫通受容体のＴＲＤを含む。更なる単離されたポリペプチド又はコンジュゲートが抗原として使用される場合、この方法は、少なくとも２つの異なる７回膜貫通受容体、例えば２つの異なるケモカイン受容体ファミリーメンバーを認識する抗体又は結合剤の産生のための方法である。
【０２３５】
更なる単離されたポリペプチド又はコンジュゲートがオフターゲットパンニングのために使用される場合、その方法は、例えば更なるケモカイン受容体ファミリーメンバーへのオフターゲット結合を回避するために、特異的な７回膜貫通受容体のみを認識する抗体又は結合剤を産生するための方法である。
【０２３６】
第５の態様の第１の実施形態のいくつかの実施形態Ｂによれば、本方法は、少なくとも１つの更なる単離されたポリペプチド又はコンジュゲート、好ましくは第１又は第２の態様によるものを抗原として、又はオフターゲット選択のために使用することを含む。これらの実施形態において、第１の単離されたポリペプチドは、第１の種の最初の７回膜貫通受容体（例えば、ヒトケモカイン受容体）のＴＲＤを含み、更なる単離されたポリペプチドは、異なる種に由来する同じ７回膜貫通受容体（例えばカニクイザルケモカイン受容体）のＴＲＤを含む。例えば、第１のポリペプチドはヒトケモカイン受容体のＴＲＤを含み得、第２のポリペプチドはカニクイザルケモカイン受容体のＴＲＤを含み得る。
【０２３７】
ヒトと適切なモデル種の両方に対して交差反応性であるケモカイン受容体抗体又は結合剤の生成は、ケモカイン受容体、特にＣＣＲ８にとって困難であるので、これらの実施形態Ｂは特に有利である。膜貫通ドメイン間の全体的なコンセンサスは比較的高いが、ケモカイン受容体の細胞外ドメインは、異なるケモカイン受容体ファミリーメンバー間、及び所与のケモカイン受容体の種間でも低いコンセンサスを有する（図１、図２ａ）。しかしながら、本発明によれば、ＴＲＤ内にモチーフを含む小さい硫酸化チロシンは、所与のケモカイン受容体が多数の交差反応性抗体を得るために使用されるのに十分に保存されていることがここで見出された。実施例６は、ヒト及びカニクイザルに対する交差反応性抗体の生成を記載し、実施例１０．１．１は、本発明による様々な抗体について両方の種において優れた親和性を示す。げっ歯類及びマウスと比較して、マウスモデルは免疫学的副作用を予測することができなかったため、カニクイザルは好ましいモデル系である。
【０２３８】
第５の態様による方法は、当技術分野で公知の抗体生成のための任意の方法であり得る

。例えば、方法は、従来の免疫化方法であってもよく、例えば、第１の態様によるポリペプチドをＫＬＨにコンジュゲート化し、免疫化に適した動物に投与する。

【０２３９】

例えば、免疫後、免疫された動物の脾細胞は、動物の抗体を産生するハイブリドーマ細胞の生成に使用することができ、第２の工程では、例えばＥＬＩＳＡ等の当技術分野で公知の方法によって抗原に特異的に結合する抗体、並びに適用可能であればオフターゲットに結合する抗体についてスクリーニングすることができる。あるいは、脾細胞は、液滴ベースのマイクロ流体システム又は細胞培養アッセイで抗原に結合する抗体の産生について直接スクリーニングすることができる。その後、選択された脾細胞のみをシーケンシングに直接適用して、抗体又はハイブリドーマ生成の配列を得る。別の方法は、例えば、限定されないが、本明細書の他の箇所に記載されるファージディスプレイライブラリー、又は代替的に哺乳動物ライブラリーであり得る抗体ライブラリーを用いたパニングのために抗原を使用することを含み得る。抗原上でライブラリーをパニングした後、濃縮された抗体を、本明細書でより詳細に記載されるように、例えばＥＬＩＳＡ又はＳＰＲ等の当技術分野で公知の方法によって抗原への特異的結合についてスクリーニングすることができる。

【０２４０】

第５の態様の第１の実施形態と同じであっても異なっていてもよい、第５の態様のいくつかの第２の実施形態によれば、第５の態様による抗体を得るための方法は、ファージディスプレイライブラリー、トランスジェニック動物、又はヒトＣＤＲを含む抗体を作製するための当技術分野で利用可能な任意の他の技術の使用を含む方法である。

【０２４１】

第５の態様の第２の実施形態のいくつかの実施形態Ａにおいて、上記方法は、ヒトファージディスプレイライブラリーの使用を含む（実施例６及び実施例８を参照）。例えば、ファージディスプレイライブラリーは、ＢｉｏＩｎｖｅｎｔ　ｎ－ＣｏＤｅＲ　Ｆａｂラムダライブラリー等の完全ヒト抗体ファージディスプレイライブラリーであり得る。いくつかの好ましい実施形態において、ファージディスプレイライブラリーは、チロシン及び／又はヒスチジン含有量が濃縮されている。第１の工程において、抗体又は抗体断片をその外側に提示するバクテリオファージを含むファージディスプレイライブラリーを、第１の態様による固定化された単離されたポリペプチド又は第２の態様によるコンジュゲートと組み合わせて、単離されたポリペプチド又はコンジュゲートへの結合を可能にすることができる。

【０２４２】

第１の工程の前又は後に起こり得る任意の第２の枯渇工程において、抗体又は抗体断片をその外側にディスプレイするバクテリオファージを含むファージディスプレイライブラリーを、第１の工程の単離されたポリペプチドとは異なる、第１の態様による固定された単離されたポリペプチド又はコンジュゲートと組み合わせて、オフターゲット結合剤を枯渇させることができる。

【０２４３】

第１の工程の前若しくは後に行われてもよく、又は第２の工程の前若しくは後に行われてもよい任意の第３の工程において、抗体又は抗体断片をその外側に表示するバクテリオファージを含むファージディスプレイライブラリーを、第１の工程の単離されたポリペプチド及び任意の第２の工程の単離されたポリペプチドとは異なる、第１の態様による固定された単離されたポリペプチド又は第２の態様によるコンジュゲートと組み合わせて、交差反応性結合剤を得ることができる。

【０２４４】

各工程は、複数回、例えば、１回、２回、３回、４回、５回、６回、７回、８回、９回、１０回以上繰り返されてもよい。結合抗体又は断片を、適切な細菌宿主の感染による拡張のために回収することができ、ＤＮＡは、７回膜貫通受容体抗体又は断片の配列を得るために当技術分野で公知のように配列決定することができる。

【０２４５】

第５の態様の第２の実施形態のいくつかの実施形態Ｂにおいて、第５の態様による抗体を得るための方法は、その全体が本明細書に組み込まれる、Ｌｏｎｂｅｒｇ（Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎｉｌｓ．“Ｈｕｍａｎ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｆｒｏｍ ｔｒａｎｓｇｅｎｉｃ ａｎｉｍａｌｓ．”Ｎａｔｕｒｅ ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２３．９（２００５）：１１１７－１１２５．）によって記載されるトランスジェニック動物の使用を含む方法である。例えば、トランスジェニック動物は、ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（Ａｂｇｅｎｉｘ Ｉｎｃ．、カリフォルニア州フリーモント、例えば米国特許第５，９３９，５９８号）、ＨｕＭＡｂ Ｍｏｕｓｅ（ＧｅｎＰｈａｒｍ－Ｍｅｄａｒｅｘ、カリフォルニア州サンノゼ）、ＲｅｎＭａｂ Ｍｏｕｓｅ（Ｂｉｏｃｙｔｏｇｅｎ）、又は完全ヒト抗体を生成するための当技術分野で公知の任意の他の動物であり得る。

【０２４６】

第５の態様の第２の実施形態のいくつかの実施形態Ｃにおいて、第５の態様による抗体を得るための方法は、ｉｎ ｖｉｔｒｏ活性化Ｂ細胞（それらの各々が参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第５，５６７，６１０号及び同第５，２２９，２７５号を参照）の使用を含む方法である。

【０２４７】

第５の態様のいくつかの第３の実施形態によれば、ヒト及び／又はカニクイザル及び／又はマウスのＣＣ又はＣＸＣケモカイン受容体に特異的に結合する抗体又は抗体断片又は結合剤を得るための方法が提供され、該方法は、

ａ）チロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）を含むポリペプチドを（合成的に）硫酸化することと、

ｂ）該硫酸化ポリペプチドを認識する抗体、抗体断片又は結合剤を選択することとを含み、

ｃ）該抗体、抗体断片又は結合剤を製造することとを含んでもよい。

【０２４８】

いくつかの実施形態において、第４の態様による使用又は第５の態様による方法は、本明細書の他の箇所に記載されるような好ましい特性を有する抗体を得るための使用／方法であり、好ましくは、抗体は、

ａ）ヒト由来ＣＤＲを含み、及び／又は

ｂ）ヒト、ラット若しくはマウスＩｇＧ抗体、好ましくはヒトＩｇＧ１抗体若しくはマウスＩｇＧ２ａ抗体であり、及び／又は

ｃ）２つの異なる７回膜貫通受容体に対して交差反応性であり、及び／又は

ｄ）ヒト及びカニクイザル７回膜貫通受容体に対して交差反応性であり、及び／又は

ｅ）１０～３４％のチロシン及び／又は２～２０％のヒスチジン、好ましくは７～２０％のヒスチジンを含むＨＣＤＲ３を特徴とし、及び／又は

ｆ）ケモカイン受容体のＧタンパク質非依存性シグナル伝達を調節せず、及び／又は

ｇ）非内在化抗体であるか、若しくはアイソタイプ対照の内在化の１．５倍、２倍、３倍、４倍、５倍、６倍、７倍若しくは１０倍より低い内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とする。

【０２４９】

本態様による方法は、ケモカイン受容体に結合する多数の抗体を得るために使用することができる。興味深いことに、比較的多数のこれらの抗体は、本明細書の他の箇所に記載されている従来の方法で得られた既知の抗体からそれらを区別する特性によって特徴付けられた。

【０２５０】

態様６－抗原によって定義される抗体

本発明によれば、先の態様による方法又は使用で得られる単離された抗体若しくはその抗原結合断片又は結合剤が提供される。

【０２５１】

当業者には理解されるように、抗体及び／又は結合断片は、本質的に「モジュール」で

ある。本開示を通して、抗体及び／又は結合断片を構成する様々な「モジュール」の様々な特定の態様及び実施形態が記載される。具体的な非限定的な例として、ＶＨ　ＣＤＲ、ＶＨ鎖、ＶＬ　ＣＤＲ及びＶＬ鎖の様々な具体的な実施形態又は機能的特徴が記載される。特定の実施形態の全ては、あたかも各特定の組み合わせが個別に明示的に記載されているかのように互いに組み合わせることができることを意図している。具体的な非限定的な例として、様々な具体的な機能的実施形態が記載される。特定の実施形態の全ては、あたかも各特定の組み合わせが個別に明示的に記載されているかのように互いに組み合わせることができることを意図している。

【０２５２】

第６の態様によれば、７回膜貫通受容体のチロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドに（特異的に）結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、ＴＲＤのチロシン残基の少なくとも２５％、少なくとも５０％又は少なくとも７５％が硫酸化されている。好ましくは、第１の単離された硫酸化ポリペプチドは、７回膜貫通受容体のＬＩＤドメインを更に含む。好ましくは、ＴＲＤドメインとＬＩＤドメインとの間のシステインは除去されているか、又は異なるアミノ酸に交換されている。

【０２５３】

好ましくは、第１の単離された硫酸化ポリペプチドは、そのチロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）及び場合によりそのＬＩＤドメインを含んでいてもよい７回膜貫通受容体のＮ末端を含み、更により好ましくは、ＴＲＤのチロシン残基の少なくとも２５％、少なくとも５０％又は少なくとも７５％が硫酸化されている。

【０２５４】

好ましい実施形態において、単離された抗体又はその抗原結合断片は、＜５Ｅ－８Ｍ、＜４Ｅ－８Ｍ、＜３Ｅ－８Ｍ、＜２Ｅ－８Ｍ、＜１Ｅ－８Ｍ、＜９Ｅ－９Ｍ、＜８Ｅ－９Ｍ、＜７Ｅ－９Ｍ、＜６Ｅ－９Ｍ、＜５Ｅ－９Ｍ、＜４Ｅ－９Ｍ、＜３Ｅ－９Ｍ、＜２．５Ｅ－９Ｍ、＜２Ｅ－９Ｍ、＜１．５Ｅ－９Ｍ、＜１Ｅ－９Ｍ、＜９Ｅ－１０Ｍ、＜８Ｅ－１０Ｍ、＜７Ｅ－１０Ｍ、＜６Ｅ－１０Ｍ、＜５Ｅ－１０Ｍ、＜４Ｅ－１０Ｍ、＜３Ｅ－１０Ｍ、＜２．５Ｅ－１０Ｍ、＜２Ｅ－１０Ｍ、＜１．５Ｅ－１０Ｍ、＜１Ｅ－１０Ｍ、又は＜９Ｅ－１１ＭのＫＤ値で（１又は複数の）その標的に結合し得る。例えば、本発明の抗体は、＜８Ｅ－９Ｍ～＞４Ｅ－１０ＭのＫＤ値で（１又は複数の）その標的に結合し得る。単離された抗体又はその抗原結合断片は、２つ以上の標的に結合し、最も好ましくは、同じ程度の親和性でその標的に結合する。

【０２５５】

いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗体又はその抗原結合断片は、

ａ）ヒト由来ＣＤＲを含み、及び／又は

ｂ）ヒト及びカニクイザルに対して交差反応性であり、及び／又は

ｃ）１０～３４％のチロシン及び／又は７～２０％のヒスチジンを含むＨＣＤＲ３領域を特徴とし、及び／又は

ｄ）７回膜貫通受容体のＧタンパク質非依存性シグナル伝達を調節せず、及び／又は

ｅ）非内在化抗体であるか、若しくはアイソタイプ対照の内在化の１．５倍、２倍、３倍、４倍、５倍、６倍、７倍若しくは１０倍より低い内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とし、及び／又は

ｆ）ＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰを誘導し、及び／又は

ｇ）ヒト、ラット若しくはマウスＩｇＧ抗体、好ましくはヒトＩｇＧ１抗体若しくはマウスＩｇＧ２ａ抗体であり、及び／又は

ｈ）ｓｃＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’又はＦ（ａｂ’）２断片である。

【０２５６】

第６の態様のいくつかの第１の実施形態によれば、上記７回膜貫通受容体はケモカイン受容体である。これらの第１の実施形態のいくつかにおいて、７回膜貫通受容体はＣＣケモカイン受容体又はＣＸＣケモカイン受容体である。これらの第１の実施形態のいくつか

において、７回膜貫通受容体は、ＣＣケモカイン受容体、例えばＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９又はＣＣＲ１０である。これらの第１の実施形態のいくつかの好ましい態様において、７回膜貫通受容体はＣＣＲ８又はＣＣＲ４である。これらの第１の実施形態のいくつかの最も好ましい態様において、７回膜貫通受容体はＣＣＲ８である。これらの第１の実施形態のいくつかにおいて、７回膜貫通受容体は、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５又はＣＸＣＲ６等のＣＸＣケモカイン受容体である。これらの第１の実施形態のいくつかにおいて、７回膜貫通受容体はＣＸ３ＣＲ１又はＣＸＣＲ１である。

【０２５７】

第６の態様の第１の実施形態と同じであっても同じでなくてもよい、第６の態様のいくつかの第２の実施形態によれば、７回膜貫通受容体は、ＴＲＤを特徴とするケモカイン受容体を発現する任意の種、例えばヒト、サル、カニクイザル（ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）（カニクイザル（ｃｙｎｏｍｏｌｇｕｓ　ｍｏｎｋｅｙ））、アカゲザル（ｍａｃａｃａ　ｍｕｌａｔｔａ）（アカゲザル（ｒｈｅｓｕｓ　ｍａｃａｑｕｅ））、げっ歯類、マウス、ラット、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコ及びラクダに由来し得る。

【０２５８】

第６の態様のこれらの第２の実施形態のいくつかにおいて、７回膜貫通受容体はマウスである。第６の態様のこれらの第２の実施形態のうちのいくつかの最も好ましいものでは、７回膜貫通受容体はヒトである。第６の態様のこれらの第２の実施形態のいくつかにおいて、７回膜貫通受容体はカニクイザルである。これらの実施形態のいくつかの好ましい実施形態において、７回膜貫通受容体は、ヒト、カニクイザル又はマウスである。第６の態様のこれらの好ましい第２の実施形態のいくつかにおいて、７回膜貫通受容体はヒト又はカニクイザルである。

【０２５９】

いくつかの好ましい実施形態において、７回膜貫通受容体は、ヒト、カニクイザル又はマウス７回膜貫通受容体であり、７回膜貫通受容体は、

ａ）ＣＣケモカイン受容体、好ましくはＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９若しくはＣＣＲ１０、

ｂ）ＣＸＣケモカイン受容体、好ましくはＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５若しくはＣＸＣＲ６、又は

ｃ）ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１である。

【０２６０】

第６の態様による第１及び／又は第２の実施形態と同じであっても同じでなくてもよい、第６の態様のいくつかの第３の実施形態によれば、（第１の）単離された硫酸化ポリペプチドは、いかに記載される配列を含むか又はそれからなる：

ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号１（ＣＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号４（ＣＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号２（ＣＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、配列番号５（ＣＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号３（ＣＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号６（ＣＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｂ）好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号７（ＣＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号１０（ＣＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号８（ＣＣＲ２＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１１（ＣＣＲ２＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｃ）好ましくは少なくともＹ３７及び／又はＹ３９が硫酸化されている、配列番号９（ＣＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１２（ＣＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｄ）好ましくはＹ１６及び／又はＹ１７が硫酸化されている、配列番号１３（ＣＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１６（ＣＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｅ）好ましくはＹ１６が硫酸化されている、配列番号１４（ＣＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１７（ＣＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｆ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１５（ＣＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１８（ＣＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｇ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、好ましくは更にＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号１９（ＣＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号２２（ＣＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号２０（ＣＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、配列番号２３（ＣＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号２１（ＣＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号２４（ＣＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｈ）好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５の２つ、３つ又は全てが硫酸化されている、配列番号２５（ＣＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号２８（ＣＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号２６（ＣＣＲ５＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）又は配列番号２９（ＣＣＲ５＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｉ）好ましくはＹ１０、Ｙ１２及びＹ１６のうちの２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号２７（ＣＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号３０（ＣＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｊ）好ましくはＹ１８、Ｙ２６及びＹ２７の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３１（ＣＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号３４（ＣＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｋ）好ましくはＹ２３、Ｙ３１及びＹ３２の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３２（ＣＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号３５（ＣＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｌ）好ましくはＹ１３、Ｙ１８及びＹ１９の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３３（ＣＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号３６（ＣＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｍ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号３７（ＣＣＲ７＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号４０（ＣＣＲ７＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号３８（ＣＣＲ７＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号４１（ＣＣＲ７＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｎ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化され、Ｙ２０が硫酸化されていてもよい、配列番号３９（ＣＣＲ７＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号４２（ＣＣＲ７＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｏ）好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４３（ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号４４（ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、配列番号４６（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）若しくは配列番号４７（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｐ）好ましくはＹ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４５（ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号４８（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｑ）好ましくは少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６１（ＣＣＲ９＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号６４（ＣＣＲ９＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号６２（ＣＣＲ９＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号６５（ＣＣＲ９＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｒ）好ましくは少なくともＹ２８が硫酸化されており、好ましくはＹ１９も硫酸化されている、配列番号６３（ＣＣＲ９＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号６６（ＣＣＲ９＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｓ）好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、

配列番号６７（ＣＣＲ１０＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号７０（ＣＣＲ１０＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号６８（ＣＣＲ１０＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号７１（ＣＣＲ１０＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｔ）好ましくはＹ１４、Ｙ１７及びＹ２２の少なくとも１つ、２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号６９（ＣＣＲ１０＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号７２（ＣＣＲ１０＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｕ）好ましくはＹ２７が硫酸化されている、配列番号７３（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号７６（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｖ）好ましくはＹ１４及びＹ２８の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号７４（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号７７（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｗ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号７５（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号７８（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｘ）好ましくはＹ２３及び／又はＹ２５が硫酸化されている、配列番号７９（ＣＸＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号８２（ＣＸＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｙ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号８０（ＣＸＣＲ２＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号８３（ＣＸＣＲ２＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｚ）好ましくはＹ２４が硫酸化されている、配列番号８１（ＣＸＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号８４（ＣＸＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ａａ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８５（ＣＸＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号８８（ＣＸＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号８６（ＣＸＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、配列番号８９（ＣＸＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号８７（ＣＸＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号９０（ＣＸＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｂｂ）好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９１（ＣＸＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号９４（ＣＸＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号９２（ＣＸＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号９５（ＣＸＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｃｃ）好ましくは少なくともＹ２３及び／又はＹ１４が硫酸化されている、配列番号９３（ＣＸＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号９６（ＣＸＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｄｄ）好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号９７（ＣＸＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、配列番号１００（ＣＸＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、配列番号９８（ＣＸＣＲ５＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１０１（ＣＸＣＲ５＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｅｅ）好ましくは少なくともＹ３及び／又はＹ１４及び／又はＹ２０及び／又はＹ２６が硫酸化されている、配列番号９９（ＣＸＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１０２（ＣＸＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｆｆ）好ましくはＹ６及びＹ１０の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０３（ＣＸＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１０６（ＣＸＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｇｇ）好ましくはＹ４、Ｙ７及びＹ３９の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号１０４（ＣＸＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１０７（ＣＸＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｈｈ）好ましくはＹ１１及びＹ１５の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０５（ＣＸＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１０８（ＣＸＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は

ｉｉ）好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている、配列番号１５７（ＣＸ３ＣＲ

１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１６０（ＣＸ３ＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｊｊ）好ましくは少なくともＹ２０が硫酸化されている、配列番号１５８（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は
　ｋｋ）好ましくは少なくともＹ２０又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１６１（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｌｌ）好ましくは少なくともＹ１５が硫酸化されている、配列番号１５９（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１６２（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｍｍ）好ましくは少なくともＹ２７が硫酸化されている、配列番号１６３（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１６６（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｎｎ）好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている配列番号１６４（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）、又は
　ｏｏ）好ましくは少なくともＹ１４又はＹ２８が硫酸化されている、配列番号１６７（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｐｐ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号１６５（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）若しくは配列番号１６８（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）。

【０２６１】

第６の態様の第３の実施形態のいくつかの実施形態Ａによれば、（第１の）単離された硫酸化ポリペプチドは、以下に記載の配列を含むか、又はそれからなる：
　ａ．好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号１（ＣＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
　ｂ．好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号７（ＣＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
　ｃ．好ましくはＹ１６及び／又はＹ１７が硫酸化されている、配列番号１３（ＣＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
　ｄ．好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号１９（ＣＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
　ｅ．好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５のうちの２つ、３つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号２５（ＣＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
　ｆ．好ましくはＹ１８、Ｙ２６及びＹ２７の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３１（ＣＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
　ｇ．好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号３７（ＣＣＲ７＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
　ｈ．好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４３（ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
　ｉ．好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６１（ＣＣＲ９＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
　ｊ．好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号６７（ＣＣＲ１０＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
　ｋ．好ましくはＹ２７が硫酸化されている、配列番号７３（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
　ｌ．好ましくはＹ２３及び／又はＹ２５が硫酸化されている、配列番号７９（ＣＸＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
　ｍ．好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８５（ＣＸＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
　ｎ．好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９１

（ＣＸＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
ｏ．好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号９７（ＣＸＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
ｐ．好ましくはＹ６及びＹ１０の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０３（ＣＸＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
ｑ．好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている、配列番号１５７（ＣＸ３ＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、又は
ｒ．好ましくは少なくともＹ２７が硫酸化されている、配列番号１６３（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）。

【０２６２】

第６の態様の第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｂによれば、（第１の）単離された硫酸化ポリペプチドは、以下に記載の配列を含むか、又はそれからなる：
ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号３（ＣＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｂ）好ましくは少なくともＹ３７及び／又はＹ３９が硫酸化されている、配列番号９（ＣＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｃ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１５（ＣＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｄ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２１（ＣＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｅ）好ましくはＹ１０、Ｙ１２及びＹ１６のうちの２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号２７（ＣＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｆ）好ましくはＹ１３、Ｙ１８及びＹ１９の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３３（ＣＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、
ｇ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化され、Ｙ２０が硫酸化されていてもよい、配列番号３９（ＣＣＲ７＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｈ）好ましくはＹ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４５（ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｉ）好ましくは少なくともＹ２８が硫酸化されており、好ましくはＹ１９も硫酸化されている、配列番号６３（ＣＣＲ９＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｊ）好ましくはＹ１４、Ｙ１７及びＹ２２の少なくとも１つ、２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号６９（ＣＣＲ１０＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｋ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号７５（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｌ）好ましくはＹ２４が硫酸化されている、配列番号８１（ＣＸＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｍ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８７（ＣＸＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｎ）好ましくは少なくともＹ２３及び／又はＹ１４が硫酸化されている、配列番号９３（ＣＸＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｏ）好ましくは少なくともＹ３及び／又はＹ１４及び／又はＹ２０及び／又はＹ２６が硫酸化されている、配列番号９９（ＣＸＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｐ）好ましくはＹ１１及びＹ１５の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０５（ＣＸＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｑ）好ましくは少なくともＹ１５が硫酸化されている、配列番号１５９（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）、又は
ｒ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号１６５（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）。

【０２６３】

第６の態様の第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｃによれば、（第１の）単離された硫酸化ポリペプチドは、以下に記載の配列を含むか、又はそれからなる：

ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号２（ＣＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｂ）好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号８（ＣＣＲ２＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）、又は

ｃ）好ましくはＹ１６が硫酸化されている、配列番号１４（ＣＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｄ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２０（ＣＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｅ）好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５のうちの２つ、３つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号２６（ＣＣＲ５＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）、又は

ｆ）好ましくはＹ２３、Ｙ３１及びＹ３２の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３２（ＣＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｇ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号３８（ＣＣＲ７＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｈ）好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４４（ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｉ）好ましくは少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６２（ＣＣＲ９＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｊ）好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号６８（ＣＣＲ１０＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｋ）好ましくはＹ１４及びＹ２８の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号７４（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｌ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号８０（ＣＸＣＲ２＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｍ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８６（ＣＸＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｎ）好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９２（ＣＸＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｏ）好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号９８（ＣＸＣＲ５＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｐ）好ましくはＹ４、Ｙ７及びＹ３９の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号１０４（ＣＸＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｑ）好ましくは少なくともＹ２０が硫酸化されている、配列番号１５８（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、又は

ｒ）好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている配列番号１６４（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）。

【０２６４】

第６の態様の第１、第２及び／又は第３の実施形態と同じであっても同じでなくてもよい、第６の態様のいくつかの第４の実施形態によれば、第１の単離された硫酸化ポリペプチドは、チロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）、好ましくはＬＩＤドメインを含む７回膜貫通受容体のＮ末端を含み、ＴＲＤのチロシン残基の少なくとも２５％、少なくとも５０％又は少なくとも７５％が硫酸化されており、好ましくはＴＲＤとＬＩＤドメインとの間の少なくとも１つ／システインが除去されているか、又は異なるアミノ酸に交換されている。

【０２６５】

第６の態様の第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａによれば、（第１の）単離された硫酸化ポリペプチドは、以下に記載の配列を含むか、又はそれからなる：

ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号４（ＣＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｂ）好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号１０（ＣＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｃ）好ましくはＹ１６及び／又はＹ１７が硫酸化されている、配列番号１６（ＣＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ末端）、
ｄ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２２（ＣＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｅ）好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５の２つ、３つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号２８（ＣＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｆ）好ましくはＹ１８、Ｙ２６及びＹ２７の少なくとも２つ若しくは３つが硫酸化されている、配列番号３４（ＣＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｇ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号４０（ＣＣＲ７＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｈ）好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４６（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｉ）好ましくは少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６４（ＣＣＲ９＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｊ）好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号７０（ＣＣＲ１０＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｋ）好ましくはＹ２７が硫酸化されている、配列番号７６（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｌ）好ましくはＹ２３及び／又はＹ２５が硫酸化されている、配列番号８２（ＣＸＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｍ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８８（ＣＸＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｎ）好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９４（ＣＸＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｏ）好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号１００（ＣＸＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｐ）好ましくはＹ６及びＹ１０の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０６（ＣＸＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｑ）好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている、配列番号１６０（ＣＸ３ＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｒ）好ましくは少なくともＹ２７が硫酸化されている、配列番号１６６（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）。

【０２６６】

第６の態様の第４の実施形態のいくつかの実施形態Ｂによれば、（第１の）単離された硫酸化ポリペプチドは、以下に記載の配列を含むか、又はそれからなる：
ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号６（ＣＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｂ）好ましくは少なくともＹ３７及び／又はＹ３９が硫酸化されている、配列番号１２（ＣＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｃ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１８（ＣＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｄ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２４（ＣＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
ｅ）好ましくはＹ１０、Ｙ１２及びＹ１６のうちの２つ又は３つが硫酸化されている、

配列番号３０（ＣＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｆ）好ましくはＹ１３、Ｙ１８及びＹ１９の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３６（ＣＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
　ｇ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化され、Ｙ２０が硫酸化されていてもよい、配列番号４２（ＣＣＲ７＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｈ）好ましくはＹ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４８（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｉ）好ましくは少なくともＹ２８が硫酸化されており、好ましくはＹ１９も硫酸化されている、配列番号６６（ＣＣＲ９＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｊ）好ましくはＹ１４、Ｙ１７及びＹ２２の少なくとも１つ、２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号７２（ＣＣＲ１０＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｋ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号７８（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｌ）好ましくはＹ２４が硫酸化されている、配列番号８４（ＣＸＣＲ２＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｍ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号９０（ＣＸＣＲ３＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｎ）好ましくは少なくともＹ１３及び／又はＹ１４が硫酸化されている、配列番号９６（ＣＸＣＲ４＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｏ）好ましくは少なくともＹ３及び／又はＹ１４及び／又はＹ２０及び／又はＹ２６が硫酸化されている、配列番号１０２（ＣＸＣＲ５＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｐ）好ましくはＹ１１及びＹ１５の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０８（ＣＸＣＲ６＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｑ）好ましくは少なくともＹ１５が硫酸化されている、配列番号１６２（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｒ）好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号１６８（ＣＸＣＲ１＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）。

【０２６７】

　第６の態様の第４の実施形態のいくつかの実施形態Ｃによれば、（第１の）単離された硫酸化ポリペプチドは、以下に記載の配列を含むか、又はそれからなる：
　ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号５（ＣＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｂ）好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号１１（ＣＣＲ２＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｃ）好ましくはＹ１６が硫酸化されている、配列番号１７（ＣＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｄ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２３（ＣＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｅ）好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５のうちの２つ、３つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号２９（ＣＣＲ５＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｆ）好ましくはＹ２３、Ｙ３１及びＹ３２の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３５（ＣＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｇ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号４１（ＣＣＲ７＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｈ）好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号４７（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｉ）好ましくは少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６５（ＣＣＲ９＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｊ）好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、

配列番号７１（ＣＣＲ１０＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｋ）好ましくはＹ１４及びＹ２８の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号７７（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｌ）好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号８３（ＣＸＣＲ２＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｍ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８９（ＣＸＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｎ）好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９５（ＣＸＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｏ）好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号１０１（ＣＸＣＲ５＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｐ）好ましくはＹ４、Ｙ７及びＹ３９の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号１０７（ＣＸＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｑ）好ましくは少なくともＹ２０又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１６１（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、又は
　ｒ）好ましくは少なくともＹ１４又はＹ２８が硫酸化されている、配列番号１６７（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）。

【０２６８】
　第６の態様による第１、第２、第３及び／又は第４の実施形態と同じであっても同じでなくてもよい、第６の態様のいくつかの第５の実施形態によれば、単離された抗体又はその抗原結合断片は、７回膜貫通受容体のチロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチドに（特異的に）結合する。

【０２６９】
　好ましくは、第２の単離された硫酸化ポリペプチドに含まれるＴＲＤの７回膜貫通受容体は、
　ａ）第１の単離された硫酸化ポリペプチドに含まれるＴＲＤの７回膜貫通受容体とは異なるか、又は
　ｂ）第１の単離された硫酸化ポリペプチドに含まれるが異なる種に由来するＴＲＤの対応する７回膜貫通受容体である。

【０２７０】
　いくつかの好ましい実施形態によれば、７回膜貫通受容体のチロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチドは、７回膜貫通受容体のチロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドとは異なり、第６の態様の第３及び／又は第４の実施形態に記載の配列を有する単離されたポリペプチドである。例えば、第１の単離された硫酸化ポリペプチドは、第１の種の７回膜貫通受容体のＴＲＤを含み得、第２の単離された硫酸化ポリペプチドは、第２の種の７回膜貫通受容体のＴＲＤを含み得、好ましくは、種は、ヒト及びカニクイザル、又はヒト及びマウス、又はヒト及びラットである。

【０２７１】
　第６の態様の第５の実施形態のいくつかの実施形態Ａによれば、抗体又は断片は、
　ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号１（ＣＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号２（ＣＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は
　ｂ）好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号７（ＣＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号８（ＣＣＲ２＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は
　ｃ）好ましくはＹ１６及び／又はＹ１７が硫酸化されている、配列番号１３（ＣＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ１

６が硫酸化されている、配列番号１４（ＣＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｄ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号１９（ＣＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２０（ＣＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｅ）好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５のうちの２つ、３つ又は全てが硫酸化されている、配列番号２５（ＣＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５のうちの２つ、３つ又は全てが硫酸化されている、配列番号２６（ＣＣＲ５＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｆ）好ましくはＹ１８、Ｙ２６及びＹ２７の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３１（ＣＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ２３、Ｙ３１及びＹ３２の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３２（ＣＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｇ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号３７（ＣＣＲ７＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号３８（ＣＣＲ７＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｈ）配列番号４３（ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドであって、好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、配列番号４４（ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチドであって、好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｉ）好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６１（ＣＣＲ９＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくは少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６２（ＣＣＲ９＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む、第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｊ）好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号６７（ＣＣＲ１０＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチド、及び好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号６８（ＣＣＲ１０＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｋ）好ましくはＹ２７が硫酸化されている、配列番号７３（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ１４及びＹ２８の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号７４（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｌ）好ましくはＹ２３及び／又はＹ２５が硫酸化されている、配列番号７９（ＣＸＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号８０（ＣＸＣＲ２＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｍ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８５（ＣＸＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８６（ＣＸＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｎ）好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９１（ＣＸＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９２（ＣＸＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｏ）好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号９７（ＣＸＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号９８（ＣＸＣＲ５＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｐ）好ましくはＹ６及びＹ１０の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０３（ＣＸＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ４、Ｙ７及びＹ３９の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号１０４（ＣＸＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド

ｑ）好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている、配列番号１５７（ＣＸ３ＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくは少なくともＹ２０が硫酸化されている、配列番号１５８（ＣＸ３ＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｒ）好ましくは少なくともＹ２７が硫酸化されている、配列番号１６３（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている、配列番号１６４（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＭＵ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチドに結合する。

【０２７２】

第６の態様の第５の実施形態のいくつかの実施形態Ｂによれば、抗体又は断片は、

ａ）好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号４（ＣＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号５（ＣＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、

ｂ）好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号１０（ＣＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号１１（ＣＣＲ２＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、

ｃ）好ましくはＹ１６及び／又はＹ１７が硫酸化されている、配列番号１６（ＣＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ１６が硫酸化されている、配列番号１７（ＣＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、

ｄ）好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２２（ＣＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、更に好ましくはＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号２３（ＣＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、

ｅ）好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５のうちの２つ、３つ又は全てが硫酸化されている、配列番号２８（ＣＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５のうちの２つ、３つ又は全てが硫酸化されている、配列番号２９（ＣＣＲ５＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、

ｆ）好ましくはＹ１８、Ｙ２６及びＹ２７の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３４（ＣＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ２３、Ｙ３１及びＹ３２の少なくとも２つ又は３つが硫酸化されている、配列番号３５（ＣＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単

離された硫酸化ポリペプチド、

ｇ）好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号４０（ＣＣＲ７＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号４１（ＣＣＲ７＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、

ｈ）配列番号４６（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドであって、好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、配列番号４７（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチドであって、好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、第２の単離された硫酸化ポリペプチド、

ｉ）好ましくは少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６４（ＣＣＲ９＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくは少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６５（ＣＣＲ９＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、

ｊ）好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号７０（ＣＣＲ１０＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチド、及び好ましくはＹ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号７１（ＣＣＲ１０＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、

ｋ）好ましくはＹ２７が硫酸化されている、配列番号７６（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ１４及びＹ２８の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号７７（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、

ｌ）好ましくはＹ２３及び／又はＹ２５が硫酸化されている、配列番号８２（ＣＸＣＲ２＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号８３（ＣＸＣＲ２＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、

ｍ）好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８８（ＣＸＣＲ３＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８９（ＣＸＣＲ３＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、

ｎ）好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９４（ＣＸＣＲ４＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９５（ＣＸＣＲ４＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、

ｏ）好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号１００（ＣＸＣＲ５＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号１０１（ＣＸＣＲ５＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｐ）好ましくはＹ６及びＹ１０の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０６（ＣＸＣＲ６＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくはＹ４、Ｙ７及びＹ３９の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号１０７（ＣＸＣＲ６＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｑ）好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている、配列番号１６０（ＣＸ３ＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、好ましくは少なくともＹ２０又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１６１（ＣＸ３ＣＲ１＿Ｍ

ＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は
ｒ）好ましくは少なくともＹ２７が硫酸化されている、配列番号１６６（ＣＸＣＲ１＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ペプチドと、好ましくは少なくともＹ１４又はＹ２８が硫酸化されている、配列番号１６７（ＣＸＣＲ１＿ＭＡＣＭＵ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ペプチドに結合する。

【０２７３】

第６の態様の第５の実施形態のいくつかの実施形態Ｃ１によれば、抗体又は断片は、第６の態様の第３の実施形態のいくつかの実施形態Ａによる配列を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドに特異的に結合し、第６の態様の第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｂ又はＣによる配列を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチドに結合し、好ましくは、第１及び第２のポリペプチドは、同じ受容体であるが異なる種由来のＴＲＤを含む。

【０２７４】

第６の態様の第５の実施形態のいくつかの実施形態Ｃ２によれば、抗体又は断片は、第６の態様の第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａによる配列を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドに特異的に結合し、第６の態様の第４の実施形態のいくつかの実施形態Ｂ又はＣによる配列を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチドに結合し、好ましくは、第１及び第２のポリペプチドは、同じ受容体であるが異なる種由来のＴＲＤを含む。

【０２７５】

第６の態様による第１、第２、第３、第４及び／又は第５の実施形態と同じであっても同じでなくてもよい第６の態様のいくつかの第６の実施形態によれば、第１の単離された硫酸化ポリペプチドを結合させるため、及び／又は７回膜貫通受容体を結合させるための抗体又は抗原結合断片の解離定数又はＥＣ５０は、２００ｎＭ、１５０ｎＭ、１００ｎＭ、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５ｎＭ又は０．２５ｎＭ未満である。

【０２７６】

第６の態様の第６の実施形態のいくつかの実施形態Ａによれば、第１の単離された硫酸化ポリペプチドを結合させるため、及び／又は上記７回膜貫通受容体を結合させるための抗体又は抗原結合断片の解離定数又はＥＣ５０は、２００ｎＭ、１９９ｎＭ、１９８ｎＭ、１９７ｎＭ、１９６ｎＭ、１９５ｎＭ、１９４ｎＭ、１９３ｎＭ、１９２ｎＭ、１９１ｎＭ、１９０ｎＭ、１８９ｎＭ、１８８ｎＭ、１８７ｎＭ、１８６ｎＭ、１８５ｎＭ、１８４ｎＭ、１８３ｎＭ、１８２ｎＭ、１８１ｎＭ、１８０ｎＭ、１７９ｎＭ、１７８ｎＭ、１７７ｎＭ、１７６ｎＭ、１７５ｎＭ、１７４ｎＭ、１７３ｎＭ、１７２ｎＭ、１７１ｎＭ、１７０ｎＭ、１６９ｎＭ、１６８ｎＭ、１６７ｎＭ、１６６ｎＭ、１６５ｎＭ、１６４ｎＭ、１６３ｎＭ、１６２ｎＭ、１６１ｎＭ、１６０ｎＭ、１５９ｎＭ、１５８ｎＭ、１５７ｎＭ、１５６ｎＭ、１５５ｎＭ、１５４ｎＭ、１５３ｎＭ、１５２ｎＭ、１５１ｎＭ、１５０ｎＭ、１４９ｎＭ、１４８ｎＭ、１４７ｎＭ、１４６ｎＭ、１４５ｎＭ、１４４ｎＭ、１４３ｎＭ、１４２ｎＭ、１４１ｎＭ、１４０ｎＭ、１３９ｎＭ、１３８ｎＭ、１３７ｎＭ、１３６ｎＭ、１３５ｎＭ、１３４ｎＭ、１３３ｎＭ、１３２ｎＭ、１３１ｎＭ、１３０ｎＭ、１２９ｎＭ、１２８ｎＭ、１２７ｎＭ、１２６ｎＭ、１２５ｎＭ、１２４ｎＭ、１２３ｎＭ、１２２ｎＭ、１２１ｎＭ、１２０ｎＭ、１１９ｎＭ、１１８ｎＭ、１１７ｎＭ、１１６ｎＭ、１１５ｎＭ、１１４ｎＭ、１１３ｎＭ、１１２ｎＭ、１１１ｎＭ、１１０ｎＭ、１０９ｎＭ、１０８ｎＭ、１０７ｎＭ、１０６ｎＭ、１０５ｎＭ、１０４ｎＭ、１０３ｎＭ、１０２ｎＭ、１０１ｎＭ、１００ｎＭ、９９ｎＭ、９８ｎＭ、９７ｎＭ、９６ｎＭ、９５ｎＭ、９４ｎＭ、９３ｎＭ、９２ｎＭ、９１ｎＭ、９０ｎＭ、８９ｎＭ、８８ｎＭ、８７ｎＭ、８６ｎＭ、８５ｎＭ、８４ｎＭ、８３ｎＭ、８２ｎＭ、８１ｎＭ、８０ｎＭ、７９ｎＭ、７８ｎＭ、７７ｎＭ、７６ｎＭ、７５ｎＭ、７４ｎＭ、７３ｎＭ、７２ｎＭ、７１ｎＭ、７０ｎＭ、６９ｎＭ、６８ｎＭ、６７ｎＭ、６６ｎＭ、６５ｎＭ、６４ｎＭ、６３ｎＭ、６２ｎＭ、６１ｎＭ、６０ｎＭ、５９ｎＭ、５８ｎＭ、５７ｎＭ、５６ｎＭ、５５ｎＭ、５４ｎＭ、５３ｎＭ、５２ｎＭ、５１ｎＭ、５０ｎＭ、４９ｎＭ、４８ｎＭ、４７ｎＭ、４６ｎＭ、４５ｎＭ、４４ｎＭ、４３ｎＭ、４２ｎＭ、４１ｎＭ、４０ｎＭ、３９ｎＭ、３８ｎＭ、３７ｎＭ、３６ｎＭ、３５ｎＭ、３４ｎＭ、３

３ｎＭ、３２ｎＭ、３１ｎＭ、３０ｎＭ、２９ｎＭ、２８ｎＭ、２７ｎＭ、２６ｎＭ、２５ｎＭ、２４ｎＭ、２３ｎＭ、２２ｎＭ、２１ｎＭ、２０ｎＭ、１９ｎＭ、１８ｎＭ、１７ｎＭ、１６ｎＭ、１５ｎＭ、１４ｎＭ、１３ｎＭ、１２ｎＭ、１１ｎＭ、１０ｎＭ、９ｎＭ、８ｎＭ、７ｎＭ、６ｎＭ、５ｎＭ、４ｎＭ、３ｎＭ、２ｎＭ、１ｎＭ、０．９ｎＭ、０．８ｎＭ、０．７ｎＭ、０．６ｎＭ、０．５ｎＭ、０．４ｎＭ、０．３ｎＭ、０．２５ｎＭ、０．２ｎＭ、０．１５ｎＭ、又は０．１ｎＭ未満である。

【０２７７】

好ましくは、第１の単離された硫酸化ポリペプチドに結合するための、及び／又は当該７回膜貫通受容体についての抗体又は抗原結合断片の解離定数又はＥＣ５０は、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５ｎＭ、０．２５ｎＭ、０．２ｎＭ、０．１５ｎＭ又は０．１ｎＭ未満である。

【０２７８】

好ましくは、ＥＣ５０は、標的を過剰発現するＣＨＯ細胞において決定することができる。例えば実施例１０．１．１に開示されるように、本明細書に開示される方法で得られる抗体は、それらのそれぞれの標的に対して優れた親和性を有する。例えば、ＴＰＰ－２１１８１、ＴＰＰ－１７５７８、ＴＰＰ－１９５４６、ＴＰＰ－１８２０６、ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１は、ＣＣＲ８を過剰発現するように操作されたＣＨＯ細胞において４．８ｎＭ、１．７ｎＭ、０．８ｎＭ、０．６ｎＭ、約０．９ｎＭ又は１．７ｎＭのＥＣ５０でヒトＣＣＲ８に結合した。また、ＴＰＰ－２１１８１、ＴＰＰ－１７５７８、ＴＰＰ－１９５４６、ＴＰＰ－１８２０６、ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１はカニクイザルＣＣＲ８に結合し、ＥＣ５０は１．８ｎＭ、１ｎＭ、０．５ｎＭ、０．７ｎＭ、約０．５５ｎＭ又は０．９ｎＭであった。さらに、ＴＰＰ－１７５７８、ＴＰＰ－１９５４６、ＴＰＰ－１８２０６及びＴＰＰ－２１３６０は、２５ｎＭ、１５ｎＭ、２３ｎＭ又は１０ｎＭのＥＣ５０でヒト制御性Ｔ細胞に結合した。さらに、抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１４０９９は、３ｎＭのＥＣ５０でマウスＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞及び１３．２ｎＭのＥＣ５０でマウスｉＴｒｅｇに結合する（表１０．１．１．５を参照）。

【０２７９】

第６の態様の第６の実施形態の実施形態Ａと同じであっても同じでなくてもよい、第６の態様の第６の実施形態のいくつかの実施形態Ｂによれば、第２の単離された硫酸化ポリペプチドを結合させるための、及び／又は第２の７回膜貫通受容体を結合させるための抗体又は抗原結合断片の解離定数又はＥＣ５０は、２００ｎＭ、１９９ｎＭ、１９８ｎＭ、１９７ｎＭ、１９６ｎＭ、１９５ｎＭ、１９４ｎＭ、１９３ｎＭ、１９２ｎＭ、１９１ｎＭ、１９０ｎＭ、１８９ｎＭ、１８８ｎＭ、１８７ｎＭ、１８６ｎＭ、１８５ｎＭ、１８４ｎＭ、１８３ｎＭ、１８２ｎＭ、１８１ｎＭ、１８０ｎＭ、１７９ｎＭ、１７８ｎＭ、１７７ｎＭ、１７６ｎＭ、１７５ｎＭ、１７４ｎＭ、１７３ｎＭ、１７２ｎＭ、１７１ｎＭ、１７０ｎＭ，１６９ｎＭ、１６８ｎＭ、１６７ｎＭ、１６６ｎＭ、１６５ｎＭ、１６４ｎＭ、１６３ｎＭ、１６２ｎＭ、１６１ｎＭ、１６０ｎＭ、１５９ｎＭ、１５８ｎＭ、１５７ｎＭ、１５６ｎＭ、１５５ｎＭ、１５４ｎＭ、１５３ｎＭ、１５２ｎＭ、１５１ｎＭ、１５０ｎＭ、１４９ｎＭ、１４８ｎＭ、１４７ｎＭ、１４６ｎＭ、１４５ｎＭ、１４４ｎＭ、１４３ｎＭ、１４２ｎＭ、１４１ｎＭ、１４０ｎＭ、１３９ｎＭ、１３８ｎＭ、１３７ｎＭ、１３６ｎＭ、１３５ｎＭ、１３４ｎＭ、１３３ｎＭ，１３２ｎＭ、１３１ｎＭ、１３０ｎＭ、１２９ｎＭ、１２８ｎＭ、１２７ｎＭ、１２６ｎＭ、１２５ｎＭ、１２４ｎＭ、１２３ｎＭ、１２２ｎＭ、１２１ｎＭ、１２０ｎＭ、１１９ｎＭ、１１８ｎＭ、１１７ｎＭ、１１６ｎＭ、１１５ｎＭ、１１４ｎＭ、１１３ｎＭ、１１２ｎＭ、１１１ｎＭ、１１０ｎＭ、１０９ｎＭ、１０８ｎＭ、１０７ｎＭ、１０６ｎＭ、１０５ｎＭ、１０４ｎＭ、１０３ｎＭ、１０２ｎＭ、１０１ｎＭ、１００ｎＭ、９９ｎＭ、９８ｎＭ、９７ｎＭ、９６ｎＭ、９５ｎＭ、９４ｎＭ、９３ｎＭ、９２ｎＭ、９１ｎＭ、９０ｎＭ、８９ｎＭ、８８ｎＭ，８７ｎＭ、８６ｎＭ、８５ｎＭ、８４ｎＭ、８３ｎＭ、８２ｎＭ、８１ｎＭ、８０ｎＭ、７９ｎＭ、７８ｎＭ、７７ｎＭ，７６ｎＭ、７５ｎＭ、７４ｎＭ、７３

ｎＭ、７２ｎＭ、７１ｎＭ、７０ｎＭ、６９ｎＭ、６８ｎＭ、６７ｎＭ、６６ｎＭ、６５ｎＭ、６４ｎＭ、６３ｎＭ、６２ｎＭ、６１ｎＭ、６０ｎＭ、５９ｎＭ、５８ｎＭ、５７ｎＭ、５６ｎＭ、５５ｎＭ、５４ｎＭ、５３ｎＭ、５２ｎＭ、５１ｎＭ、５０ｎＭ、４９ｎＭ、４８ｎＭ、４７ｎＭ、４６ｎＭ、４５ｎＭ、４４ｎＭ、４３ｎＭ、４２ｎＭ、４１ｎＭ、４０ｎＭ、３９ｎＭ、３８ｎＭ、３７ｎＭ、３６ｎＭ、３５ｎＭ、３４ｎＭ、３３ｎＭ、３２ｎＭ、３１ｎＭ、３０ｎＭ、２９ｎＭ、２８ｎＭ、２７ｎＭ、２６ｎＭ、２５ｎＭ、２４ｎＭ、２３ｎＭ、２２ｎＭ、２１ｎＭ、２０ｎＭ、１９ｎＭ、１８ｎＭ、１７ｎＭ、１６ｎＭ、１５ｎＭ、１４ｎＭ、１３ｎＭ、１２ｎＭ、１１ｎＭ、１０ｎＭ、９ｎＭ、８ｎＭ、７ｎＭ、６ｎＭ、５ｎＭ、４ｎＭ、３ｎＭ、２ｎＭ、１ｎＭ、０．９ｎＭ、０．８ｎＭ、０．７ｎＭ、０．６ｎＭ、０．５ｎＭ、０．４ｎＭ、０．３ｎＭ、０．２５ｎＭ、０．２ｎＭ、０．１５ｎＭ，又は０．１ｎＭ未満である。

【０２８０】

好ましくは、第２の単離された硫酸化ポリペプチドを結合させるため、及び／又は第２の７回膜貫通受容体を結合させるための抗体又は抗原結合断片の解離定数（ＫＤ）又はＥＣ５０は、１０ｎＭ未満、５ｎＭ未満、２．５ｎＭ未満、１ｎＭ未満、０．５ｎＭ未満又は０．２５ｎＭ未満である。

【０２８１】

第６の態様の第６の実施形態のいくつかの実施系チアＡＢによれば、第１の単離された硫酸化ポリペプチド及び／又は第１の７回膜貫通受容体に結合するための抗体又は抗原結合断片の解離定数（ＫＤ）又はＥＣ５０は１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５ｎＭ又は０．２５ｎＭ未満であり、第２の単離された硫酸化ポリペプチド及び／又は第２の７回膜貫通受容体に結合するための抗体又は抗原結合断片の解離定数（ＫＤ）又はＥＣ５０は１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５ｎＭ又は０．２５ｎＭ未満である。

【０２８２】

第６の態様による第１、第２、第３、第４、第５及び／又は第６の実施形態と同じであっても同じでなくてもよい、第６の態様のいくつかの第７の実施形態によれば、第１の単離された硫酸化ポリペプチドを結合させるための抗体の解離定数（ＫＤ）は、第１の単離された硫酸化ポリペプチドと同じ配列を有する第１の単離された非硫酸化ポリペプチドを結合させるための抗体の解離定数（ＫＤ）よりも低い。好ましくは、抗体は、第１の単離された硫酸化ポリペプチドと同じ配列を有する第１の単離された非硫酸化ポリペプチドに実質的に結合しない。

【０２８３】

第６の態様の第７の実施形態のいくつかの実施形態Ａによれば、第１の単離された非硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体の解離定数又はＥＣ５０は、１００ｎＭ、１５０ｎＭ、２００ｎＭ、２５０ｎＭ、３００ｎＭ、３５０ｎＭ、４００ｎＭ、４５０ｎＭ、５００ｎＭ、６００ｎＭ、７００ｎＭ、８００ｎＭ、９００ｎＭ、１μＭ、１．２５μＭ、１．５μＭ、１．７５μＭ、２μＭ、２．２５μＭ、２．５μＭ、２．７５μＭ若しくは３μＭよりも高いか、又は検出不能である。好ましくは、第１の単離された非硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体の解離定数又はＥＣ５０は、１００ｎＭ、２５０ｎＭ、５００ｎＭ、１μＭ、２μＭ若しくは３μＭより高いか、又は検出不能である。

【０２８４】

第６の態様の第７の実施形態の実施形態Ａと同じであってもよい、第６の態様の第７の実施形態のいくつかの実施形態Ｂによれば、第１の単離された硫酸化ポリペプチドを結合させるための抗体又は断片の解離定数又はＥＣ５０は、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５ｎＭ又は０．２５ｎＭ未満であり、第１の単離された非硫酸化ポリペプチドを結合させるための抗体又は断片の解離定数又はＥＣ５０は、１０ｎＭ、２５ｎＭ、５０ｎＭ、１００ｎＭ、２５０ｎＭ又は５００ｎＭよりも高いか、又は検出不能である。

【０２８５】

第６の態様の抗体は、ヒト、サル、カニクイザル（カニクイザル）、アカゲザル（アカ

ゲザル）、げっ歯類、マウス、ラット、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコ及びラクダに由来するＣＤＲを含み得る。好ましくは、第６の態様による抗体は、ヒト、ラット又はマウス由来のＣＤＲを含む。

【０２８６】

第６の態様の第１、第２、第３、第４、第５、第６及び／又は第７の実施形態と組み合わされてもよく、組み合わされることが示唆される、第６の態様のいくつかの第８の実施形態によれば、単離された抗体又は抗原結合断片はヒト由来ＣＤＲを含む。いくつかの非常に好ましい実施形態によれば、ヒト由来ＣＤＲは、最も近いヒト生殖系列からの逸脱がないか、又は１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４若しくは１５未満の逸脱を含む。最も近いヒト生殖系列は、当技術分野で公知のように、例えば、ＩＭＧＴヒト生殖系列データベースから検索されたデータと共にＩｇＢＬＡＳＴ（Ｙｅ，Ｊｉａｎ，ｅｔ ａｌ．“ＩｇＢＬＡＳＴ：ａｎ ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ ｖａｒｉａｂｌｅ ｄｏｍａｉｎ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎａｌｙｓｉｓ ｔｏｏｌ．”Ｎｕｃｌｅｉｃ ａｃｉｄｓ ｒｅｓｅａｒｃｈ ４１．Ｗ１（２０１３）：Ｗ３４－Ｗ４０．）を使用してｉｎ ｓｉｌｉｃｏで決定することができる。これらの第８の実施形態による抗体は、例えば実施例６又は８に記載されるように、又は本明細書の他の箇所に記載されるように得ることができる。

【０２８７】

第６の態様の第１、第２、第３、第４、第５、第６、第７又は第８の実施形態と組み合わされてもよく、組み合わされることが示唆される、第６の態様のいくつかの第９の実施形態によれば、単離された抗体又は抗原結合断片はヒト及びカニクイザルに対して交差反応性である（実施例１０．１．１を参照）。好ましくは、ヒトケモカイン受容体に結合するための抗体又は抗原結合断片の解離定数（ＫＤ）又はＥＣ５０は、２００ｎＭ、１５０ｎＭ、１００ｎＭ、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５又は０．２５ｎＭ未満、例えば１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５又は０．２５ｎＭ未満である。好ましくは、カニクイザルケモカイン受容体に結合するための抗体又は抗原結合断片の解離定数（ＫＤ）又はＥＣ５０は、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５又は０．２５ｎＭ未満である。

【０２８８】

第６の態様の第１、第２、第３、第４、第５、第６、第７、第８及び／又は第９の実施形態と組み合わされてもよく、組み合わされることが示唆される、第６の態様のいくつかの第１０の実施形態によれば、単離された抗体又は抗原結合断片は、平均ＨＣＤＲ３領域から組成が逸脱するＨＣＤＲ３領域を特徴とする。好ましくは、単離された抗体又は抗原結合断片は、１０～３４％のチロシン及び／又は少なくとも１つのヒスチジン、好ましくは２～２０％のヒスチジン、最も好ましくは７～２０％のヒスチジンを含むＨＣＤＲ３領域を特徴とする。

【０２８９】

第６の態様の第１０の実施形態のいくつかの実施形態Ａにおいて、単離された抗体又は抗原結合性断片は、

ａ）＞０及び＜３５％、＞８及び＜３４％、１０以上３４％以下、若しくは＞１５及び＜３１％のチロシン（Ｙ）残基を有し、及び／又は

ｂ）＞０及び≦１６％、≧２及び≦２０％、若しくは≧７及び≦２０％のヒスチジン（Ｈ）残基を有し、並びに

ｃ）好ましくは＞０及び≦１８％、≧７及び≦１０％、若しくは≧０及び≦７％のアルギニン（Ｒ）残基、及び／又は

ｄ）好ましくは＞０及び≦２５％、≧７及び≦１６％、若しくは≧７及び≦１３％のアスパラギン酸（Ｄ）残基を有し、及び／又は

ｅ）好ましくはリジン（Ｋ）残基を含まない、及び／又は

ｆ）好ましくはグルタミン酸（Ｅ）残基を含まない、ＨＣＤＲ３を含む。

【０２９０】

実施形態Ａと同じであっても異なっていてもよい、第６の態様の第１０の実施形態のいくつかの態様Ｂにおいて、単離された抗体又は抗原結合断片は、

ａ）＞０及び＜４７％、＞２２及び＜５０％、＞１０及び＜３４％、若しくは＞１５及び＜４７％の荷電アミノ酸を有する、及び／又は

ｂ）＞０及び＜３２％、＞８及び＜３０％、若しくは＞１０及び＜３７％の正に荷電したアミノ酸、及び／又は

ｃ）＞０及び＜２６％、≧７及び＜１６％、若しくは＞７及び＜１４％の負に荷電したアミノ酸を有する、ＨＣＤＲ３を含む。

【０２９１】

実施形態Ａ及び／又はＢと同じであっても異なっていてもよい、第６の態様の第１０の実施形態のいくつかの実施形態Ｃでは、単離された抗体又は抗原結合断片は、合計で＞０及び≦４２％、≧１０及び≦４２％、又は≧３６及び≦４３％のヒスチジン及びチロシン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０２９２】

態様１０によるＣＣＲ８について開示される実施形態及び説明の各々は、一般に、例えば必要な変更を伴うケモカイン受容体抗体について本明細書に開示される。本発明者らは、特定のＣＣＲ８配列ではなく硫酸化ＴＲＤモチーフがチロシン及び／又はヒスチジンの頻度の増加を促進すると考えている。

【０２９３】

第６の態様の第１、第２、第３、第４、第５、第６、第７、第８、第９及び／又は第１０態様と組み合わされてもよく、組み合わされることが示唆される、第６の態様のいくつかの第１１の実施形態によれば、単離された抗体又は抗原結合断片は、ＣＣＲ８シグナル伝達を少なくとも部分的に調節する。

【０２９４】

例えば、本発明による抗体は、

ａ）Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達を遮断することができる、及び／又は

ｂ）Ｇタンパク質依存性シグナル伝達を遮断することができる、及び／又は

ｃ）Ｇタンパク質依存性及びＧタンパク質非依存性シグナル伝達を遮断することができる、及び／又は

ｄ）Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達を増加させることができる、及び／又は

ｅ）Ｇタンパク質依存性シグナル伝達を増加させることができる、及び／又は

ｆ）Ｇタンパク質依存性及びＧタンパク質非依存性のシグナル伝達を増加させることができる。

【０２９５】

特定の状況において、調節は、リガンド誘導性Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達の遮断及びＧタンパク質非依存性シグナル伝達の誘導を指す。

【０２９６】

いくつかの好ましい実施形態によれば、抗体又は断片は、７回膜貫通受容体のＧタンパク質非依存性シグナル伝達を調節しない。いくつかの好ましい実施形態によれば、抗体又は断片は、標的タンパク質のリガンド誘導性Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達を遮断しない。いくつかの好ましい実施形態によれば、抗体又は断片は、Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達を誘導しない。

【０２９７】

いくつかの好ましい実施形態によれば、抗体又は断片は、Ｇタンパク質依存性シグナル伝達を遮断する。Ｇタンパク質依存性シグナル伝達は、本明細書の他の箇所に記載されているように、走化性アッセイによって、又は好ましくはカルシウムフラックスアッセイによって分析することができる。

【０２９８】

いくつかの好ましい実施形態によれば、抗体又は断片は、ケモカイン受容体のＧタンパク質依存性シグナル伝達を遮断するが、ケモカイン受容体のＧタンパク質非依存性シグナ

ル伝達を遮断しない（実施例１０．４を参照）。ケモカイン受容体のＧタンパク質非依存性シグナル伝達は、Ｇタンパク質依存性シグナル伝達ではない任意のシグナル伝達活性である。

【０２９９】

第６の態様の第１、第２、第３、第４、第５、第６、第７、第８、第９、第１０及び第１１の実施形態と組み合わされてもよく、組み合わされることが示唆される、第６の態様のいくつかの第１２の実施形態によれば、単離された抗体又は抗原結合断片は、低内在化又は非内在化抗体又は抗原結合断片である。

【０３００】

過剰発現は内在化挙動に影響を及ぼし得、治療環境での内在化をモデル化するのにあまり適していないので、内在化は、好ましくは標的ケモカイン受容体の内因性発現を有するモデル細胞株を使用して決定される（実施例１０．５を参照）。例えば、内在化は、時間枠にわたって、又は特定の時点について決定することができる。好ましくは、内在化は、標的を内因的に発現する細胞において１５分、３０分、１時間、２時間、３時間、６時間、１２時間、２４時間又は４８時間後に決定することができる。

【０３０１】

第６の態様の第１２の実施形態のいくつかの実施形態Ａによれば、抗体又は抗原結合断片は、アイソタイプ対照のインターナリゼーション速度と同程度の内在化速度を有する。

【０３０２】

第６の態様の第１２実施形態のいくつかの実施形態Ｂによれば、抗体又は抗原結合断片は、アイソタイプ対照の内在化の１．５、２、３、４、５、６、７、又は１０倍よりも低い内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とする。抗体のアイソタイプ対照は、抗体のアイソタイプを可能な限り厳密に一致させるが、標的に結合しないように、当技術分野で公知のように選択することができる。

【０３０３】

第６の態様の第１２実施形態のいくつかの実施形態Ｃによれば、抗体又は抗原結合断片は、例えば１５分、３０分、１時間、２時間、３時間、６時間、１２時間、２４時間又は４８時間後のアイソタイプ対照の内在化の１５０％、１７５％、２００％、３００％、４００％又は５００％未満である内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とする。

【０３０４】

第６の態様の第１、第２、第３、第４、第５、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１及び／又は第１２の実施形態と組み合わされてもよく、組み合わされることが示唆される、第６の態様のいくつかの第１３実施形態によれば、単離された抗体又は抗原結合断片は、抗体の標的受容体を発現する細胞のＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰを誘導する。

【０３０５】

第６の態様の第１３の実施形態のいくつかの好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、アフコシル化されている。

【０３０６】

第６の態様の第１３実施形態のいくつかの実施形態Ａ１において、抗体又は抗原結合断片は、５３０ｎＭ、５００ｎＭ、４５０ｎＭ、４００ｎＭ、３００ｎＭ又は２００ｎＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマ受容体ＩＩＩＡ変異体Ｖ１７６（ＣＤ１６ａ）に結合する。好ましくは、ＫＤは、表面プラズモン共鳴を使用して決定することができる。

【０３０７】

実施形態Ａ１と同じであっても異なっていてもよい、第６の態様の第１３の実施形態のいくつかの実施形態Ｂ１において、抗体又は抗原結合断片は、ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介して標的受容体を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導する。ＡＤＣＣ誘導は、当技術分野で公知のアッセイ、例えば実施例１０．３．３ｆｆに従って記載される、又は本明細書の他の箇所に記載されているアッセイで分析することができる。好ましくは、少なくとも８０％又は８５％のＴｒｅｇ細胞がＣＣＲ８を発現するＴｒｅｇ細胞を用いてアッセイを実施する。

【０３０８】
実施形態Ａ１又はＢ１と同じであっても異なっていてもよい、態様６の第１３の実施形態のいくつかの実施形態Ｃ１において、標的受容体を発現する細胞のＡＤＣＣ誘導性の最大枯渇は、少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％又は９９％である。
【０３０９】
実施形態Ａ１、Ｂ１又はＣ１と同じであっても異なっていてもよい、第６の態様の第１３の実施形態のいくつかの実施形態Ｄ１において、標的発現細胞のＡＤＣＣ誘導性枯渇のＥＣ５０は、５００ｐＭ、４００ｐＭ、３００ｐＭ、２００ｐＭ、１００ｐＭ、５０ｐＭ、２５ｐＭ、２０ｐＭ、１２．５ｐＭ、１０ｐＭ、５ｐＭ又は２．５ｐＭ未満である。
【０３１０】
実施形態Ａ１、Ｂ１、Ｃ１及び／又はＤ１と同じであっても同じでなくてもよい、第６の態様の第１３の実施形態のいくつかの実施形態Ａ２において、抗体又は抗原結合断片は、３０μＭ、２０μＭ、１０μＭ、５μＭ又は１μＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマＲＩＩＡ（ＣＤ３２ａ）に結合する。
【０３１１】
実施形態Ａ１、Ｂ１、Ｃ１及び／又はＤ１と同じであってもよく、実施形態Ａ２と同じであってもよい、第６態様の第１３の実施形態のいくつかの実施形態Ｂ２において、抗体又は抗原結合断片は、ヒトエフェクター細胞、例えばヒトマクロファージを介して標的受容体を発現する細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導する。例えば、ヒトマクロファージは、Ｍ２又はＭ１マクロファージであり得る。
【０３１２】
実施形態Ａ１、Ｂ１、Ｃ１及び／又はＤ１と同じであってもよく、実施形態Ａ２及び／又はＢ２と同じであってもよい、第６の態様の第１３の実施形態のいくつかの実施形態Ｃ２において、標的受容体を発現する細胞のＡＤＣＰ誘導性最大枯渇は、少なくとも５、１０、１５、２０、２５、３０、４０又は５０％である。
【０３１３】
実施形態Ａ１、Ｂ１、Ｃ１及び／又はＤ１と同じであってもよく、実施形態Ａ２、Ｂ２及び／又はＣ２と同じであってもよい、第６の態様の第１３の実施形態のいくつかの実施形態Ｄ２において、活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＰ誘導性枯渇のためのＥＣ５０は、１５００ｐＭ、１０００ｐＭ、５００ｐＭ、２５０ｐＭ、２００ｐＭ、１５０ｐＭ、１００ｐＭ、７５ｐＭ、５０ｐＭ、２５ｐＭ又は１０ｐＭ未満である。
【０３１４】
第６の態様の第１３の実施形態のいくつかの好ましい実施形態において、ケモカイン受容体に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、
ａ）５３０ｎＭ、５００ｎＭ、４５０ｎＭ、４００ｎＭ、３００ｎＭ又は２００ｎＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマ受容体ＩＩＩＡ変異体Ｖ１７６（ＣＤ１６ａ）に結合し、及び／又は
ｂ）３０μＭ、２０μＭ、１０μＭ、５μＭ又は１μＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマＲＩＩＡ（ＣＤ３２ａ）に結合する。
【０３１５】
第６の態様の第１３の実施形態のいくつかの好ましい実施形態において、ケモカイン受容体に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、
ａ）ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介してヒトケモカイン受容体を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し、及び／又は
ｂ）ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介してヒトケモカイン受容体を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導する。
【０３１６】

第６の態様の第１３の実施形態のいくつかの好ましい実施形態において、ケモカイン受容体に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、

ａ）ヒトケモカイン受容体を発現する標的細胞におけるＡＤＣＣ誘導性の最大枯渇は、少なくとも２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％若しくは９９％であり、及び／又は

ｂ）ヒトケモカイン受容体を発現する標的細胞におけるＡＤＣＰ誘導性の最大枯渇は、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、４０％若しくは５０％であり、及び／又は

ｃ）ヒトケモカイン受容体を発現する標的細胞の最大枯渇は、少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％又は９９％である。

【０３１７】

第６の態様の第１３の実施形態のいくつかの好ましい実施形態において、ケモカイン受容体に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、

ａ）ヒトケモカイン受容体を発現する標的細胞のＡＤＣＣ誘導性枯渇のＥＣ５０は、２００ｐＭ、１００ｐＭ、５０ｐＭ、２５ｐＭ、１２．５ｐＭ、１０ｐＭ若しくは５ｐＭ未満であり、及び／又は

ｂ）ヒトケモカイン受容体を発現する標的細胞のＡＤＣＰ誘発性枯渇のＥＣ５０は、５００ｐＭ、２５０ｐＭ、２００ｐＭ、１５０ｐＭ、１００ｐＭ、７５ｐＭ、５０ｐＭ又は２５ｐＭ未満である。

【０３１８】

第６の態様の第１、第２、第３、第４、第５、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２及び／又は第１３の実施形態と組み合わされてもよく、組み合わされることが示唆される、第６の態様のいくつかの第１４の実施形態によれば、単離された抗体又は抗原結合断片は、ヒト、ラット又はマウスＩｇＧ抗体、好ましくはヒトＩｇＧ１抗体又はマウスＩｇＧ２ａ抗体を含む（実施例６及び８を参照）。

【０３１９】

第６の態様の第１、第２、第３、第４、第５、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３及び／又は第１４の実施形態と組み合わされてもよく、組み合わされることが示唆される、第６の態様のいくつかの第１５の実施形態によれば、単離された抗体又は抗原結合断片はｓｃＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’又はＦ（ａｂ’）２断片である（実施例６を参照）。

【０３２０】

本態様による抗体は、例えば、本明細書の他の箇所で論じられるように、コンジュゲート化され得る。本態様による抗体は、例えば本明細書の他の箇所で論じられるように、７回膜貫通受容体を発現する細胞の関与を特徴とする腫瘍又は疾患の処置に使用することができる。本態様による抗体は、例えば本明細書の他の箇所で論じられるように、ｉｎ　ｖｉｖｏ又はｉｎ　ｖｉｔｒｏで診断剤として使用することができる。さらに、使用説明書を有する本態様の抗体を含むキットが提供される。

【０３２１】

第６の態様による好ましい組み合わせ

以下の実施形態は、第６の態様の好ましい組み合わせを開示し、それによって本発明のモジュール性を強調する。好ましい実施形態Ｉによれば、７回膜貫通受容体のチロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）及びそのＬＩＤドメインを含んでいてもよい第１の単離された硫酸化ポリペプチドに特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、ＴＲＤのチロシン残基の少なくとも２５％、少なくとも５０％又は少なくとも７５％が硫酸化されている。好ましい実施形態ＩＩによれば、好ましい実施形態Ｉによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、ＴＲＤドメインとＬＩＤドメインとの間のシステインは除去されているか、又は異なるアミノ酸に交換されている。好ましい実施形態ＩＩＩによれば、好ましい実施形態Ｉ又はＩＩによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され

、７回膜貫通受容体はヒト、カニクイザル又はマウス７回膜貫通受容体である。好ましい実施形態ＩＶによれば、好ましい実施形態Ｉ、ＩＩ又はＩＩＩのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、７回膜貫通受容体は、ａ）ＣＣケモカイン受容体、好ましくはＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９若しくはＣＣＲ１０、ｂ）ＣＸＣケモカイン受容体、好ましくはＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５若しくはＣＸＣＲ６、又はｃ）ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１である。好ましい実施形態Ｖによれば、好ましい実施形態Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ又はＩＶのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、当該第１の単離された硫酸化ポリペプチドは、以下による配列を含むか又はそれからなる：

ａ．好ましくは少なくともＹ１０及び／又はＹ１８が硫酸化されている、配列番号１、配列番号４、配列番号２、配列番号５、配列番号３若しくは配列番号６、又は

ｂ．好ましくは少なくともＹ２６が硫酸化されている、配列番号７、配列番号１０、配列番号８若しくは配列番号１１、又は

ｃ．好ましくは少なくともＹ３７及び／又はＹ３９が硫酸化されている、配列番号９若しくは配列番号１２、又は

ｄ．好ましくはＹ１６及び／又はＹ１７が硫酸化されている、配列番号１３若しくは配列番号１６、又は

ｅ．好ましくはＹ１６が硫酸化されている、配列番号１４若しくは配列番号１７、又は

ｆ．好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１５若しくは配列番号１８、又は

ｇ．好ましくは少なくともＹ２２が硫酸化されており、好ましくは更にＹ１６、Ｙ１９及び／又はＹ２０が硫酸化されている、配列番号１９、配列番号２２、配列番号２０、配列番号２３、配列番号２１若しくは配列番号２４、又は

ｈ．好ましくはＹ３、Ｙ１０、Ｙ１４及びＹ１５の２つ、３つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号２５、配列番号２８、配列番号２６若しくは配列番号２９、又は

ｉ．好ましくは、Ｙ１０、Ｙ１２及びＹ１６のうちの２つ若しくは３つが硫酸化されている、配列番号２７若しくは配列番号３０、

又は

ｊ．好ましくは、Ｙ１８、Ｙ２６及びＹ２７の少なくとも２つ若しくは３つが硫酸化されている、配列番号３１若しくは配列番号３４、又は

ｋ．好ましくは、Ｙ２３、Ｙ３１及びＹ３２の少なくとも２つ若しくは３つが硫酸化されている、配列番号３２若しくは配列番号３５、又は

ｌ．好ましくはＹ１３、Ｙ１８及びＹ１９のうちの少なくとも２つ若しくは３つが硫酸化されている、配列番号３３若しくは配列番号３６、又は

ｍ．好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号３７、配列番号４０、配列番号３８若しくは配列番号４１、又は

ｎ．、好ましくはＹ８及びＹ１７の一方若しくは両方、並びにＹ２０が硫酸化されていてもよい、配列番号３９若しくは配列番号４２又は

ｏ．好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４６若しくは配列番号４７、又は

ｐ．好ましくはＹ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号４５若しくは配列番号４８、又は

ｑ．、好ましくは少なくともＹ２８、好ましくはＹ１７及び／又はＹ３７も硫酸化されている、配列番号６１、配列番号６４、配列番号６２若しくは配列番号６５、又は

ｒ．好ましくは少なくともＹ２８が硫酸化されており、好ましくはＹ１９も硫酸化されている、配列番号６３若しくは配列番号６６、又は

ｓ．好ましくは、Ｙ１４及びＹ２２の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号６７、配列番号７０、配列番号６８若しくは配列番号７１、又は

ｔ．好ましくは、Ｙ１４、Ｙ１７及びＹ２２の少なくとも１つ、２つ若しくは全てが硫

酸化されている、配列番号６９若しくは配列番号７２、又は
ｕ．好ましくはＹ２７が硫酸化されている、配列番号７３若しくは配列番号７６、又は
ｖ．好ましくはＹ１４及びＹ２８の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号７４若しくは配列番号７７、又は
ｗ．好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号７５若しくは配列番号７８、又は
ｘ．好ましくはＹ２３及び／又はＹ２５が硫酸化されている、配列番号７９若しくは配列番号８２、又は
ｙ．好ましくはＹ２０及び／又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号８０若しくは配列番号８３、又は
ｚ．好ましくはＹ２４が硫酸化されている、配列番号８１若しくは配列番号８４、又は
ａａ．好ましくはＹ２７及びＹ２９の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号８５、配列番号８８、配列番号８６、配列番号８９、配列番号８７若しくは配列番号９０、又は
ｂｂ．好ましくは少なくともＹ１２及び／又はＹ２１が硫酸化されている、配列番号９１、配列番号９４、配列番号９２若しくは配列番号９５、又は
ｃｃ．好ましくは少なくともＹ２３及び／又はＹ１４が硫酸化されている、配列番号９３若しくは配列番号９６、又は
ｄｄ．好ましくはＹ３及びＹ２７の少なくとも一方が硫酸化されている、配列番号９７、配列番号１００、配列番号９８若しくは配列番号１０１、又は
ｅｅ．好ましくは少なくともＹ３及び／若しくはＹ１４及び／又はＹ２０及び／又はＹ２６が硫酸化されている、配列番号９９若しくは配列番号１０２、又は
ｆｆ．好ましくはＹ６及びＹ１０の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０３若しくは配列番号１０６、又は
ｇｇ．好ましくはＹ４、Ｙ７及びＹ３９の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号１０４若しくは配列番号１０７、又は
ｈｈ．好ましくはＹ１１及びＹ１５の少なくとも一方若しくは両方が硫酸化されている、配列番号１０５若しくは配列番号１０８、又は
ｉｉ．好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている、配列番号１５７若しくは配列番号１６０、又は
ｊｊ．好ましくは少なくともＹ２０が硫酸化されている配列番号１５８、又は
ｋｋ．好ましくは少なくともＹ２０又はＹ２２が硫酸化されている、配列番号１６１又は
ｌｌ．好ましくは少なくともＹ１５が硫酸化されている、配列番号１５９若しくは配列番号１６２、又は
ｍｍ．好ましくは少なくともＹ２７が硫酸化されている、配列番号１６３若しくは配列番号１６６、又は
ｎｎ．好ましくは少なくともＹ１４が硫酸化されている配列番号１６４、又は
○○．好ましくは少なくともＹ１４若しくはＹ２８が硫酸化されている、配列番号１６７又は
ｐｐ．好ましくは少なくともＹ６が硫酸化されている、配列番号１６５若しくは配列番号１６８。

【０３２２】

好ましい実施形態ＶＩによれば、好ましい実施形態Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ又はＶのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、第１の単離された硫酸化ポリペプチドに結合するための、及び／又は当該７回膜貫通受容体についての抗体の解離定数又はＥＣ５０は、１５０ｎＭ、１００ｎＭ、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５又は０．２５ｎＭ未満である。好ましい実施形態ＶＩＩによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＶＩのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、単離された抗体又は抗原結合断片は、７回膜貫通受容体のＴＲＤを含む第２の単離された硫酸化ポリペプ

チドに特異的に結合し、好ましくは、第２の単離された硫酸化ポリペプチドに含まれるＴＲＤの７回膜貫通受容体は、

ａ．第１の単離された硫酸化ポリペプチドに含まれるＴＲＤの７回膜貫通受容体とは異なるか、又は

ｂ．第１の単離された硫酸化ポリペプチドに含まれるが異なる種に由来するＴＲＤの対応する７回膜貫通受容体である。

【０３２３】

好ましい実施形態ＶＩＩＩによれば、好ましい実施形態ＶＩＩによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、第２の単離された硫酸化ポリペプチドに結合するため、及び／又は第２の７回膜貫通受容体に結合するための抗体の解離定数又はＥＣ５０は、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５又は０．２５ｎＭ未満である。好ましい実施形態ＩＸによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＶＩＩＩのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、第１の単離された硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体の解離定数（ＫＤ）は、第１の単離された硫酸化ポリペプチドと同じ配列を有する第１の単離された非硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体の解離定数（ＫＤ）よりも低い。好ましい実施形態Ｘによれば、好ましい実施形態ＩＸによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、第１の単離された非硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体の解離定数及び／又はＥＣ５０は、１５０ｎＭ、２５０ｎＭ、５００ｎＭ、１μＭ、２μＭ若しくは３μＭより高いか、又は検出不能である。好ましい実施形態ＸＩによれば、好ましい実施形態ＩＸ又はＸのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、第１の単離された硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体又は断片の解離定数又はＥＣ５０は、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５ｎＭ又は０．２５ｎＭ未満であり、第１の単離された非硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体又は断片の解離定数は１０ｎＭ、２５ｎＭ、５０ｎＭ、１００ｎＭ、２５０ｎＭ又は５００ｎＭよりも高いか、又は検出できない。好ましい実施形態ＸＩＩによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＸＩのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、抗体は、ヒト、ラット又はマウス由来のＣＤＲを含む。好ましい実施形態ＸＩＩＩによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＸＩＩのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、抗体は、

ａ．ヒト由来ＣＤＲを含み、及び／又は

ｂ．ヒト及びカニクイザルに対して交差反応性であり、及び／又は

ｃ．１０～３４％のチロシン及び／又は２～２０％のヒスチジンを含むＨＣＤＲ３領域を特徴とし、及び／又は

ｄ．７回膜貫通受容体のＧタンパク質非依存性シグナル伝達を調節せず、及び／又は

ｅ．非内在化抗体であるか、若しくはアイソタイプ対照の内在化の１．５倍、２倍、３倍、４倍、５倍、６倍、７倍若しくは１０倍より低い内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とし、及び／又は

ｆ．ＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰを誘導し、

ｇ．ヒト、ラット若しくはマウスＩｇＧ抗体、好ましくはヒトＩｇＧ１抗体若しくはマウスＩｇＧ２ａ抗体であり、及び／又は

ｈ．ｓｃＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’又はＦ（ａｂ’）２断片である。

【０３２４】

好ましい実施形態ＸＩＶによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＸＩＩＩのいずれかによる抗体又は抗原結合断片を含むコンジュゲートが提供され、好ましくは、コンジュゲートは、

ａ．放射性元素、

ｂ．オーリスタチン、メイタンシノイド、キネシンスピンドルタンパク質阻害剤、ニコチンアミドホスホリボシルトランスフェラーゼ阻害剤若しくはピロロベンゾジアゼピン誘導体等の細胞傷害剤、

ｃ．更なる抗体若しくは抗原結合断片、又は

ｄ．キメラ抗原受容体、を含む。

【０３２５】

好ましい実施形態ＸＶによれば、チェックポイント阻害剤を標的とする抗体と組み合わせてもよい、７回膜貫通受容体を発現する細胞の関与を特徴とする腫瘍又は疾患の処置に使用するための、好ましい実施形態Ｉ～ＸＩＩＩのいずれかによる抗体若しくは抗原結合断片、又は好ましい実施形態ＸＩＶによるコンジュゲートが提供される。好ましい実施形態ＸＶＩによれば、ｉｎ　ｖｉｖｏ又はｉｎ　ｖｉｔｒｏで診断剤として使用するための好ましい実施形態Ｉ～ＸＩＩＩのいずれかによる抗体若しくは抗原結合断片、又は好ましい実施形態ＸＩＶによるコンジュゲートが提供される。好ましい実施形態ＸＶＩＩによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＸＩＩＩのいずれかによる抗体若しくは抗原結合断片、又は好ましい実施形態ＸＩＶによるコンジュゲートを使用説明書と共に含むキットが提供される。

【０３２６】

ＣＣＲ８を結合する抗体

以下の態様７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７及び１８は、ＣＣＲ８に特異的に結合する抗体に関する。各態様は個別に説明されているが、明らかに互換性がない場合を除いて、異なる構造的又は機能的態様を組み合わせることができ、互いに組み合わせることが提案される。さらに、各態様の各実施形態は、明らかに互換性がない場合を除いて、同じ又は異なる態様の各実施形態と組み合わせることができる。

【０３２７】

特に明記しない限り、ＣＣＲ８は、任意の種、例えばヒト、サル、カニクイザル（ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）（カニクイザル（ｃｙｎｏｍｏｌｇｕｓ　ｍｏｎｋｅｙ））、アカゲザル（ｍａｃａｃａ　ｍｕｌａｔｔａ）（アカゲザル（ｒｈｅｓｕｓ　ｍａｃａｑｕｅ））、げっ歯類、マウス、ラット、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコ及びラクダのＣＣＲ８に由来し得る。少なくとも２つの種（１つの種はヒトである）由来のＣＣＲ８に結合する抗体が非常に好ましく、これらの態様について開示される各実施形態と組み合わせることが示唆される。ヒト由来ＣＤＲを有する抗体が非常に好ましく、これらの態様について開示される各実施形態と組み合わせることが示唆される。本態様によれば、少なくとも２１％のチロシン残基及び／又は少なくとも２％、７％又は１０％のヒスチジンの頻度を特徴とするＨＣＤＲ３ドメインを有する抗体が非常に好ましく、本態様について開示される各実施形態と組み合わせることが示唆される。本態様によれば、ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰの両方を誘導する抗体、例えば、アフコシル化抗体が非常に好ましく、これらの態様について開示される各実施形態と組み合わせることが示唆される。本態様によれば、低内在化抗体又は非内在化抗体又は断片が非常に好ましく、これらの態様について開示される各実施形態と組み合わせることが示唆される。記載される態様のそれぞれに適用可能ないくつかの非常に好ましい特徴は、「「全ての態様」による好ましい組み合わせ」のセクションに記載されている。

【０３２８】

態様７－ＣＣＲ８抗体結合硫酸化ＴＲＤ

ヒトＣＣＲ８の細胞外ドメインは、以下の４つの領域に構造化することができる：

（ｉ）Ｎ末端ドメインであって、

ａ）アミノ酸１～２４（配列番号４３）によって形成される膜遠位チロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）

ｂ）アミノ酸位置２５のシステイン、及び

ｃ）アミノ酸２６～３５（配列番号４９）によって形成されるＬＩＤドメイン

（ｉｉ）配列番号５２に記載の細胞外ドメイン１（ＥＣＬ１）、

（ｉｉｉ）配列番号５５に記載の細胞外ドメイン２（ＥＣＬ２）、及び

（ｉｖ）配列番号５８に記載の細胞外ドメイン３（ＥＣＬ３）。

【０３２９】

第６の態様と同じであっても同じでなくてもよい第７の態様によれば、ＣＣＲ８の硫酸チロシンリッチドメインに特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供される。

【０３３０】
例えば、抗体又は抗原結合断片は、第１の単離された硫酸化ポリペプチドに結合し、これは、
ａ）ＣＣＲ８のチロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）、又は
ｂ）ＴＲＤを含むＣＣＲ８のＮ末端を含み、
ＴＲＤドメインとＬＩＤドメインとの間の少なくともシステインは除去されていてもよいか、又は異なるアミノ酸に交換されていてもよい。本態様による硫酸化ポリペプチドは、好ましくはＴＲＤのチロシン残基の少なくとも２５％、少なくとも５０％又は少なくとも７５％が硫酸化されているポリペプチドである。ポリペプチドがＴＲＤを含むＣＣＲ８のＮ末端を含む場合、好ましくはＴＲＤとＬＩＤドメインとの間のシステインはセリンに交換されているか、又は除去されている。
【０３３１】
理論に拘束されるものではないが、ＣＣＲ８について提供される硫酸化パターンの特異的認識は、抗体がＣＣＲ８の天然リガンドであるＣＣＬ１と競合する場合、並びに例えば第１１の態様に記載されるように、抗体がＣＣＲ８シグナル伝達をアゴナイズ又はアンタゴナイズする場合及びその方法に影響を及ぼすようである。
【０３３２】
本態様によるいくつかの好ましい実施形態において、本発明の抗体は、＜５Ｅ－８Ｍ，＜４Ｅ－８Ｍ，＜３Ｅ－８Ｍ，＜２Ｅ－８Ｍ，＜１Ｅ－８Ｍ，＜９Ｅ－９Ｍ，＜８Ｅ－９Ｍ，＜７Ｅ－９Ｍ，＜６Ｅ－９Ｍ，＜５Ｅ－９Ｍ，＜４Ｅ－９Ｍ，＜３Ｅ－９Ｍ，＜２．５Ｅ－９Ｍ，＜２Ｅ－９Ｍ，＜１．５Ｅ－９Ｍ，＜１Ｅ－９Ｍ，＜９Ｅ－１０Ｍ，＜８Ｅ－１０Ｍ，＜７Ｅ－１０Ｍ，＜６Ｅ－１０Ｍ，＜５Ｅ－１０Ｍ，＜４Ｅ－１０Ｍ，＜３Ｅ－１０Ｍ，＜２．５Ｅ－１０Ｍ，＜２Ｅ－１０Ｍ，＜１．５Ｅ－１０Ｍ，＜１Ｅ－１０Ｍ，ｏｒ＜９Ｅ－１１ＭのＫＤ値でヒト及び／又はカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化ＴＲＤに結合する。例えば、本発明の抗体は、＜８Ｅ－９Ｍ～＞４Ｅ－１０ＭのＫＤ値でヒト及び／又はカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化ＴＲＤに結合し得る。例えば、本発明の抗体は、＜８Ｅ－９Ｍ～＞５．５Ｅ－１０ＭのＫＤ値でヒト及び／又はカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化ＴＲＤに結合し得る。これらの実施形態のいくつかの更に好ましい実施形態において、本発明の抗体は、実質的に同じＫＤ値でヒト及び／又はカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化Ｎ末端（すなわち、前述の硫酸化ＴＲＤを含む）に結合する。これらの実施形態のうちのいくつかの最も好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ヒト及び／又はカニクイザルＣＣＲ８の非硫酸化ＴＲＤに実質的に結合しない。
【０３３３】
本態様によるいくつかの好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ヒト及び／又はカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化Ｎ末端に、＜５Ｅ－８Ｍ、＜４Ｅ－８Ｍ、＜３Ｅ－８Ｍ、＜２Ｅ－８Ｍ、＜１Ｅ－８Ｍ、＜９Ｅ－９Ｍ、＜８Ｅ－９Ｍ、＜７Ｅ－９Ｍ、＜６Ｅ－９Ｍ、＜５Ｅ－９Ｍ、＜４Ｅ－９Ｍ、＜３Ｅ－９Ｍ、＜２．５Ｅ－９Ｍ、＜２Ｅ－９Ｍ、＜１．５Ｅ－９Ｍ、＜１Ｅ－９Ｍ、＜９Ｅ－１０Ｍ、＜８Ｅ－１０Ｍ、＜７Ｅ－１０Ｍ、＜６Ｅ－１０Ｍ、＜５Ｅ－１０Ｍ、＜４Ｅ－１０Ｍ、＜３Ｅ－１０Ｍ、＜２．５Ｅ－１０Ｍ、＜２Ｅ－１０Ｍ、＜１．５Ｅ－１０Ｍ、＜１Ｅ－１０Ｍ、＜９Ｅ－１１Ｍ、＜８Ｅ－１１Ｍ、＜７Ｅ－１１Ｍ、＜６Ｅ－１１Ｍ、又は＜５Ｅ－１１ＭのＫＤ値で結合する、例えば、本発明の抗体は、ヒト及び／又はカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化Ｎ末端に＜８Ｅ－９Ｍ～＞８Ｅ－１１ＭのＫＤ値で結合し得る。例えば、本発明の抗体は、ヒト及び／又はカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化Ｎ末端に＜８Ｅ－９Ｍ～＞７．５Ｅ－１１ＭのＫＤ値で結合し得る。これらの実施形態のいくつかの更に好ましい実施形態において、本発明の抗体は、実質的に同じＫＤ値又は同程度のＫＤ値で、ヒト及び／又はカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化ＴＲＤ（すなわち、前述の硫酸化Ｎ末端の部分配列）に結合する。これらの実施形態のうちのいくつかの最も好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ヒト及び／又はカニクイザルＣＣＲ８の非硫酸化ＴＲＤに実質的に結合しない。
【０３３４】

第７の態様のいくつかの第１の実施形態によれば、第１の単離された硫酸化ポリペプチドは、
ａ）好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４３（ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）、
ｂ）好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号４４（ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）、及び／又は
ｃ）好ましくはＹ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４５（ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）を含む。
【０３３５】
第７の態様のいくつかの第２の実施形態によれば、第１の単離された硫酸化ポリペプチドは、
ａ）好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４６（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、
ｂ）好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号４７（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）、及び／又は
ｃ）好ましくはＹ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４８（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む。
【０３３６】
第１及び／又は第２の実施形態と同じであっても異なっていてもよい、第７の態様のいくつかの第３の実施形態によれば、抗体又は抗原結合断片は、＜１５ｎＭ、＜１０ｎＭ、＜５ｎＭ、＜１ｎＭ又は＜０．６ｎＭの解離定数又はＥＣ５０で第１の単離された硫酸化ポリペプチドに特異的に結合する。
【０３３７】
これらの実施形態のいくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗体又はその抗原結合断片は、＜１５ｎＭ、＜１０ｎＭ、＜５ｎＭ、＜１ｎＭ又は＜０．６ｎＭの解離定数又はＥＣ５０で、
ａ）Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、ヒトＣＣＲ８若しくは配列番号４６に記載の単離されたポリペプチド、
ｂ）Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、カニクイザルＣＣＲ８若しくは配列番号４７による単離されたポリペプチド、及び／又は
ｃ）Ｙ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、マウスＣＣＲ８若しくは配列番号４８に記載の単離されたポリペプチドに特異的に結合する。
【０３３８】
第７の態様の第１、第２及び／又は第３態様と組み合わされてもよく、また組み合わされることが示唆される、第７の態様のいくつかの第４実施形態によれば、第１の単離された硫酸化ポリペプチドを結合させるための抗体の解離定数（ＫＤ）は、第１の単離された硫酸化ポリペプチドと同じ配列を有する単離された非硫酸化ポリペプチドを結合させるための抗体の解離定数（ＫＤ）よりも低い。
【０３３９】
これらの第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａによれば、単離された非硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体の解離定数又はＥＣ５０は、１ｐＭ、１０ｎＭ、２５ｎＭ、５０ｎＭ、１００ｎＭ、１５０ｎＭ、２００ｎＭ、２５０ｎＭ、３００ｎＭ、３５０ｎＭ、４００ｎＭ、４５０ｎＭ、５００ｎＭ、６００ｎＭ、７００ｎＭ、８００ｎＭ、９００ｎＭ、１μＭ、１．２５μＭ、１．５μＭ、１．７５μＭ、２μＭ、２．２５μＭ、２．５μＭ、２．７５μＭ若しくは３μＭ、５μＭより高いか、又は検出不能である。好ましくは、単離された非硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体の解離定数又はＥＣ５０は、１００ｎＭ、２５０ｎＭ、５００ｎＭ、１μＭ、２μＭ若しくは３μＭより高いか、又は検出不能である。
【０３４０】

これらの第２の実施形態の実施形態Ａと同じであってもよい、これらの第４の実施形態のいくつかの実施形態Ｂによれば、第１の単離された硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体の解離定数又はＥＣ５０は、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５ｎＭ又は０．２５ｎＭ未満であり、単離された非硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体の解離定数又はＥＣ５０は、１０ｎＭ、２５ｎＭ、５０ｎＭ、１００ｎＭ、２５０ｎＭ又は５００ｎＭよりも高いか、又は検出不可能である。

【０３４１】

態様８－ヒトＣＤＲを含むＣＣＲ８抗体

第６又は第７の態様と同じであっても同じでなくてもよい第８の態様によれば、ＣＣＲ８に（具体的に）結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体はヒト由来ＣＤＲを含む。最も好ましくは、抗体又はその抗原結合断片は、ＣＣＲ８の硫酸化ＴＲＤに（特異的に）結合する。いくつかの好ましい実施形態によれば、単一のＣＤＲは、最も近いヒト生殖系列から１、２、３、４、５又は６未満の偏差を含む。いくつかの非常に好ましい実施形態によれば、ヒト由来ＣＤＲは、最も近いヒト生殖系列からの逸脱がないか、又は１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４若しくは１５未満の逸脱を含む。最も近いヒト生殖系列は、当技術分野で公知のように、例えば、本明細書の他の箇所で論じられるように、ＩＭＧＴヒト生殖系列データベースから検索されたデータと共にＩｇＢＬＡＳＴを使用してｉｎ　ｓｉｌｉｃｏで決定され得る。

【０３４２】

非ヒトＣＤＲによる抗体のヒト化は免疫原性を改善し得るが、残存免疫原性はＣＤＲ領域に存在する（Ｈａｒｄｉｎｇ，Ｆｉｏｎａ　Ａ．，ｅｔ　ａｌ．“Ｔｈｅ　ｉｍｍｕｎｏｇｅｎｉｃｉｔｙ　ｏｆ　ｈｕｍａｎｉｚｅｄ　ａｎｄ　ｆｕｌｌｙ　ｈｕｍａｎ　ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ｒｅｓｉｄｕａｌ　ｉｍｍｕｎｏｇｅｎｉｃｉｔｙ　ｒｅｓｉｄｅｓ　ｉｎ　ｔｈｅ　ＣＤＲ　ｒｅｇｉｏｎｓ．”ＭＡｂｓ．Ｖｏｌ．２．Ｎｏ．３．Ｔａｙｌｏｒ＆Ｆｒａｎｃｉｓ，２０１０．）。したがって、ヒト由来ＣＤＲ及び少ない生殖系列偏差を含む現在の態様による抗体は、治療剤として優れた適合性を有すると考えられる。

【０３４３】

ヒト由来ＣＤＲを含む抗体は、本明細書中に記載されるように、例えば、実施例４及び６に記載されるようなヒトファージディスプレイライブラリーを使用することによって得ることができる。あるいは、機能的な内因性免疫グロブリンを発現することができないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現することができるトランスジェニックマウスを使用して、ヒトＣＤＲを有する抗体を産生することもできる。さらに、ヒトＣＤＲを含む抗体はまた、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ活性化Ｂ細胞（その各々が参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第５，５６７，６１０号及び第５，２２９，２７５号を参照）を使用することによって生成され得る。

【０３４４】

ヒト由来ＣＤＲを含む提供される単離された抗体又は抗原結合断片はまた、好ましくは、態様９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７若しくは１８のいずれか又はそれらの組み合わせによる抗体である。

【０３４５】

態様９－交差反応性ＣＣＲ８抗体

第６、第７及び／又は第８の態様と同じであっても同じでなくてもよい第９の態様によれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、好ましくはヒト、サル、カニクイザル（ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）（カニクイザル（ｃｙｎｏｍｏｌｇｕｓ　ｍｏｎｋｅｙ））、アカゲザル（ｍａｃａｃａ　ｍｕｌａｔｔａ）（アカゲザル（ｒｈｅｓｕｓ　ｍａｃａｑｕｅ））、げっ歯類、マウス、ラット、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコ及びラクダから選択され、更により好ましくはヒト、カニクイザル及びマウスから選択される少なくとも２つの種由来のＣＣＲ８に対して交差反応性である。いくつかの最も好ましい実施形態によれば、

抗体又は抗原結合断片は、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８に対して交差反応性である。

【０３４６】

好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、第１の解離定数ＫＤで第１の種由来のＣＣＲ８に結合し、第２の解離定数ＫＤで第２の種由来のＣＣＲ８に結合し、第１及び第２の解離定数は同程度の大きさである。当業者によって理解されるように、２つの値の間の大きさの順序の差は１０倍である。

【０３４７】

交差反応性抗ＣＣＲ８抗体は、抗体がヒトに投与される前に、薬理学的データ及び安全性に関して治療剤を特徴付けるために非ヒト動物モデルで使用することができることから、治療抗体の開発に有利である。しかしながら、抗体認識に使用することができるＣＣＲ８の部分は種間で低い相同性を有するため、２つの種において同様の結合挙動を有する交差反応性抗体を生成することは困難である（実施例２を参照）。本発明によれば、ＣＣＲ８に対する交差反応性抗体は、同じ程度の親和性を有する２つ以上の種からのＣＣＲ８に結合する交差反応性抗体を容易かつ便利な方法で得ることができるように、種間でより高い保存性を有するモチーフを含む小さな硫酸化チロシンを使用することによって生成することができる。より詳細には、これらの硫酸化ＴＲＤモチーフは種間で保存されているため、抗体は硫酸化ＴＲＤモチーフに特異的に結合し、交差反応性抗体を得ることができる。

【０３４８】

本態様によるいくつかの好ましい実施形態において、本発明の抗体は、＜５Ｅ－８Ｍ，＜４Ｅ－８Ｍ，＜３Ｅ－８Ｍ，＜２Ｅ－８Ｍ，＜１Ｅ－８Ｍ，＜９Ｅ－９Ｍ，＜８Ｅ－９Ｍ，＜７Ｅ－９Ｍ，＜６Ｅ－９Ｍ，＜５Ｅ－９Ｍ，＜４Ｅ－９Ｍ，＜３Ｅ－９Ｍ，＜２．５Ｅ－９Ｍ，＜２Ｅ－９Ｍ，＜１．５Ｅ－９Ｍ，＜１Ｅ－９Ｍ，＜９Ｅ－１０Ｍ，＜８Ｅ－１０Ｍ，＜７Ｅ－１０Ｍ，＜６Ｅ－１０Ｍ，＜５Ｅ－１０Ｍ，＜４Ｅ－１０Ｍ，＜３Ｅ－１０Ｍ，＜２．５Ｅ－１０Ｍ，＜２Ｅ－１０Ｍ，＜１．５Ｅ－１０Ｍ，＜１Ｅ－１０Ｍ，ｏｒ＜９Ｅ－１１ＭのＫＤ値でヒト及びカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化ＴＲＤに結合する。例えば、本発明の抗体は、＜８Ｅ－９Ｍ～＞４Ｅ－１０ＭのＫＤ値でヒト及びカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化ＴＲＤに結合し得る。例えば、本発明の抗体は、＜８Ｅ－９Ｍ～＞５．５Ｅ－１０ＭのＫＤ値でヒト及びカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化ＴＲＤに結合し得る。これらの実施形態のいくつかの更に好ましい実施形態において、本発明の抗体は、実質的に同じＫＤ値又は１桁以内のＫＤでヒト及びカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化Ｎ末端（すなわち、前述の硫酸化ＴＲＤを含む）に結合する。これらの実施形態のうちのいくつかの最も好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８の非硫酸化ＴＲＤに実質的に結合しない。

【０３４９】

本態様によるいくつかの好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化Ｎ末端に、＜５Ｅ－８Ｍ、＜４Ｅ－８Ｍ、＜３Ｅ－８Ｍ、＜２Ｅ－８Ｍ、＜１Ｅ－８Ｍ、＜９Ｅ－９Ｍ、＜８Ｅ－９Ｍ、＜７Ｅ－９Ｍ、＜６Ｅ－９Ｍ、＜５Ｅ－９Ｍ、＜４Ｅ－９Ｍ、＜３Ｅ－９Ｍ、＜２．５Ｅ－９Ｍ、＜２Ｅ－９Ｍ、＜１．５Ｅ－９Ｍ、＜１Ｅ－９Ｍ、＜９Ｅ－１０Ｍ、＜８Ｅ－１０Ｍ、＜７Ｅ－１０Ｍ、＜６Ｅ－１０Ｍ、＜５Ｅ－１０Ｍ、＜４Ｅ－１０Ｍ、＜３Ｅ－１０Ｍ、＜２．５Ｅ－１０Ｍ、＜２Ｅ－１０Ｍ、＜１．５Ｅ－１０Ｍ、＜１Ｅ－１０Ｍ、＜９Ｅ－１１Ｍ、＜８Ｅ－１１Ｍ、＜７Ｅ－１１Ｍ、＜６Ｅ－１１Ｍ、又は＜５Ｅ－１１ＭのＫＤ値で結合する、例えば、本発明の抗体は、ヒト又はカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化Ｎ末端に＜８Ｅ－９Ｍ～＞８Ｅ－１１ＭのＫＤ値で結合し得る。例えば、本発明の抗体は、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化Ｎ末端に＜８Ｅ－９Ｍ～＞７．５Ｅ－１１ＭのＫＤ値で結合し得る。これらの実施形態のいくつかの更に好ましい実施形態において、本発明の抗体は、実質的に同じＫＤ値又は同程度の値で、ヒト及び／又はカニクイザルＣＣＲ８の硫酸化ＴＲＤ（すなわち、前述の硫酸化Ｎ末端の部分配列）に結合する。これらの実施形態のうちのいくつかの最も好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８の非硫酸化

ＴＲＤに実質的に結合しない。

【０３５０】

第９の態様のいくつかの第１の実施形態によれば、抗体は、

ａ）配列番号４６（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドであって、好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、配列番号４７（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチドであって、好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｂ）配列番号４３（ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドであって、好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、配列番号４４（ＣＣＲ８＿ＭＡＣＦＡ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチドであって、好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、第２の単離された硫酸化ポリペプチド、に特異的に結合する。

【０３５１】

好ましくは、ヒトＣＣＲ８に結合するための、又は第１の単離された硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体又は抗原結合断片のＥＣ５０は、２００ｎＭ、１５０ｎＭ、１００ｎＭ、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５又は０．２５ｎＭ未満、例えば１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５又は０．２５ｎＭ未満である。好ましくは、カニクイザルＣＣＲ８に結合するための、又は第２の単離された硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体又は抗原結合断片のＥＣ５０は、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５又は０．２５ｎＭ未満である。いくつかの好ましい実施形態において、抗体は、第１の単離された硫酸化ポリペプチド及び第２の単離された硫酸化ポリペプチドに実質的に同じ親和性で結合する。

【０３５２】

第９の態様のいくつかの第２の実施形態によれば、抗体は、

ａ）配列番号４６（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドであって、好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、配列番号４８（Ｃ＝Ｘ又はＳである、ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ＿Ｎ　ｔｅｒｍ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチドであって、好ましくはＹ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、第２の単離された硫酸化ポリペプチド、又は

ｂ）配列番号４３（ＣＣＲ８＿ＨＵＭＡＮ＿ＴＲＤ）を含む第１の単離された硫酸化ポリペプチドであって、好ましくはＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、第１の単離された硫酸化ポリペプチドと、配列番号４５（ＣＣＲ８＿ＭＯＵＳＥ＿ＴＲＤ）を含む第２の単離された硫酸化ポリペプチドであって、好ましくはＹ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、第２の単離された硫酸化ポリペプチド、に特異的に結合する。

【０３５３】

好ましくは、ヒトＣＣＲ８に結合するための、又は第１の単離された硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体又は抗原結合断片のＥＣ５０は、２００ｎＭ、１５０ｎＭ、１００ｎＭ、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５又は０．２５ｎＭ未満、例えば１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５又は０．２５ｎＭ未満である。好ましくは、マウスＣＣＲ８に結合するための、又は第２の単離された硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体又は抗原結合断片のＥＣ５０は、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５又は０．２５ｎＭ未満である。いくつかの好ましい実施形態において、抗体は、第１の単離された硫酸化ポリペプチド及び第２の単離された硫酸化ポリペプチドに実質的に同じ親和性で結合する。

【０３５４】

提供される単離された抗体又は抗原結合断片は、好ましくは、態様７、８、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７若しくは１８のいずれか又はそれらの組み合わせによる抗体でもある。

【０３５５】

態様１０－ＨＣＤＲ３構造によって定義されるＣＣＲ８抗体

第６、第７、第８及び／又は第９の態様と同じであっても同じでなくてもよい第１０の態様によれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、ヒスチジン及び／又はチロシンの頻度が増加したＨＣＤＲ３領域を特徴とする。当業者によって理解されるように、各アミノ酸の頻度は別々に論じられているが、当業者がそれらの不適合性を直ちに認識する場合を除いて、それぞれの頻度は相互に関連し、組み合わせることが示唆される。ＣＤＲ領域の決定のために、Ｋａｂａｔの免疫グロブリンアミノ酸残基ナンバリングシステムが本明細書中で使用され、疑いがある場合、には決定的であるものとする。

【０３５６】

驚くべきことに、本発明によるＣＣＲ８抗体は、一致した長さを有するランダムな完全ヒトＨＣＤＲ３について予想されるよりも実質的に高い頻度のチロシン残基を有するＨＣＤＲ３を特徴とすることが見出された（約１０％、Ｚｅｍｌｉｎ，Ｍｉｃｈａｅｌ，ｅｔａｌ．“Ｅｘｐｒｅｓｓｅｄ ｍｕｒｉｎｅ ａｎｄ ｈｕｍａｎ ＣＤＲ－Ｈ３ ｉｎｔｅｒｖａｌｓ ｏｆ ｅｑｕａｌ ｌｅｎｇｔｈ ｅｘｈｉｂｉｔ ｄｉｓｔｉｎｃｔ ｒｅｐｅｒｔｏｉｒｅｓ ｔｈａｔ ｄｉｆｆｅｒ ｉｎ ｔｈｅｉｒ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄ ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎ ａｎｄ ｐｒｅｄｉｃｔｅｄ ｒａｎｇｅ ｏｆ ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ．”Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｂｉｏｌｏｇｙ ３３４．４（２００３）：７３３－７４９を参照）。平均して、本発明の抗体の初期セットは約２０．６％のチロシン残基を含んでいたが、特異的ヒトＣＣＲ８結合抗体の最適化されたセットは、ＨＣＤＲ３中の平均２１％のチロシン残基を含んでいた。

【０３５７】

さらに、正に荷電したアミノ酸の数、特にヒスチジン残基の数は、特に改善された治療的特徴を有する抗体の最適化されたセットにおいて、予想よりも高かった（実施例９を参照）。平均して、合計すると、ヒスチジン残基及びチロシン残基は、ＣＣＲ８結合抗体の最適化されたセットのＨＣＤＲ３中の全アミノ酸の３１％を占めた。

【０３５８】

興味深いことに、硫酸化ＴＲＤを含む使用された抗原は、チロシン残基及び特に多数の負電荷を特徴とし、これは硫酸化によって更に増加した。理論に拘束されるものではないが、本発明者らは、本発明の抗体のＣＤＲＨ３中の高いチロシン及びヒスチジン含有量に対する優先性は、抗原の特定の硫酸化モチーフによって引き起こされ、ＨＣＤＲ３中の高いチロシン／ヒスチジン含有量は、抗原の特異的認識を促進すると考える。理論に拘束されるものではないが、本発明者らは更に、この特異的認識が、例えば態様１１で論じられるように、ＣＣＲ８のモジュレーターとして得られる抗体の特徴に影響を及ぼすと考える。

【０３５９】

第１０の態様のいくつかの非常に好ましい実施形態において、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は断片は、１０～３４％のチロシン及び／又は２～２０％のヒスチジンを含むＨＣＤＲ３領域を特徴とする。

【０３６０】

提供される単離された抗体又は抗原結合断片は、好ましくは、態様７、８、９、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７若しくは１８のいずれか又はそれらの組み合わせによる抗体でもある。

【０３６１】

第１０の態様のいくつかの第１の実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、

ａ）＞０及び＜３５％、＞８及び＜３４％、１０以上３４％以下、若しくは＞１５及び＜３１％のチロシン（Ｙ）残基を有し、及び／又は
ｂ）＞０及び≦１６％、≧２及び≦２０％、若しくは≧７及び≦２０％のヒスチジン（Ｈ）残基を有し、並びに
ｃ）好ましくは＞０及び≦１８％、≧７及び≦１０％、若しくは≧０及び≦７％のアルギニン（Ｒ）残基、及び／又は
ｄ）好ましくは＞０及び≦２５％、≧７及び≦１６％、若しくは≧７及び≦１３％のアスパラギン酸（Ｄ）残基を有し、及び／又は
ｅ）好ましくはリジン（Ｋ）残基を含まない、及び／又は
ｆ）好ましくはグルタミン酸（Ｅ）残基を含まない、ＨＣＤＲ３を含む。

【０３６２】
第１の実施形態と同じであっても異なっていてもよい、第１０の態様のいくつかの第２の実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、
ａ）＞０及び＜４７％、＞２２及び＜５０％、＞１０及び＜３４％、若しくは＞１５及び＜４７％の荷電アミノ酸を有する、及び／又は
ｂ）＞０及び＜３２％、＞８及び＜３０％、若しくは＞１０及び＜３７％の正に荷電したアミノ酸、及び／又は
ｃ）＞０及び＜２６％、≧７及び＜１６％、若しくは＞７及び＜１４％の負に荷電したアミノ酸を有する、ＨＣＤＲ３を含む。

【０３６３】
第１及び／又は第２の実施形態と同じであっても異なっていてもよい、第１０の態様のいくつかの第３の実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、合計で、＞０及び≦４２％、≧１０及び≦４２％、又は≧３６及び≦４３％のヒスチジン残基及びチロシン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３６４】
チロシン（Ｙ）
いくつかの好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、３３％、３１％、２５％、２３％、２１％、２０％、１８％、１５％、１０％、９％、８％又は０％のチロシンを有するＨＣＤＲ３を含む。いくつかの非常に好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、（ａ）＞０及び＜３５％、（ｂ）＞８及び＜３４％、（ｃ）＞１０及び＜３４％、又は（ｄ）＞１５及び＜３１％チロシンを有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３６５】
いくつかの実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、＞８、＞９、＞１０、＞１１、＞１２、＞１３、＞１４、＞１５、＞１６、＞１７、＞１８、＞１９、＞２０、＞２１、＞２２、＞２３、＞２４、＞２５、＞２６、＞２７、＞２８、＞２９、＞３０、＞３１、＞３２、＞３３％のチロシン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、＜３５、＜３４、＜３３、＜３２、＜３１、＜３０、＜２９、＜２８、＜２７、＜２６、＜２５、＜２４、＜２３、＜２２、＜２１、＜２０、＜１９、＜１８、＜１７、＜１６、＜１５、＜１４＜１３、＜１２、＜１１、＜１０、＜９又は＜８％のチロシン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３６６】
いくつかの実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、＞０及び＜３４％、＞１及び＜３４％、＞２及び＜３４％、＞３及び＜３４％、＞４及び＜３４％、＞５及び＜３４％、＞６及び＜３４％、＞７及び＜３４％、＞８及び＜３４％、＞９及び＜３４％、＞１０及び＜３４％、＞１１及び＜３４％、＞１２及び＜３４％、＞１３及び＜３４％、＞１４及び＜３４％、＞１５及び＜３４％、＞１６及び＜３４％、＞１７及び＜３４％、＞１８及び＜３４％、＞１９及び＜３４％、＞２０及び＜３４％、＞２１及び＜３４％、＞２２及び＜３４％、＞２３及び＜３４％、＞２４及び＜３４％、＞２５及び＜３４％、＞２６及び＜３４％、＞２７及び＜３４％、＞２８及び＜３４％、＞２９及び＜３４

％ｏｒ＞３０及び＜３４％のチロシン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３６７】

いくつかの実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、＞０及び＜３６％、＞０及び＜３５％、＞０及び＜３４％、＞０及び＜３３％、＞０及び＜３２％、＞０及び＜３１％、＞０及び＜３０％、＞０及び＜２９％、＞０及び＜２８％、＞０及び＜２７％、＞０及び＜２６％、＞０及び＜２５％、＞０及び＜２４％、＞０及び＜２３％、＞０及び＜２２％、＞０及び＜２１％、＞０及び＜２０％、＞０及び＜１９％、＞０及び＜１８％、＞０及び＜１７％、＞０及び＜１６％、ｏｒ＞０及び＜１５％、＞０及び＜１４％、＞０及び＜１３％、＞０及び＜１２％、＞０及び＜１１％、＞０及び＜１０％、＞０及び＜９％、＞０及び＜８％、＞０及び＜７％、＞０及び＜６％、＞０及び＜５％チロシン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３６８】

荷電ａａ

いくつかの好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、４７％、３９％、３１％、２８％、２７％、２５％、２３％、２０％、１８％、１７％、１６％、１５％、９％又は０％の荷電アミノ酸を有するＨＣＤＲ３を含む。いくつかの非常に好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、（ａ）＞０及び＜４７％、（ｂ）＞２２及び＜５０％、（ｃ）＞１０及び＜３４％、又は（ｄ）＞１５及び＜４７％の荷電アミノ酸を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３６９】

正に荷電したａａ

いくつかの好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、３１％、２３％、１８％、１５％、１０％、８％、７％又は０％の正に荷電したアミノ酸を有するＨＣＤＲ３を含む。いくつかの非常に好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、（ａ）＞０及び＜３２％、（ｂ）＞８並びに＜３０％、又は（ｃ）＞１０及び＜３７％の正に電荷したアミノ酸を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３７０】

負に荷電したａａ

いくつかの好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、２５％、１７％、１５％、１１％、１０％、９％、８％、７％又は０％の負に荷電したアミノ酸を有するＨＣＤＲ３を含む。いくつかの非常に好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片が、（ａ）＞０及び＜２６％、（ｂ）≧７及び＜１６％、又は（ｃ）＞７及び＜１４％の負に荷電したアミノ酸を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３７１】

ヒスチジン（Ｈ）

いくつかの好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、０％、３％、７％、８％、１０％又は１５％のヒスチジン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。好ましくは、単離された抗体又は抗原結合断片は、少なくとも１つのヒスチジン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。いくつかの非常に好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、（ａ）＞０及び≦１６％、（ｂ）≧２及び≦２０％又は（ｃ）≧７及び≦２０％のヒスチジン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３７２】

いくつかの実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、≧０、＞０、＞１、＞２、＞３、＞４、＞５、＞６、＞７、＞８、＞９、＞１０、＞１１、＞１２、＞１３、＞１４、＞１５、＞１６、＞１７、＞１８、＞１９、＞２０％のヒスチジン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、＜２０、＜１９、＜１８、＜１７、＜１６、＜１５、＜１４＜１３、＜１２、＜１１、＜１０、＜９、＜８、＜７、＜６、＜５、＜４、＜３、＜２又は＜１％のヒスチジン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３７３】

いくつかの実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、＞０及び＜２４％、＞１及び＜２４％、＞２及び＜２４％、＞３及び＜２４％、＞４及び＜２４％、＞５及び＜２４％、＞６及び＜２４％、＞７及び＜２４％、＞８及び＜２４％、＞９及び＜２４％、＞１０及び＜２４％、＞１１及び＜２４％、＞１２及び＜２４％、＞１３及び＜２４％、＞１４及び＜２４％、＞１５及び＜２４％、＞１６及び＜２４％、＞１７及び＜２４％、＞１８及び＜２４％、＞１９及び＜２４％、＞２０及び＜２４％、＞２１及び＜２４％、＞２２及び＜２４％、又は＞２３及び＜２４％のヒスチジン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３７４】

いくつかの実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、＞０及び＜２４％、＞０及び＜２３％、＞０及び＜２２％、＞０及び＜２１％、＞０及び＜２０％、＞０及び＜１９％、＞０及び＜１８％、＞０及び＜１７％、＞０及び＜１６％、ｏｒ＞０及び＜１５％、＞０及び＜１４％、＞０及び＜１３％、＞０及び＜１２％、＞０及び＜１１％、＞０及び＜１０％、＞０及び＜９％、＞０及び＜８％、＞０及び＜７％、＞０及び＜６％、＞０及び＜５％、＞０及び＜４％、＞０及び＜３％、＞０及び＜２％、又は＞０及び＜１％のヒスチジン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３７５】

ヒスチジン＋チロシン

いくつかの好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、合計で４２％、３８％、３３％、３１％、３０％、２４％、２３％、１８％、１５％、１０％、９％又は０％のヒスチジン及びチロシン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。好ましくは、単離された抗体又は抗原結合断片は、少なくとも１つのヒスチジン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。いくつかの非常に好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片が、（ａ）＞０≦４２％、（ｂ）≧１０≦４２％又は（ｃ）≧３６≦４３％のヒスチジン及びチロシン残基を合計で有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３７６】

アルギニン（Ｒ）

いくつかの好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、０％、７％、８％、１０％、１５％又は１８％のアルギニン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。いくつかの非常に好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片が、（ａ）＞０及び≦１８％、（ｂ）≧７及び≦１０％又は（ｃ）≧０及び≦７％のアルギニン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３７７】

リジン（Ｋ）

いくつかの実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、０％～８％のリジン残基を有するＨＣＤＲ３を含む。いくつかの実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、リジン残基を有さないＨＣＤＲ３を含む。

【０３７８】

アスパラギン酸（Ｄ）

いくつかの好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、０％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１５％、１６％、１７％又は２５％のアスパラギン酸残基を有するＨＣＤＲ３を含む。いくつかの非常に好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、（ａ）＞０及び≦２５％、（ｂ）≧７及び≦１６％又は（ｃ）≧７及び≦１３％のアスパラギン酸残基を有するＨＣＤＲ３を含む。

【０３７９】

グルタミン酸（Ｅ）

いくつかの実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、０％、８％又は９％のグルタミン酸残基を有するＨＣＤＲ３を含む。いくつかの非常に好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、グルタミン酸残基を有さないＨＣＤＲ３を含む。

【０３８０】
長さ
いくつかの実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０アミノ酸の長さを有するＨＣＤＲ３を含む。好ましくは、単離された抗体又は抗原結合断片は、１０、１１、１２若しくは１３アミノ酸残基の長さ又は８～１３アミノ酸残基の間の長さを有するＨＣＤＲ３を含む。
【０３８１】
態様１１－遮断／中和ＣＣＲ８抗体
抗体がＣＣＲ８シグナル伝達をどのように調節し得るかには複数の異なる方法がある。
【０３８２】
例えば、抗体は、
ａ）Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達を遮断する、
ｂ）Ｇタンパク質依存性シグナル伝達を遮断する、
ｃ）Ｇタンパク質依存性及びＧタンパク質非依存性のシグナル伝達を遮断する、
ｄ）Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達を増加させる、
ｅ）Ｇタンパク質依存性シグナル伝達を増加させる、
ｆ）Ｇタンパク質依存性及びＧタンパク質非依存性のシグナル伝達を増加させることができる。
【０３８３】
第６、第７、第８、第９及び／又は第１０の態様と同じであっても同じでなくてもよい第１１の態様によれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、ＣＣＲ８シグナル伝達を少なくとも部分的に調節する抗体又は抗原結合断片が提供される。
【０３８４】
ＣＣＲ８の場合、Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達経路は、β－アレスチンシグナル伝達（例えば、１０．４．１）、ホスホＥｒｋ１／２シグナル伝達（Ｅｒｋ１／２のリン酸化）及びホスホＡｋｔシグナル伝達（ＡＫＴのリン酸化）（例えば、１０．４．２）である。アンタゴニスト又はアゴニストの更なるサブタイプは、これらの３つのＧタンパク質非依存性シグナル伝達経路に対する影響に基づいて定義することができる。
【０３８５】
第１１の態様のいくつかの第１の実施形態によれば、抗体又は抗原結合断片は、
ａ）ＣＣＬ１誘導性β－アレスチンシグナル伝達を遮断しない、及び／又は
ｂ）ＥＲＫ１／２リン酸化を誘導しない、及び／又は
ｃ）ＡＫＴリン酸化を誘導しない。
【０３８６】
実施例１０．４．１は、先行技術抗体４３３Ｈ及びＬ２６８Ｇ８が、例えば２０ｎＭ未満のＩＣ５０値（表１０．４．１．１を参照）で、ＣＣＬ１誘導性β－アレスチンシグナル伝達を効率的に遮断したが、ＴＰＰ－２３４１１等の本発明の抗体についてはＩＣ５０値を決定することができなかったことを示す。
【０３８７】
第１１の態様の第１の実施形態のいくつかの実施形態Ａによれば、抗体又は抗原結合断片は、ＣＣＬ１誘導性β－アレスチンシグナル伝達を遮断しない。疑いがある場合、抗体は、ＩＣ５０が１００ｎＭ未満である場合、ＣＣＬ１誘導性β－アレスチンシグナル伝達を遮断する。疑いがある場合、抗体は、ＩＣ５０が≧１００ｎＭである場合、又はＩＣ５０を本明細書に記載のアッセイ系で決定することができない場合、ＣＣＬ１誘導性β－アレスチンシグナル伝達を遮断しない。ＣＣＬ１誘導性β－アレスチンシグナル伝達は、第１２の態様について論じたように受容体内在化に関連している。
【０３８８】
実施例１０．４．２、図２７、２８は、先行技術抗体が、ヒトＣＣＲ８又はヒト活性化

Ｔｒｅｇを発現するＣＨＯ細胞において、例えば１５分後に、少なくとも１．５倍、Ｅｒｋ１／２のリン酸化を誘導することを示す。代わりに、本発明の抗体ＴＰＰ－２３４１１は、Ｅｒｋ１／２の有意なリン酸化を誘導しなかった。

【０３８９】

第１１の態様の第１の実施形態のいくつかの実施形態Ｂによれば、抗体又は抗原結合断片はＥＲＫ１／２リン酸化を誘導しない。疑いがある場合、本明細書中に記載されるようなアッセイを使用して、対照を超えるＥｒｋ１／２リン酸化レベルの少なくとも１．５倍の増大が検出され得るならば、抗体はＥｒｋ１／２のリン酸化を誘導する。疑いがある場合、Ｅｒｋ１／２リン酸化レベルの有意な増加が検出されない場合、又は増加が対照の１．５倍未満である場合、抗体はＥｒｋ１／２のリン酸化を誘導しない。

【０３９０】

実施例１０．４．２、図３０は、先行技術抗体が、例えば１５分後に少なくとも１．５倍のＡＫＴのリン酸化を誘導することを示す。代わりに、本発明の抗体ＴＰＰ－２３４１１は、ＡＫＴの有意なリン酸化を誘導しなかった。

【０３９１】

第１１の態様の第１の実施形態のいくつかの実施形態Ｃによれば、抗体又は抗原結合断片はＡＫＴリン酸化を誘導しない。疑いがある場合、本明細書中に記載されるようなアッセイを使用して、対照を超えるＡＫＴリン酸化レベルの少なくとも１．５倍の増大が検出され得るならば、抗体はＡＫＴのリン酸化を誘導する。疑いがある場合、ＡＫＴリン酸化レベルの有意な増加が検出されない場合、又は増加が対照の１．５倍未満である場合、抗体はＡＫＴのリン酸化を誘導しない。

【０３９２】

ＡＫＴ又はＥＲＫ１／２リン酸化等のＧタンパク質非依存性シグナル伝達経路の誘導を示さない抗体又は断片は、Ｇタンパク質依存性シグナル伝達の誘導が望ましくない効果及び副作用をもたらし得ることから、治療において利点を有すると考えられる。

【０３９３】

Ｇタンパク質依存性シグナル伝達を分析するために、当技術分野で公知であり、本明細書に記載されるＣａフラックスアッセイを読み出しとして使用することができる。試験した本発明の抗体の大部分は、Ｇタンパク質依存性Ｃａシグナル伝達の完全に有効なアンタゴニストであることが見出されたが、先行技術抗体と比較してＩＣ５０の差を決定することができた。

【０３９４】

実施例１０．４．３は、試験した抗ＣＣＲ８抗体のいくつかが、例えば低ｎＭ又はサブｎＭ範囲のＩＣ５０値で、ＣＣＬ１誘導性Ｇタンパク質依存性Ｃａシグナル伝達を遮断したことを示す。

【０３９５】

第１の実施形態と同じであっても異なっていてもよい、第１１の態様のいくつかの第２の実施形態によれば、抗体又は抗原結合断片は、ＣＣＬ１誘導性カルシウムシグナル伝達を遮断する。これらの実施形態のいくつかの好ましい実施形態において、抗体又は抗原に結合する断片は、例えばＩＣ５０＜１ｎＭ、＜０．５ｎＭ又は＜０．０１ｎＭで、ＣＣＬ１誘導性カルシウムシグナル伝達を遮断する。

【０３９６】

第１の実施形態と同じであっても異なっていてもよい、第１１の態様のいくつかの第３の実施形態によれば、抗体又は抗原結合断片は、ＣＣＬ１誘導性Ｇタンパク質依存性カルシウムシグナル伝達を遮断しない。

【０３９７】

態様１２－ＣＣＲ８抗体の非結合及び／又は低内在化

抗ＣＣＲ８抗体は、非内在化抗体、低内在化抗体、中内在化抗体又は高内在化抗体又は抗原結合断片であり得る。

【０３９８】

第６、第７、第８、第９、第１０及び／又は第１１の態様と同じであっても同じでなくてもよい第１２の態様によれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、非内在化抗体又は低内在化抗体又は抗原結合断片である単離された抗体又はその抗原結合断片が提供される。

【０３９９】

抗体、断片又はコンジュゲートの具体的な作用様式に応じて、本明細書の他の箇所で論じられるように、細胞への内在化が所望され得るか、又は回避されなければならない。第１２の態様による抗体は、ＡＤＣＣ／ＡＤＣＰアプローチ、又はエフェクター細胞を動員するための抗体若しくは抗原結合断片に依存する任意の他の作用様式に特に適している。

【０４００】

過剰発現は内在化挙動に影響を及ぼし得、治療環境での内在化をモデル化するのにあまり適していないため、内在化は、標的の内因性発現を有するモデル細胞株を使用して決定されることが好ましい。標的がヒトＣＣＲ８である場合、標的を内因的に発現する細胞は、好ましくはＨｕＴ７８である。標的がマウスＣＣＲ８である場合、標的を内因的に発現する細胞は、好ましくはマウスＢＷ５１４７．３である。ＨｕＴ７８及びｍＢＷ５１４７．３は、ＡＴＣＣから得ることができる。

【０４０１】

全ての先行技術抗体は、実施例１０．５に示されるように、内因性の標的発現を有する細胞に容易に内在化したが、試験された抗体ＴＰＰ－２１３６０、ＴＰＰ－２１０４７（データは示さず）及びＴＰＰ－２３４１１並びに本発明による様々な更なる抗体は有意に内在化しなかった。

【０４０２】

例えば、内在化は、時間枠にわたって、又は特定の時点について決定することができる。好ましくは、内在化は、標的を内因的に発現する細胞において１５分、３０分、１時間、２時間、３時間、６時間、１２時間、２４時間又は４８時間後に決定することができる。

【０４０３】

第１２の態様のいくつかの第１の実施形態によれば、抗体又は抗原結合断片は、アイソタイプ対照の内在化の１．５、２、３、４、５、６、７、又は１０倍よりも低い内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とする。抗体のアイソタイプ対照は、可能な限り厳密に抗体のアイソタイプと一致するが、標的に結合しないように、当技術分野で公知のように選択することができる。

【０４０４】

これらの実施形態のいくつかによれば、抗体又は抗原結合断片は、例えば１５分、３０分、１時間、２時間、３時間、６時間、１２時間、２４時間又は４８時間後に、アイソタイプ対照の内在化の１５０％、１７５％、２００％、３００％、４００％又は５００％未満である内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とし、好ましくは内因性標的発現を有する細胞はＨｕＴ７８リンパ腫細胞である。

【０４０５】

これらの実施形態のいくつかの好ましい実施形態によれば、抗体又は抗原結合断片は、アイソタイプ対照の内在化速度と同程度の内在化速度を有する。

【０４０６】

第１の実施形態と同じであっても異なっていてもよい第１２の態様のいくつかの第２の実施形態によれば、抗体又は抗原結合断片はヒトＣＣＲ８に特異的に結合し、抗体、断片又はコンジュゲートの量の半分が内在化されるまでの時間が、標的を内因的に発現する細胞において２時間超、好ましくは４時間超、５時間超、６時間超、７時間超、８時間超、９時間超、１０時間超、１１時間超、１２時間超、１３時間超、１４時間超、１５時間超、１６時間超、１７時間超、１８時間超、１９時間超、２０時間超、２１時間超、２２時間超、２３時間超、２４時間超、２６時間超、２８時間超、３０時間超若しくは４８時間超であるか、又はそのような時間が全くないことを特徴とし、好ましくは、標的を内因的

に発現する細胞はＨｕＴ７８リンパ腫細胞である。例えば、抗ＣＣＲ８抗体は、抗体４３３Ｈ及びＬ２６３Ｇ８よりも低い内在化速度を有する（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄカタログ番号３６０６０２）。

【０４０７】

第１又は第２の実施形態と同じであっても異なっていてもよい、第１２の態様のいくつかの第３の実施形態によれば、抗体又は抗原結合断片はマウスＣＣＲ８に特異的に結合し、標的を内因的に発現する細胞において抗体ＳＡ２１４Ｇ２よりも低い内在化速度を有し、好ましくは標的を内因的に発現する細胞はマウスリンパ腫細胞株ＢＷ５１４７．３である。

【０４０８】

提供される単離された抗体又は抗原結合断片は、好ましくは、態様７、８、９、１０、１１、１３、１４、１５、１６、１７若しくは１８のいずれか又はそれらの組み合わせによる抗体でもある。

【０４０９】

態様１３－ＡＤＣＣ／ＡＤＣＰ誘導ＣＣＲ８抗体

活性化Ｔｒｅｇ等のＣＣＲ８発現細胞の死滅を誘導するために、複数の作用様式が想定され得る。作用様式の１つは、抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）の形態の薬物へのＣＣＲ８を標的とする抗体のコンジュゲーションである。他の可能な作用様式は、ＡＤＣＣ、ＣＤＣ及びＡＤＣＰである。ＡＤＣＣ、ＣＤＣ及びＡＤＣＰの場合、２段階機構が関与し、一方では、抗体又は断片は、標的細胞、例えばＣＣＲ８を介したＴｒｅｇに効果的に結合するために必要であり、他方では、抗体のＦＣ部分（又は本明細書の他の箇所に記載されるように抗体又は断片にコンジュゲートされ得る代替的な結合部分）は、エフェクター細胞に結合しなければならず、これは次いで標的細胞の死滅を媒介する。ＡＤＣＰの場合、エフェクター細胞としてのマクロファージへの結合は、典型的には、抗体ＦＣ部分とマクロファージによって発現されるＦｃγＲＩＩａ（ＣＤ３２ａ）との相互作用を介して起こる。対照的に、ＡＤＣＣは、抗体又は断片とＦｃγＲＩＩＩａとの相互作用を介して媒介される。ヒトでは、ＦｃγＲＩＩＩは２つの異なる形態：ＦｃγＲＩＩＩａ（ＣＤ１６ａ）及びＦｃγＲＩＩＩｂ（ＣＤ１６ｂ）で存在する。ＦｃγＲＩＩＩａはマスト細胞、マクロファージ、及び膜貫通受容体としてのナチュラルキラー細胞上に発現されるが、ＦｃγＲＩＩＩｂは好中球上にのみ発現される。これらの受容体は、ＩｇＧ抗体のＦｃ部分に結合し、次いで、ヒトエフェクター細胞によって媒介される抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を活性化する。

【０４１０】

疑いがある場合、ＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰ誘導を分析する場合、標的細胞の少なくとも８０％、好ましくは少なくとも８５％がＣＣＲ８発現を示す必要がある。

【０４１１】

第６、第７、第８、第９、第１０、第１１及び／又は第１２の態様と同じであっても同じでなくてもよい第１３の態様によれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、ＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰを誘導する抗体又は抗原結合断片が提供される。

【０４１２】

例えば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、アフコシル化されており、ａ）ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介して、ヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し、ｂ）ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介して、ヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性食作用（ＡＤＣＰ）を誘導し、好ましくはヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞のｉｎ　ｖｉｔｒｏで誘導される最大ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰ枯渇は、少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％又は９９％である。疑いがある場合、ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰは、細胞の少なくとも８５％がＣＣＲ８を発現する標的細胞を使

用して決定されるものとする。

【０４１３】

第１３の態様のいくつかの好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、アフコシル化されている。アフコシル化抗体は、抗体のＦｃ領域中のオリゴ糖がフコース糖単位を有さないように操作された抗体である。アフコシル化抗体は、当技術分野で公知のように、例えば実施例１０．３に記載されるように得ることができる。実施例１０．３．２は、ＦｃγＲＩＩＩａに対する本発明の抗体のアフコシル化バージョンの改善された結合を実証する。ＦｃγＲＩＩａへの結合も同様にわずかに改善された。アフコシル化は、カニクイザルＦｃガンマＲＩＩＩへの結合を更に増加させた（表１０．３．２．１を参照）。

【０４１４】

ＡＤＣＣ

第１３の態様のいくつかの第１の実施形態Ａでは、抗体又は抗原結合断片は、５３０ｎＭ、５００ｎＭ、４５０ｎＭ、４００ｎＭ、３００ｎＭ又は２００ｎＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマ受容体ＩＩＩＡ変異体Ｖ１７６（ＣＤ１６ａ）に結合する。

【０４１５】

第１の実施形態Ａと同じであっても異なっていてもよい、第１３の態様のいくつかの第１の実施形態Ｂにおいて、抗体又は抗原結合断片は、ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導する。ＡＤＣＣ誘導は、当技術分野で公知のアッセイ、例えば実施例１０．３．３ｆｆに従って記載されるアッセイで分析することができる。

【０４１６】

第１の実施形態Ａ又はＢと同じであっても異なっていてもよい、第１３の態様のいくつかの第１の実施形態Ｃにおいて、活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＣ誘導性の最大枯渇は、好ましくは、活性化ヒト制御性Ｔ細胞の少なくとも８５％がＣＣＲ８発現を有する場合、少なくとも２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％又は９９％である（表１０．３．３．１．２及び表１０．３．３．１．３を参照）。

【０４１７】

第１の実施形態Ａ、Ｂ又はＣと同じであっても異なっていてもよい、第１３の態様のいくつかの第１の実施形態Ｄにおいて、活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＣ誘導性枯渇のＥＣ５０は、５００ｐＭ、４００ｐＭ、３００ｐＭ、２００ｐＭ、１００ｐＭ、５０ｐＭ、２５ｐＭ、２０ｐＭ、１２．５ｐＭ、１０ｐＭ、５ｐＭ又は２．５ｐＭ未満である。好ましくは、活性化ヒト制御性Ｔ細胞の少なくとも８５％がＣＣＲ８発現を有する。

【０４１８】

ＡＤＣＰ

第１の実施形態Ａ、Ｂ、Ｃ及び／又はＤと同じであっても同じでなくてもよい、第１３の態様のいくつかの第２の実施形態Ａにおいて、抗体又は抗原結合断片は、３０μＭ、２０μＭ、１０μＭ、５μＭ又は１μＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマＲＩＩＡ（ＣＤ３２ａ）に結合する。

【０４１９】

第１の実施形態Ａ、Ｂ、Ｃ及び／又はＤと同じであってもよく、第２の実施形態Ａと同じであってもよい、第１３の態様のいくつかの第２の実施形態Ｂでは、抗体又は抗原結合断片は、ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導する。例えば、ヒトマクロファージは、Ｍ２ｃ又はＭ１マクロファージであり得る。

【０４２０】

第１の実施形態Ａ、Ｂ、Ｃ及び／又はＤと同じであってもよく、第２の実施形態Ａ及び／又はＢと同じであってもよい、第１３の態様のいくつかの第２の実施形態Ｃにおいて、活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＰ誘導性最大枯渇は、少なくとも５％、１０％、１５％

、２０％、２５％、３０％、４０％又は５０％である。

【０４２１】

第１の実施形態Ａ、Ｂ、Ｃ及び／又はＤと同じであってもよく、第２の実施形態Ａ、Ｂ及び／又はＣと同じであってもよい、第１３の態様のいくつかの第２の実施形態Ｄにおいて、活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＰ誘導性枯渇のＥＣ５０は、１５００ｐＭ、１０００ｐＭ、５００ｐＭ、２５０ｐＭ、２００ｐＭ、１５０ｐＭ、１００ｐＭ、７５ｐＭ、５０ｐＭ、２５ｐＭ又は１０ｐＭ未満である。

【０４２２】

いくつかの好ましい実施形態において、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、

ａ）５３０ｎＭ、５００ｎＭ、４５０ｎＭ、４００ｎＭ、３００ｎＭ又は２００ｎＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマ受容体ＩＩＩＡ変異体Ｖ１７６（ＣＤ１６ａ）に結合し、及び／又は

ｂ）３０μＭ、２０μＭ、１０μＭ、５μＭ又は１μＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマＲＩＩＡ（ＣＤ３２ａ）に結合する。

【０４２３】

いくつかの好ましい実施形態において、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、

ａ）ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し、及び／又は

ｂ）ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導する。

【０４２４】

いくつかの好ましい実施形態において、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、

ａ）活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＣ誘導性最大枯渇は、少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％若しくは９９％であり、及び／又は

ｂ）活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＰ誘導性最大枯渇は、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、４０％若しくは５０％であり、及び／又は

ｃ）ｉｎ　ｖｉｔｒｏ又は対象における腫瘍内制御性Ｔ細胞の最大枯渇は、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％若しくは９９％であり、

ａ）活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＣ誘導性枯渇のＥＣ５０は、２００ｐＭ、１００ｐＭ、５０ｐＭ、２５ｐＭ、１２．５ｐＭ、１０ｐＭ若しくは５ｐＭ未満であり、及び／又は

ｂ）活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＰ誘発性枯渇のＥＣ５０は、５００ｐＭ、２５０ｐＭ、２００ｐＭ、１５０ｐＭ、１００ｐＭ、７５ｐＭ、５０ｐＭ又は２５ｐＭ未満である。

【０４２５】

提供される単離された抗体又は抗原結合断片は、好ましくは、態様１４、１５、１６、１７若しくは１８のいずれか又はそれらの組み合わせによる抗体でもある。

【０４２６】

態様１４－Ｔｒｅｇ調節ＣＣＲ８抗体

本発明による抗体のｉｎ　ｖｉｖｏ治療効果を実施例１２ｆｆに示す。いくつかの免疫細胞集団の絶対数及び相対数を調節する抗体の能力は、例えば第７、第１０、第１２及び／又は第１３の態様又はそれらの組み合わせに従って記載されるように、標的結合特性とＦＣ受容体相互作用との組み合わせによって構造的に実現される。

【０４２７】

第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２及び／又は第１３の態様と同じであっても同じでなくてもよい第１４の態様によれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離され

た抗体又はその抗原結合断片であって、活性化された制御性Ｔ細胞、好ましくは腫瘍内Ｔｒｅｇを枯渇させる抗体又はその抗原結合断片が提供される。実施例１２．１．１は、様々なマウスモデルにおいて本発明の抗体を用いて得られた高レベルのＴｒｅｇ枯渇を示し、ここで、代用抗体は、提供された抗ヒトＣＣＲ８抗体と同等の機能的特徴によって特徴付けられる。興味深いことに、Ｔｒｅｇ枯渇が少なくとも５０％であったこれらの症例では、優れた治療応答が観察された。Ｔｒｅｇ枯渇は、ｉｎ ｖｉｔｒｏ又はｉｎ ｖｉｖｏで測定され得る。当業者によって理解されるように、Ｔｒｅｇの枯渇は一時的な枯渇であり得る。例えば、Ｔｒｅｇ枯渇は、処置の２４、４８又は７２時間後に分析され得る。

【０４２８】

第１４の態様のいくつかの第１の実施形態によれば、抗体又は抗原結合断片の有効量は、ｉｎ ｖｉｔｒｏ又は対象における少なくとも４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％又は９９％の活性化又は腫瘍内制御性Ｔ細胞の最大枯渇を特徴とする。

【０４２９】

ｉｎ ｖｉｔｒｏ又はｉｎ ｖｉｖｏでの決定は、当技術分野で公知のように行われ得る。ｉｎ ｖｉｖｏでの決定は、実施例１２ｆｆに記載されるように行われ得る。適切な対象としては、例えば、ヒト及び非ヒト、例えばマウス（例えば、ＣＴ２６モデル又はＥＭＴ－６モデル）、げっ歯類又はカニクイザルが挙げられる。

【０４３０】

第１の実施形態と同じであっても同じでなくてもよい、第１４の態様のいくつかの第２の実施形態によれば、抗体又は抗原結合断片の有効量は、ｉｎ ｖｉｔｒｏ又は対象において、活性化又は腫瘍内制御性Ｔ細胞の数を５５％、５０％、４０％、３０％、２５％、２０％、１０％、５％又は１％未満に減少させる。この減少は、一時的な減少であってもよい。例えば、理論に拘束されるものではないが、腫瘍内Ｔｒｅｇのプールを続いて補充することができる。

【０４３１】

第１及び／又は第２の実施形態と同じであっても同じでなくてもよい、第１４の態様のいくつかの第３の実施形態によれば、抗体又は抗原結合断片の有効量は、ｉｎ ｖｉｔｒｏ又は対象における腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の腫瘍内Ｔｒｅｇに対する比を少なくとも５、１０、１５、２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１５０、２００又はそれを超えるまで増加させる。この増加は、一時的な増加であってもよい。

【０４３２】

第１、第２及び／又は第３の実施形態と同じであっても同じでなくてもよい、第１４の態様のいくつかの第４の実施形態によれば、抗体又は抗原結合断片の有効量は、ｉｎ ｖｉｔｒｏ又は対象における腫瘍内ＣＤ４＋Ｔ細胞の制御性Ｔ細胞のパーセンテージを３０％未満、２０％未満、１０％未満又は５％未満に減少させる。この減少は、一時的な減少であってもよい。

【０４３３】

好ましい実施形態において、有効量の抗体又は抗原結合断片は、

ａ）ｉｎ ｖｉｔｒｏ若しくは対象において、活性化又は腫瘍内制御性Ｔ細胞の数を３０％、２５％、２０％、１０％、５％又は１％未満に減少させる、及び／又は

ｂ）ｉｎ ｖｉｔｒｏ若しくは対象における腫瘍内Ｔｒｅｇに対する腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の比を少なくとも５、１０、１５、２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１５０、２００又はそれを超えて増加させる、及び／又は

ｃ）ｉｎ ｖｉｔｒｏ若しくは対象における腫瘍内ＣＤ４＋Ｔ細胞の制御性Ｔ細胞のパーセンテージを３０％未満、２０％未満、１０％未満又は５％未満に減少させる。

【０４３４】

本態様による抗体は、治療効果の点で優れていた（実施例１２ｆｆを参照）。提供される単離された抗体又は抗原結合断片は、好ましくは、態様１５、１６、１７若しくは１８のいずれか又はそれらの組み合わせによる抗体でもある。

【０４３５】
態様１５－免疫細胞調節ＣＣＲ８抗体
第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３及び／又は第１４の態様と同じであっても同じでなくてもよい第１５の態様によれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片の有効量は、定義された腫瘍体積中の免疫細胞の絶対数を、例えば少なくとも１．５、２、２．５、３、３．５又は４倍増加させる。
【０４３６】
実施例１２．８は、研究終了時の異なる対象からの応答性腫瘍における様々な全体的又は特異的免疫細胞マーカーについてのｍＲＮＡ発現レベルの大幅な増加を示す。例えばマクロファージ（特にＭ１マクロファージ）、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞、ＣＤ３＋Ｔ細胞、Ｂ細胞、及び興味深いことに活性化Ｔｒｅｇについても増加が観察され、慢性処置後の腫瘍内のこれらの免疫細胞集団の浸潤の増加を示唆した。絶対免疫細胞数の増加は、ＦＡＣＳによっても確認された（実施例１２．３（ＣＴ２６）、実施例１２．４（ＥＭＴ６）、実施例１２．５（Ｆ９）を参照）。適切な対象としては、例えば、ヒト及び非ヒト対象、例えばマウス、げっ歯類又はカニクイザルが挙げられる。例えば、免疫細胞の増加は、抗体の１、２、３又は４有効用量後（実施例１２．３、１２．４．２を参照）、並びに慢性処置後、例えば最終処置後にも決定することができる。例えば、腫瘍は、腫瘍浸潤リンパ球を特徴とする腫瘍、例えば腫瘍浸潤Ｔ細胞を特徴とする腫瘍又は炎症促進性サイトカインの発現を特徴とする腫瘍であり得る。
【０４３７】
第１５の態様のいくつかの第１の実施形態によれば、免疫細胞は、以下から選択される少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、８つ又は９つである：
ａ）（腫瘍内）ＣＤ４５＋細胞、
ｂ）（腫瘍内）ＣＤ８＋Ｔ細胞、
ｃ）（腫瘍内）ＣＤ４＋Ｔ細胞、
ｄ）（腫瘍内）マクロファージ、例えばＭ１マクロファージ又はＭ２マクロファージ、
ｅ）（腫瘍内）ＮＫ細胞、
ｆ）（腫瘍内）Ｂ細胞、
ｇ）（腫瘍内）樹状細胞、
ｈ）（腫瘍内）ガンマデルタＴ細胞（非従来型Ｔ細胞）、及び
ｉ）ｉＮＫＴ細胞。
【０４３８】
それぞれの細胞型及び集団は、当技術分野で公知のように、特に本明細書の他の箇所で定義されるように定義される。
【０４３９】
これらの第１の実施形態のいくつかの非常に好ましいによれば、３つ又はそれを超える有効用量の抗体又は抗原結合断片は、腫瘍において、
ａ）腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の数を少なくとも１５０％、２００％、２５０％、３００％若しくは３５０％まで、
ｂ）腫瘍内制御性Ｔ細胞に対する腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の比を少なくとも４、５、１０、１５、２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１５０、２００以上まで、
ｃ）腫瘍内マクロファージの数を少なくとも２、３、４若しくは５倍まで、
ｄ）腫瘍内ＡＣＯＤ１＋マクロファージ（Ｍ１マクロファージ）の数を少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９又は１０倍まで、
ｅ）ＭＲＣ１＋マクロファージ（Ｍ２マクロファージ）に対するＡＣＯＤ１＋マクロファージ（Ｍ１マクロファージ）の比を少なくとも１．５、２、３、４、５、１０以上まで
ｆ）腫瘍内ＮＫ細胞の数を少なくとも１４０％又は２００％まで、
ｇ）腫瘍内ＣＤ３＋Ｔ細胞の数を少なくとも１５０％、２００％、３００％若しくは４

００％まで
ｈ）腫瘍内Ｂ細胞の数を少なくとも２、５、１０、２０、３０又は４０倍まで、
ｉ）腫瘍内ＣＤ４５＋Ｔ細胞の数を少なくとも１５０％、２００％若しくは３００％まで、及び／又は
ｊ）腫瘍内ＣＤ４＋Ｔ細胞の数を少なくとも１５０％、２００％、３００％若しくは４００％まで増加させる。

【０４４０】

腫瘍は、好ましくは腫瘍浸潤リンパ球を特徴とする腫瘍である。当業者によって理解されるように、腫瘍は、本発明の抗体又は断片の標的ＣＣＲ８を発現する細胞、例えば腫瘍内Ｔｒｅｇによって特徴付けられる。好ましくは、腫瘍は、ＢＡＬＢ／ｃ株に由来する同系腫瘍モデルの腫瘍である。例えば、実施例１２．１．１に示されるように、腫瘍は、抗体がマウスＣＣＲ８に特異的に結合するＣＴ２６モデル、ＥＭＴ－６モデル、Ｆ９モデル、Ｃ３８、Ｈ２２又はＢ１６Ｆ１０－ＯＶＡモデルに由来し得る。例えば、抗体がヒトＣＣＲ８に特異的に結合する場合、腫瘍は副腎癌（例えば、副腎皮質癌又は褐色細胞腫）、膀胱癌（例えば移行上皮癌、移行上皮癌乳頭状）、脳癌（例えば、神経膠腫－星細胞腫、神経膠腫－星細胞腫－神経膠芽腫、神経膠腫－乏突起星細胞腫、神経膠腫－乏突起膠腫）、乳癌（例えば、ＡＤＣ、ＡＤＣ－乳管、ＡＤＣ－乳管－ＴＮＢＣ、ＡＤＣ－乳管－ＴＰＢＣ、ＡＤＣ－小葉）、結腸直腸癌（例えばＡＤＣ）、食道癌（例えばＡＤＣ）、食道癌（例えば、ＳＣＣ）、胃癌（例えば、ＡＤＣ、ＡＤＣ－びまん性、ＡＤＣ－腸、ＡＤＣ－腸－尿細管）、頭頸部癌（例えば、喉頭癌－ＳＣＣ、ＳＣＣ、口腔癌－ＳＣＣ）、腎臓がん（例えば、ｃｃＲＣＣ、色素嫌性、乳頭状、乳頭状Ｉ型、乳頭状ＩＩ型）、肝臓癌（例えば、ＨＣＣ）、肺癌（例えば、ＮＳＣＬＣ－ＡＤＣ、ＮＳＣＬＣ－ＡＤＣ混合、ＮＳＣＬＣ－ＳＣＣ、ＳＣＬＣ）、中皮腫（例えば上皮様）、卵巣癌（例えば、ＡＤＣ－嚢胞腺癌－乳頭状漿液性）、膵臓癌（例えばＡＤＣ－導管）、前立腺癌（例えば、ＡＤＣ－Ａｃｉｎａｒタイプ）、肉腫（例えば、平滑筋肉腫、脱分化型脂肪肉腫、悪性線維性組織球腫）、皮膚癌（例えば黒色腫）、精巣癌（例えば、生殖細胞腫瘍－セミノーマ）、胸腺腫、甲状腺癌（例えば、濾胞状癌、乳頭状癌－古典的変異体）、子宮癌（例えば、子宮ＳＣＣ、子宮頸癌－ＳＣＣ－ケラチン化、子宮頸癌－ＳＣＣ－非ケラチン化、子宮内膜－ＡＤＣ－子宮内膜様腺、子宮内膜－ＡＤＣ－乳頭漿液性、子宮内膜－癌肉腫－悪性混合型ミュラー管腫瘍）から選択することができる（表１１．１．２を参照）。

【０４４１】

これらの実施形態のいくつかにおいて、免疫細胞は、
ａ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、及びマクロファージ、
ｂ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞、
ｃ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＣＤ４５＋細胞、
ｄ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞及びマクロファージ、
ｅ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞及びマクロファージ、例えばＡＣＯＤ１＋マクロファージ、
ｆ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞、ＣＤ４５＋細胞、
ｇ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞、ＣＤ４５＋細胞及びマクロファージ、例えばＡＣＯＤ１＋マクロファージ、
ｈ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＡＣＯＤ１＋マクロファージ（Ｍ１マクロファージ）及びＢ細胞、
ｉ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞及び樹状細胞であって、ＣＤ１ｃ、ＣＤ１４、ＣＤ１６、ＣＤ１４１、ＣＤ１１ｃ及びＣＤ１２３の発現を特徴とする樹状細胞、又は
ｊ）ＣＤ８＋Ｔ細胞及びＡｃｏｄ１＋マクロファージ（Ｍ１マクロファージ）である。

【０４４２】

これらの実施形態のいくつかの好ましい実施形態において、免疫細胞は、
ａ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、及びマクロファージ、又は
ｂ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞及びマクロファージ、又は

ｃ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＡＣＯＤ１＋マクロファージ（Ｍ１マクロファージ）及びＢ細胞である。

【０４４３】

いくつかの更なる実施形態によれば、免疫細胞は、ＣＤ４５＋細胞及びＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４５＋細胞及びＣＤ４＋Ｔ細胞、ＣＤ４５＋細胞及びマクロファージ（Ｍ１マクロファージ又はＭ２マクロファージ等）、ＣＤ４５＋細胞及びＮＫ細胞、ＣＤ４５＋細胞及びＢ細胞、ＣＤ４５＋細胞及び樹状細胞、ＣＤ４５＋細胞及びガンマデルタＴ細胞、ＣＤ４５＋細胞及びｉＮＫＴ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞及びＣＤ４＋Ｔ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞及びマクロファージ（Ｍ１マクロファージ又はＭ２マクロファージ等）、ＣＤ８＋Ｔ細胞及びＮＫ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞及びＢ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞及び樹状細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞及びガンマデルタＴ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞及びｉＮＫＴ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞及びマクロファージ（Ｍ１マクロファージ又はＭ２マクロファージ等）、ＣＤ４＋Ｔ細胞及びＮＫ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞及びＢ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞及び樹状細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞及びガンマデルタＴ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞及びｉＮＫＴ細胞、マクロファージ（Ｍ１マクロファージ又はＭ２マクロファージ等）及びＮＫ細胞、マクロファージ（Ｍ１マクロファージ又はＭ２マクロファージ等）及びＢ細胞、マクロファージ（Ｍ１マクロファージ又はＭ２マクロファージ等）樹状細胞、マクロファージ（Ｍ１マクロファージ又はＭ２マクロファージ等）及びガンマデルタＴ細胞、マクロファージ（Ｍ１マクロファージ又はＭ２マクロファージ等）及びｉＮＫＴ細胞、Ｂ細胞及び樹状細胞、Ｂ細胞及びガンマデルタＴ細胞、Ｂ細胞及びｉＮＫＴ細胞、樹状細胞及びガンマデルタＴ細胞、樹状細胞及びｉＮＫＴ細胞、又はガンマデルタＴ細胞及びｉＮＫＴ細胞である。

【０４４４】

提供される単離された抗体又は抗原結合断片は、好ましくは、態様１６、１７若しくは１８のいずれか又はそれらの組み合わせによる抗体でもある。

【０４４５】

態様１６－ＣＣＲ８抗体が三次リンパ球構造を形成する

第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４及び／又は第１５の態様と同じであっても同じでなくてもよい第１６の態様によれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、三次リンパ系構造の形成を誘導する抗体又は抗原結合断片が提供される。三次リンパ系構造は、ＬＴｔａ、ＬＴｔｂ、Ｃｘｃｒ５及びそのリガンドＣｘｃｌ１３の発現増加を特徴とする腫瘍内構造である。三次リンパ系構造は、ヒトにおける抗腫瘍効果の重要なドライバーとして記載されている。理論に拘束されるものではないが、本発明者らは、これらの部分構造の形成が、免疫細胞におけるパターンの変化及び本発明の抗体、例えばヒトにおける抗腫瘍効果に寄与し得ると考えている。実施例１２．８で論じられるように、本発明の抗体による長期処置は、ＬＴｔａ、ＬＴｔｂ並びにＣｘｃｒ５及びそのリガンドＣｘｃｌ１３の発現レベルを一貫して増加させた。

【０４４６】

配列が定義される抗体

以下の２つの態様１７及び１８による抗体を、態様３又は４による方法を用いて得た。

【０４４７】

態様１７及び１８による得られた抗体は、ヒトケモカイン受容体の硫酸化ＴＲＤを含むポリペプチドに特異的に結合し、例えばチロシン残基の少なくとも５０％が硫酸化されている。本明細書で前述したように、本方法は、得られた抗体のＨＣＤＲ３の特定の構造的特徴に影響を及ぼし、Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達又は内在化挙動の調節等の機能的特徴にも影響を及ぼし得る。

【０４４８】

ＣＤＲ、可変重鎖、可変軽鎖、重鎖又は軽鎖が開示されている場合、本明細書の他の箇所に記載されているように、抗体のモジュール性は、典型的にはそれらの組み合わせを可能にするだけでなく、様々な機能的特徴との組み合わせも可能にする。

【０４４９】
態様１７－ヒト抗ＣＣＲ８抗体（配列が定義される）
第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５及び／又は第１６の態様と同じであっても同じでなくてもよい第１７の態様によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片が提供される。
【０４５０】
好ましくは、本態様による抗体は、（ａ）Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４３及び／又は配列番号４６による単離されたポリペプチドに結合し、（ｂ）Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４４及び／又は配列番号４７による単離されたポリペプチドに結合し、したがって、抗体はヒト及びカニクイザルＣＣＲ８に対して交差反応性である。さらに、抗体は、好ましくは、それらを治療に特に適したものにする特性によって特徴付けられ、例えば、態様７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５又は１６の少なくとも１つ以上による抗体である。
【０４５１】
いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、以下のいずれかと、少なくとも９０％、９５％、９８％又は１００％の配列同一性を有する少なくとも１つ、２つ、好ましくは３つ、４つ、５つ又は６つのＣＤＲ配列を含む：
ａ）配列番号２５８、配列番号２５９、配列番号２６０、配列番号２６２、配列番号２６３若しくは配列番号２６４（ＴＰＰ－１６９６６）、
ｂ）配列番号２７６、配列番号２７７、配列番号２７８、配列番号２８０、配列番号２８１若しくは配列番号２８２（ＴＰＰ－１７５７５）、
ｃ）配列番号２９４、配列番号２９５、配列番号２９６、配列番号２９８、配列番号２９９若しくは配列番号３００（ＴＰＰ－１７５７６）、
ｄ）配列番号３１２、配列番号３１３、配列番号３１４、配列番号３１６、配列番号３１７若しくは配列番号３１８（ＴＰＰ－１７５７７）、
ｅ）配列番号３３０、配列番号３３１、配列番号３３２、配列番号３３４、配列番号３３５若しくは配列番号３３６（ＴＰＰ－１７５７８）、
ｆ）配列番号３４８、配列番号３４９、配列番号３５０、配列番号３５２、配列番号３５３若しくは配列番号３５４（ＴＰＰ－１７５７９）、
ｇ）配列番号３６６、配列番号３６７、配列番号３６８、配列番号３７０、配列番号３７１若しくは配列番号３７２（ＴＰＰ－１７５８０）、
ｈ）配列番号３８４、配列番号３８５、配列番号３８６、配列番号３８８、配列番号３８９若しくは配列番号３９０（ＴＰＰ－１７５８１）、
ｉ）配列番号４０２、配列番号４０３、配列番号４０４、配列番号４０６、配列番号４０７若しくは配列番号４０８（ＴＰＰ－１８２０５）、
ｊ）配列番号４２０、配列番号４２１、配列番号４２２、配列番号４２４、配列番号４２５若しくは配列番号４２６（ＴＰＰ－１８２０６）、
ｋ）配列番号４３８、配列番号４３９、配列番号４４０、配列番号４４２、配列番号４４３若しくは配列番号４４４（ＴＰＰ－１８２０７）、
ｌ）配列番号４５６、配列番号４５７、配列番号４５８、配列番号４６０、配列番号４６１若しくは配列番号４６２（ＴＰＰ－１９５４６）、
ｍ）配列番号４７４、配列番号４７５、配列番号４７６、配列番号４７８、配列番号４７９若しくは配列番号４８０（ＴＰＰ－２０９５０）、
ｎ）配列番号４９２、配列番号４９３、配列番号４９４、配列番号４９６、配列番号４９７若しくは配列番号４９８（ＴＰＰ－２０９５５）、
ｏ）配列番号５１０、配列番号５１１、配列番号５１２、配列番号５１４、配列番号５１５若しくは配列番号５１６（ＴＰＰ－２０９６５）、
ｐ）配列番号５２８、配列番号５２９、配列番号５３０、配列番号５３２、配列番号５

３３若しくは配列番号５３４（ＴＰＰ－２１０４５）、
ｑ）配列番号５４６、配列番号５４７、配列番号５４８、配列番号５５０、配列番号５５１若しくは配列番号５５２（ＴＰＰ－２１０４７）、
ｒ）配列番号５６４、配列番号５６５、配列番号５６６、配列番号５６８、配列番号５６９若しくは配列番号５７０（ＴＰＰ－２１１８１）、
ｓ）配列番号５８２、配列番号５８３、配列番号５８４、配列番号５８６、配列番号５８７若しくは配列番号５８８（ＴＰＰ－２１１８３）、
ｔ）配列番号６００、配列番号６０１、配列番号６０２、配列番号６０４、配列番号６０５若しくは配列番号６０６（ＴＰＰ－２１３６０）、
ｕ）配列番号６１８、配列番号６１９、配列番号６２０、配列番号６２２、配列番号６２３若しくは配列番号６２４（ＴＰＰ－２３４１１）、
ｖ）配列番号６６１、配列番号６６２、配列番号６６３、配列番号６６５、配列番号６６６若しくは配列番号６６７（ＴＰＰ－２９５９６）、
ｗ）配列番号６８１、配列番号６８２、配列番号６８３、配列番号６８５、配列番号６８６又は配列番号６８７（ＴＰＰ－２９５９７）、
ｘ）配列番号７０３、配列番号７０４、配列番号７０５、配列番号７０７、配列番号７０８若しくは配列番号７０９（ＴＰＰ－１８４２９）、
ｙ）配列番号７２３、配列番号７２４、配列番号７２５、配列番号７２７、配列番号７２８若しくは配列番号７２９（ＴＰＰ－１８４３０）、
ｚ）配列番号７４３、配列番号７４４、配列番号７４５、配列番号７４７、配列番号７４８若しくは配列番号７４９（ＴＰＰ－１８４３２）、
ａａ）配列番号７６３、配列番号７６４、配列番号７６５、配列番号７６７、配列番号７６８若しくは配列番号７６９（ＴＰＰ－１８４３３）、
ｂｂ）配列番号７８３、配列番号７８４、配列番号７８５、配列番号７８７、配列番号７８８若しくは配列番号７８９（ＴＰＰ－１８４３６）、
ｃｃ）配列番号８０３、配列番号８０４、配列番号８０５、配列番号８０７、配列番号８０８若しくは配列番号８０９（ＴＰＰ－１９５７１）、
ｄｄ）配列番号８２７、配列番号８２８、配列番号８２９、配列番号８３１、配列番号８３２若しくは配列番号８３３（ＴＰＰ－２７４７７）、
ｅｅ）配列番号８４７、配列番号８４８、配列番号８４９、配列番号８５１、配列番号８５２若しくは配列番号８５３（ＴＰＰ－２７４７８）、
ｆｆ）配列番号８６７、配列番号８６８、配列番号８６９、配列番号８７１、配列番号８７２若しくは配列番号８７３（ＴＰＰ－２７４７９）、
ｇｇ）配列番号８８７、配列番号８８８、配列番号８８９、配列番号８９１、配列番号８９２若しくは配列番号８９３（ＴＰＰ－２７４８０）、
ｈｈ）配列番号９０７、配列番号９０８、配列番号９０９、配列番号９１１、配列番号９１２若しくは配列番号９１３（ＴＰＰ－２９３６７）、
ｉｉ）配列番号９２７、配列番号９２８、配列番号９２９、配列番号９３１、配列番号９３２若しくは配列番号９３３（ＴＰＰ－２９３６８）、
及び／又は
ｊｊ）配列番号９４７、配列番号９４８、配列番号９４９、配列番号９５１、配列番号９５２若しくは配列番号９５３（ＴＰＰ－２９３６９）。

【０４５２】

いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、配列番号２６０（ＴＰＰ－１６９６６）、配列番号２７８（ＴＰＰ－１７５７５）、配列番号２９６（ＴＰＰ－１７５７６）、配列番号３１４（ＴＰＰ－１７５７７）、配列番号３３２（ＴＰＰ－１７５７８）、配列番号３５０（ＴＰＰ－１７５７９）、配列番号３６８（ＴＰＰ－１７５８０）、配列番号３８６（ＴＰＰ－１７５８１）、配列番号４０４（ＴＰＰ－１８２０５）、配列番号４２２（ＴＰＰ－１８２０６）、配列番号４４０（ＴＰＰ－１８２０７）、配列番号４５８（ＴＰＰ－１９５４６）、配列番号４７６（Ｔ

ＰＰ－２０９５０）、配列番号４９４（ＴＰＰ－２０９５５）、配列番号５１２（ＴＰＰ－２０９６５）、配列番号５３０（ＴＰＰ－２１０４５）、配列番号５４８（ＴＰＰ－２１０４７）、配列番号５６６（ＴＰＰ－２１１８１）、配列番号５８４（ＴＰＰ－２１１８３）、配列番号６０２（２１３６０）、ｏｒ配列番号６２０（ＴＰＰ－２３４１１）、配列番号６６３（ＴＰＰ－２９５９６）、配列番号６８３（ＴＰＰ－２９５９７）、配列番号７０５（ＴＰＰ－１８４２９）、配列番号７２５（ＴＰＰ－１８４３０）、配列番号７４５（ＴＰＰ－１８４３２）、配列番号７６５（ＴＰＰ－１８４３３）、配列番号７８５（ＴＰＰ－１８４３６）、配列番号８０５（ＴＰＰ－１９５７１）、配列番号８２９（ＴＰＰ－２７４７７）、配列番号８４９（ＴＰＰ－２７４７８）、配列番号８６９（ＴＰＰ－２７４７９）、配列番号８８９（ＴＰＰ－２７４８０）、配列番号９０９（ＴＰＰ－２９３６７）、配列番号９２９（ＴＰＰ－２９３６８）、又は配列番号９４９（ＴＰＰ－２９３６９）のいずれかと少なくとも９０％、９５％、９８％、又は１００％の配列同一性を有するＨＣＤＲ３配列を含む。

【０４５３】

いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、少なくとも１つ、２つ、及び好ましくは３つ、４つ、５つ又は６つの以下に記載のＣＤＲ配列を含む：

ａ）配列番号２５８、配列番号２５９、配列番号２６０、配列番号２６２、配列番号２６３及び配列番号２６４（ＴＰＰ－１６９６６）、

ｂ）配列番号２７６、配列番号２７７、配列番号２７８、配列番号２８０、配列番号２８１及び配列番号２８２（ＴＰＰ－１７５７５）、

ｃ）配列番号２９４、配列番号２９５、配列番号２９６、配列番号２９８、配列番号２９９及び配列番号３００（ＴＰＰ－１７５７６）、

ｄ）配列番号３１２、配列番号３１３、配列番号３１４、配列番号３１６、配列番号３１７及び配列番号３１８（ＴＰＰ－１７５７７）、

ｅ）配列番号３３０、配列番号３３１、配列番号３３２、配列番号３３４、配列番号３３５及び配列番号３３６（ＴＰＰ－１７５７８）、

ｆ）配列番号３４８、配列番号３４９、配列番号３５０、配列番号３５２、配列番号３５３及び配列番号３５４（ＴＰＰ－１７５７９）、

ｇ）配列番号３６６、配列番号３６７、配列番号３６８、配列番号３７０、配列番号３７１及び配列番号３７２（ＴＰＰ－１７５８０）、

ｈ）配列番号３８４、配列番号３８５、配列番号３８６、配列番号３８８、配列番号３８９及び配列番号３９０（ＴＰＰ－１７５８１）、

ｉ）配列番号４０２、配列番号４０３、配列番号４０４、配列番号４０６、配列番号４０７及び配列番号４０８（ＴＰＰ－１８２０５）、

ｊ）配列番号４２０、配列番号４２１、配列番号４２２、配列番号４２４、配列番号４２５及び配列番号４２６（ＴＰＰ－１８２０６）、

ｋ）配列番号４３８、配列番号４３９、配列番号４４０、配列番号４４２、配列番号４４３及び配列番号４４４（ＴＰＰ－１８２０７）、

ｌ）配列番号４５６、配列番号４５７、配列番号４５８、配列番号４６０、配列番号４６１及び配列番号４６２（ＴＰＰ－１９５４６）、

ｍ）配列番号４７４、配列番号４７５、配列番号４７６、配列番号４７８、配列番号４７９及び配列番号４８０（ＴＰＰ－２０９５０）、

ｎ）配列番号４９２、配列番号４９３、配列番号４９４、配列番号４９６、配列番号４９７及び配列番号４９８（ＴＰＰ－２０９５５）、

ｏ）配列番号５１０、配列番号５１１、配列番号５１２、配列番号５１４、配列番号５１５及び配列番号５１６（ＴＰＰ－２０９６５）、

ｐ）配列番号５２８、配列番号５２９、配列番号５３０、配列番号５３２、配列番号５３３及び配列番号５３４（ＴＰＰ－２１０４５）、

ｑ）配列番号５４６、配列番号５４７、配列番号５４８、配列番号５５０、配列番号５

５１及び配列番号５５２（ＴＰＰ－２１０４７）、
ｒ）配列番号５６４、配列番号５６５、配列番号５６６、配列番号５６８、配列番号５６９及び配列番号５７０（ＴＰＰ－２１１８１）、
ｓ）配列番号５８２、配列番号５８３、配列番号５８４、配列番号５８６、配列番号５８７及び配列番号５８８（ＴＰＰ－２１１８３）、
ｔ）配列番号６００、配列番号６０１、配列番号６０２、配列番号６０４、配列番号６０５若しくは配列番号６０６（ＴＰＰ－２１３６０）、
ｕ）配列番号６１８、配列番号６１９、配列番号６２０、配列番号６２２、配列番号６２３若しくは配列番号６２４（ＴＰＰ－２３４１１）、
ｖ）配列番号６６１、配列番号６６２、配列番号６６３、配列番号６６５、配列番号６６６若しくは配列番号６６７（ＴＰＰ－２９５９６）、
ｗ）配列番号６８１、配列番号６８２、配列番号６８３、配列番号６８５、配列番号６８６又は配列番号６８７（ＴＰＰ－２９５９７）、
ｘ）配列番号７０３、配列番号７０４、配列番号７０５、配列番号７０７、配列番号７０８若しくは配列番号７０９（ＴＰＰ－１８４２９）、
ｙ）配列番号７２３、配列番号７２４、配列番号７２５、配列番号７２７、配列番号７２８若しくは配列番号７２９（ＴＰＰ－１８４３０）、
ｚ）配列番号７４３、配列番号７４４、配列番号７４５、配列番号７４７、配列番号７４８若しくは配列番号７４９（ＴＰＰ－１８４３２）、
ａａ）配列番号７６３、配列番号７６４、配列番号７６５、配列番号７６７、配列番号７６８若しくは配列番号７６９（ＴＰＰ－１８４３３）、
ｂｂ）配列番号７８３、配列番号７８４、配列番号７８５、配列番号７８７、配列番号７８８若しくは配列番号７８９（ＴＰＰ－１８４３６）、
ｃｃ）配列番号８０３、配列番号８０４、配列番号８０５、配列番号８０７、配列番号８０８若しくは配列番号８０９（ＴＰＰ－１９５７１）、
ｄｄ）配列番号８２７、配列番号８２８、配列番号８２９、配列番号８３１、配列番号８３２若しくは配列番号８３３（ＴＰＰ－２７４７７）、
ｅｅ）配列番号８４７、配列番号８４８、配列番号８４９、配列番号８５１、配列番号８５２若しくは配列番号８５３（ＴＰＰ－２７４７８）、
ｆｆ）配列番号８６７、配列番号８６８、配列番号８６９、配列番号８７１、配列番号８７２若しくは配列番号８７３（ＴＰＰ－２７４７９）、
ｇｇ）配列番号８８７、配列番号８８８、配列番号８８９、配列番号８９１、配列番号８９２若しくは配列番号８９３（ＴＰＰ－２７４８０）、
ｈｈ）配列番号９０７、配列番号９０８、配列番号９０９、配列番号９１１、配列番号９１２若しくは配列番号９１３（ＴＰＰ－２９３６７）、
ｉｉ）配列番号９２７、配列番号９２８、配列番号９２９、配列番号９３１、配列番号９３２若しくは配列番号９３３（ＴＰＰ－２９３６８）、
及び／又は
ｊｊ）配列番号９４７、配列番号９４８、配列番号９４９、配列番号９５１、配列番号９５２若しくは配列番号９５３（ＴＰＰ－２９３６９）、
少なくとも１つのＣＤＲに最大１つ、２つ、３つ、４つ又は５つの突然変異が導入されていてもよい。好ましくは、ＨＣＤＲ３は、本明細書の他の箇所に記載されているように、少なくとも１つ以上のヒスチジン残基を含むか、又は少なくとも１つ以上のヒスチジン残基を含むように操作されている。

【０４５４】

例えば、チロシンは、ヒスチジン等の正に荷電したアミノ酸と交換されてもよく、逆もまた同様である。例えば、正に荷電アミノ酸を異なる正に荷電アミノ酸と交換してもよく、負に荷電アミノ酸を異なる負に荷電アミノ酸と交換してもよく、極性アミノ酸を異なる極性アミノ酸と交換してもよく、極性非電荷アミノ酸を異なる極性非電荷アミノ酸と交換してもよく、小アミノ酸を異なる小アミノ酸と交換してもよく、両親媒性アミノ酸を異な

る両親媒性アミノ酸と交換してもよく、芳香族アミノ酸を異なる芳香族アミノ酸と交換してもよい。当業者によって理解されるように、特に、抗体とＣＣＲ８の硫酸化ＴＲＤとの間の特異的相互作用を変化させないアミノ酸交換が可能である。

【０４５５】

いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、以下のものと少なくとも９０％、９５％、９８％又は１００％の配列同一性を有する可変重鎖配列及び／又は可変軽鎖配列を含む：

ａ）配列番号２５７に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号２６１に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１６９６６）、

ｂ）配列番号２７５に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号２７９に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５７５）、

ｃ）配列番号２９３に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号２９７に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５７６）、

ｄ）配列番号３１１に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号３１５に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５７７）、

ｅ）配列番号３２９に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号３３３に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５７８）、

ｆ）配列番号３４７に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号３５１に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５７９）、

ｇ）配列番号３６５に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号３６９に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５８０）、

ｈ）配列番号３８３に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号３８７に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５８１）、

ｉ）配列番号４０１に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号４０５に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８２０５）、

ｊ）配列番号４１９に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号４２３に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８２０６）、

ｋ）配列番号４３７に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号４４１に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８２０７）、

ｌ）配列番号４５５に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号４５９に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１９５４６）、

ｍ）配列番号４７３に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号４７７に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２０９５０）、

ｎ）配列番号４９１に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号４９５に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２０９５５）、

ｏ）配列番号５０９に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号５１３に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２０９６５）、

ｐ）配列番号５２７に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号５３１に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２１０４５）、

ｑ）配列番号５４５に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号５４９に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２１０４７）、

ｒ）配列番号５６３に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号５６７に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２１１８１）、

ｓ）配列番号５８１に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号５８５に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２１１８３）、

ｔ）配列番号５９９に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号６０３に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２１３６０）、

ｕ）配列番号６１７に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号６２１に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２３４１１）、

ｖ）配列番号６６０に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号６６４に記載の可変軽鎖

配列（ＴＰＰ－２９５９６）、
ｗ）配列番号６８０に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号６８４に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２９５９７）、
ｘ）配列番号７０２に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号７０６に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８４２９）、
ｙ）配列番号７２２に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号７２６に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８４３０）、
ｚ）配列番号７４２に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号７４６に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８４３２）、
ａａ）配列番号７６２に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号７６６に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８４３３）、
ｂｂ）配列番号７８２に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号７８６に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８４３６）、
ｃｃ）配列番号８０２に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号８０６に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１９５７１）、
ｄｄ）配列番号８２６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号８３０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２７４７７）、
ｅｅ）配列番号８４６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号８５０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２７４７８）、
ｆｆ）配列番号８６６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号８７０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２７４７９）、
ｇｇ）配列番号８８６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号８９０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２７４８０）、
ｈｈ）配列番号９０６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号９１０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２９３６７）、
ｉｉ）配列番号９２６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号９３０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２９３６８）、又は
ｊｊ）配列番号９４６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号９５０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２９３６９）。

【０４５６】

いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、以下を含む：
ａ）配列番号２５７に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号２６１に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１６９６６）、
ｂ）配列番号２７５に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号２７９に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５７５）、
ｃ）配列番号２９３に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号２９７に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５７６）、
ｄ）配列番号３１１に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号３１５に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５７７）、
ｅ）配列番号３２９に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号３３３に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５７８）、
ｆ）配列番号３４７に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号３５１に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５７９）、
ｇ）配列番号３６５に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号３６９に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５８０）、
ｈ）配列番号３８３に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号３８７に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１７５８１）、
ｉ）配列番号４０１に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号４０５に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８２０５）、

ｊ）配列番号４１９に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号４２３に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８２０６）、
ｋ）配列番号４３７に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号４４１に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８２０７）、
ｌ）配列番号４５５に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号４５９に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１９５４６）、
ｍ）配列番号４７３に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号４７７に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２０９５０）、
ｎ）配列番号４９１に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号４９５に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２０９５５）、
ｏ）配列番号５０９に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号５１３に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２０９６５）、
ｐ）配列番号５２７に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号５３１に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２１０４５）、
ｑ）配列番号５４５に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号５４９に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２１０４７）、
ｒ）配列番号５６３に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号５６７に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２１１８１）、
ｓ）配列番号５８１に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号５８５に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２１１８３）、
ｔ）配列番号５９９に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号６０３に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２１３６０）、
ｕ）配列番号６１７に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号６２１に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２３４１１）、
ｖ）配列番号６６０に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号６６４に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２９５９６）、
ｗ）配列番号６８０に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号６８４に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２９５９７）、
ｘ）配列番号７０２に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号７０６に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８４２９）、
ｙ）配列番号７２２に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号７２６に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８４３０）、
ｚ）配列番号７４２に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号７４６に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８４３２）、
ａａ）配列番号７６２に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号７６６に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８４３３）、
ｂｂ）配列番号７８２に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号７８６に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１８４３６）、
ｃｃ）配列番号８０２に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号８０６に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１９５７１）、
ｄｄ）配列番号８２６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号８３０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２７４７７）、
ｅｅ）配列番号８４６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号８５０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２７４７８）、
ｆｆ）配列番号８６６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号８７０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２７４７９）、
ｇｇ）配列番号８８６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号８９０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２７４８０）、
ｈｈ）配列番号９０６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号９１０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２９３６７）、

ｉｉ）配列番号９２６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号９３０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２９３６８）、又は

ｊｊ）配列番号９４６に記載の可変重鎖配列及び／又は配列番号９５０に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－２９３６９）。

【０４５７】

いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、以下のものと少なくとも９０％、９５％、９８％又は１００％の配列同一性を有する重鎖配列及び／又は軽鎖配列を含む：

ａ）配列番号２７３に記載の重鎖及び配列番号２７４に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１６９６６）、

ｂ）配列番号２９１に記載の重鎖及び配列番号２９２に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５７５）、

ｃ）配列番号３０９に記載の重鎖及び配列番号３１０に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５７６）、

ｄ）配列番号３２７に記載の重鎖及び配列番号３２８に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５７７）、

ｅ）配列番号３４５に記載の重鎖及び配列番号３４６に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５７８）、

ｆ）配列番号３６３に記載の重鎖及び配列番号３６４に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５７９）、

ｇ）配列番号３８１に記載の重鎖及び配列番号３８２に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５８０）、

ｈ）配列番号３９９に記載の重鎖及び配列番号４００に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５８１）、

ｉ）配列番号４１７に記載の重鎖及び配列番号４１８に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８２０５）、

ｊ）配列番号４３５に記載の重鎖及び配列番号４３６に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８２０６）、

ｋ）配列番号４５３に記載の重鎖及び配列番号４５４に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８２０７）、

ｌ）配列番号４７１に記載の重鎖及び配列番号４７２に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１９５４６）、

ｍ）配列番号４８９に記載の重鎖及び配列番号４９０に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２０９５０）、

ｎ）配列番号５０７に記載の重鎖及び配列番号５０８に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２０９５５）、

ｏ）配列番号５２５に記載の重鎖及び配列番号５２６に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２０９６５）、

ｐ）配列番号５４３に記載の重鎖及び配列番号５４４に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２１０４５）、

ｑ）配列番号５６１に記載の重鎖及び配列番号５６２に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２１０４７）、

ｒ）配列番号５７９に記載の重鎖及び配列番号５８０に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２１１８１）、

ｓ）配列番号５９７に記載の重鎖及び配列番号５９８に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２１１８３）、

ｔ）配列番号６１５に記載の重鎖及び配列番号６１６に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２１３６０）、

ｕ）配列番号６３３に記載の重鎖及び配列番号６３４に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２３４１１）、

ｖ）配列番号６７６に記載の重鎖及び配列番号６７７に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２９５９６）、
ｗ）配列番号６９６に記載の重鎖及び配列番号６９７に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２９５９７）、
ｘ）配列番号７１８に記載の重鎖及び配列番号７１９に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８４２９）、
ｙ）配列番号７３８に記載の重鎖及び配列番号７３９に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８４３０）、
ｚ）配列番号７５８に記載の重鎖及び配列番号７５９に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８４３２）、
ａａ）配列番号７７８に記載の重鎖及び配列番号７７９に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８４３３）、
ｂｂ）配列番号７９８に記載の重鎖及び配列番号７９９に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８４３６）、
ｃｃ）配列番号８１８に記載の重鎖及び配列番号８１９に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１９５７１）、
ｄｄ）配列番号８４２に記載の重鎖及び配列番号８４３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２７４７７）、
ｅｅ）配列番号８６２に記載の重鎖及び配列番号８６３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２７４７８）、
ｆｆ）配列番号８８２に記載の重鎖及び配列番号８８３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２７４７９）、
ｇｇ）配列番号９０２に記載の重鎖及び配列番号９０３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２７４８０）、
ｈｈ）配列番号９２２に記載の重鎖及び配列番号９２３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２９３６７）、
ｉｉ）配列番号９４２に記載の重鎖及び配列番号９４３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２９３６８）、又は
ｊｊ）配列番号９６２に記載の重鎖及び配列番号９６３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２９３６９）。

【０４５８】

いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、以下を含む：
ａ）配列番号２７３に記載の重鎖及び配列番号２７４に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１６９６６）、
ｂ）配列番号２９１に記載の重鎖及び配列番号２９２に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５７５）、
ｃ）配列番号３０９に記載の重鎖及び配列番号３１０に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５７６）、
ｄ）配列番号３２７に記載の重鎖及び配列番号３２８に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５７７）、
ｅ）配列番号３４５に記載の重鎖及び配列番号３４６に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５７８）、
ｆ）配列番号３６３に記載の重鎖及び配列番号３６４に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５７９）、
ｇ）配列番号３８１に記載の重鎖及び配列番号３８２に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５８０）、
ｈ）配列番号３９９に記載の重鎖及び配列番号４００に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１７５８１）、
ｉ）配列番号４１７に記載の重鎖及び配列番号４１８に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８２０

５）、
ｊ）配列番号４３５に記載の重鎖及び配列番号４３６に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８２０６）、
ｋ）配列番号４５３に記載の重鎖及び配列番号４５４に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８２０７）、
ｌ）配列番号４７１に記載の重鎖及び配列番号４７２に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１９５４６）、
ｍ）配列番号４８９に記載の重鎖及び配列番号４９０に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２０９５０）、
ｎ）配列番号５０７に記載の重鎖及び配列番号５０８に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２０９５５）、
ｏ）配列番号５２５に記載の重鎖及び配列番号５２６に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２０９６５）、
ｐ）配列番号５４３に記載の重鎖及び配列番号５４４に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２１０４５）、
ｑ）配列番号５６１に記載の重鎖及び配列番号５６２に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２１０４７）、
ｒ）配列番号５７９に記載の重鎖及び配列番号５８０に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２１１８１）、
ｓ）配列番号５９７に記載の重鎖及び配列番号５９８に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２１１８３）、
ｔ）配列番号６１５に記載の重鎖及び配列番号６１６に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２１３６０）、
ｕ）配列番号６３３に記載の重鎖及び配列番号６３４に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２３４１１）、
ｖ）配列番号６７６に記載の重鎖及び配列番号６７７に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２９５９６）、
ｗ）配列番号６９６に記載の重鎖及び配列番号６９７に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２９５９７）、
ｘ）配列番号７１８に記載の重鎖及び配列番号７１９に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８４２９）、
ｙ）配列番号７３８に記載の重鎖及び配列番号７３９に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８４３０）、
ｚ）配列番号７５８に記載の重鎖及び配列番号７５９に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８４３２）、
ａａ）配列番号７７８に記載の重鎖及び配列番号７７９に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８４３３）、
ｂｂ）配列番号７９８に記載の重鎖及び配列番号７９９に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１８４３６）、
ｃｃ）配列番号８１８に記載の重鎖及び配列番号８１９に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１９５７１）、
ｄｄ）配列番号８４２に記載の重鎖及び配列番号８４３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２７４７７）、
ｅｅ）配列番号８６２に記載の重鎖及び配列番号８６３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２７４７８）、
ｆｆ）配列番号８８２に記載の重鎖及び配列番号８８３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２７４７９）、
ｇｇ）配列番号９０２に記載の重鎖及び配列番号９０３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２７４８０）、
ｈｈ）配列番号９２２に記載の重鎖及び配列番号９２３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２９３

６７）、
ｉｉ）配列番号９４２に記載の重鎖及び配列番号９４３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２９３６８）、又は
ｊｊ）配列番号９６２に記載の重鎖及び配列番号９６３に記載の軽鎖（ＴＰＰ－２９３６９）。
【０４５９】
また、本態様によれば、配列表と共に提供される抗ＣＣＲ８抗体のＣＤＲのランダムな置換を含む様々な抗体も提供される。
【０４６０】
好ましくは、本態様による抗体又は抗原結合断片は、本明細書の他の箇所に記載されるように、アフコシル化される。好ましくは、本態様による抗体又は抗原結合断片は、本明細書の他の箇所に記載されるように、ＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰを誘導する。好ましくは、本態様による抗体又は抗原結合断片は、本明細書の他の箇所に記載されるように、非内在化抗体又は低内在化抗体である。
【０４６１】
態様１８－抗マウスＣＣＲ８抗体（配列が定義される）
第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５及び／又は第１６の態様と同じであっても同じでなくてもよい第１８の態様によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片が提供される。好ましくは、本態様による抗体は、マウスＣＣＲ８、特に配列番号４５及び／又は配列番号４８による単離されたポリペプチドに結合し、Ｙ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている。本態様による抗体のＣＤＲは、好ましくはヒト由来ＣＤＲである。さらに、抗体は、それらを治療に特に適したものにする特性によって特徴付けられ、例えば、態様７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５又は１６の少なくとも１つ以上による抗体である。要約すると、現在の態様による抗体は、マウスＣＣＲ８を認識する代理抗体として使用することができ、例えば実施例１２で論じられるように優れた治療特性を有する。
【０４６２】
いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、以下のいずれかと、少なくとも９０％、９５％、９８％又は１００％の配列同一性を有する少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ又は６つのＣＤＲ配列を含む：
ａ）配列番号２０２、配列番号２０３、配列番号２０４、配列番号２０６、配列番号２０７及び配列番号２０８（ＴＰＰ－１４０９５）、
ｂ）配列番号２１６、配列番号２１７、配列番号２１８、配列番号２２０、配列番号２２１若しくは配列番号２２２（ＴＰＰ－１４０９９）、
ｃ）配列番号２３０、配列番号２３１、配列番号２３２、配列番号２３４、配列番号２３５及び配列番号２３６（ＴＰＰ－１５２８５）、又は
ｄ）配列番号２４４、配列番号２４５、配列番号２４６、配列番号２４８、配列番号２４９及び配列番号２５０（ＴＰＰ－１５２８６）。
【０４６３】
いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、配列番号２０４、配列番号２１８、配列番号２３２又は配列番号２４６のいずれかと少なくとも９０％、９５％、９８％又は１００％の配列同一性を有するＨＣＤＲ３配列を含む。
【０４６４】
いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、少なくとも１つ、２つ、及び好ましくは３つ、４つ、５つ又は６つの以下に記載のＣＤＲ配列を含む：
ａ）配列番号２０２、配列番号２０３、配列番号２０４、配列番号２０６、配列番号２０７及び配列番号２０８（ＴＰＰ－１４０９５）、
ｂ）配列番号２１６、配列番号２１７、配列番号２１８、配列番号２２０、配列番号２

２１若しくは配列番号２２２（ＴＰＰ－１４０９９）、
ｃ）配列番号２３０、配列番号２３１、配列番号２３２、配列番号２３４、配列番号２３５及び配列番号２３６（ＴＰＰ－１５２８５）、又は
ｄ）配列番号２４４、配列番号２４５、配列番号２４６、配列番号２４８、配列番号２４９及び配列番号２５０（ＴＰＰ－１５２８６）、
少なくとも１つのＣＤＲに最大１つ、２つ、３つ、４つ又は５つの突然変異が導入されていてもよい。

【０４６５】
例えば、チロシンは、ヒスチジン等の正に荷電したアミノ酸と交換されてもよく、逆もまた同様である。例えば、正に荷電アミノ酸を異なる正に荷電アミノ酸と交換してもよく、負に荷電アミノ酸を異なる負に荷電アミノ酸と交換してもよく、極性アミノ酸を異なる極性アミノ酸と交換してもよく、極性非電荷アミノ酸を異なる極性非電荷アミノ酸と交換してもよく、小アミノ酸を異なる小アミノ酸と交換してもよく、両親媒性アミノ酸を異なる両親媒性アミノ酸と交換してもよく、芳香族アミノ酸を異なる芳香族アミノ酸と交換してもよい。当業者によって理解されるように、特に、抗体とＣＣＲ８の硫酸化ＴＲＤとの間の特異的相互作用を変化させないアミノ酸交換が可能である。ヒスチジンを導入するアミノ酸交換が好ましい。

【０４６６】
いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、以下のものと少なくとも９０％、９５％、９８％又は１００％の配列同一性を有する可変重鎖配列及び／又は可変軽鎖配列を含む：
ａ）配列番号２０１に記載の可変重鎖配列及び配列番号２０５に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１４０９５）、
ｂ）配列番号２１５に記載の可変重鎖配列及び配列番号２１９に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１４０９９）、
ｃ）配列番号２２９に記載の可変重鎖配列及び配列番号２３３に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１５２８５）、又は
ｄ）配列番号２４３に記載の可変重鎖配列及び配列番号２４７に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１５２８６）。

【０４６７】
いくつかの好ましい実施形態によれば、抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、以下を含む：
ｅ）配列番号２０１に記載の可変重鎖配列及び配列番号２０５に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１４０９５）、
ｆ）配列番号２１５に記載の可変重鎖配列及び配列番号２１９に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１４０９９）、
ｇ）配列番号２２９に記載の可変重鎖配列及び配列番号２３３に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１５２８５）、又は
ｈ）配列番号２４３に記載の可変重鎖配列及び配列番号２４７に記載の可変軽鎖配列（ＴＰＰ－１５２８６）。

【０４６８】
いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、以下のものと少なくとも９０％、９５％、９８％又は１００％の配列同一性を有する重鎖配列及び／又は軽鎖配列を含む：
ａ）配列番号２１１に記載の重鎖及び／又は配列番号２１２に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１４０９５）、
ｂ）配列番号２２５に記載の重鎖及び／又は配列番号２２６に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１４０９９）、
ｃ）配列番号２３９に記載の重鎖及び／又は配列番号２４０に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１５２８５）、又は

ｄ）配列番号２５３に記載の重鎖及び／又は配列番号２５４に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１５２８６）。

【０４６９】

いくつかの好ましい実施形態によれば、単離された抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、以下を含む：

ａ）配列番号２１１に記載の重鎖及び／又は配列番号２１２に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１４０９５）、

ｂ）配列番号２２５に記載の重鎖及び／又は配列番号２２６に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１４０９９）、

ｃ）配列番号２３９に記載の重鎖及び／又は配列番号２４０に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１５２８５）、又は

ｄ）配列番号２５３に記載の重鎖及び／又は配列番号２５４に記載の軽鎖（ＴＰＰ－１５２８６）。

【０４７０】

「全ての態様」に従う好ましい組み合わせ

以下の実施形態は、態様６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７及び１８（本項による「全ての態様」）の特に好ましい実施形態である。

【０４７１】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片、単離された抗体又はその抗原結合断片は、ＣＣＲ８の硫酸化チロシンリッチドメインに特異的に結合する。全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、１０から３４％のチロシン及び／又は２から２０％のヒスチジンを含むＨＣＤＲ　３領域を特徴とする。全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、非内在化であるか、又はアイソタイプ対照の内在化の１．５倍、２倍、３倍、４倍、５倍、６倍、７倍若しくは１０倍より低い内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とする。

【０４７２】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片はヒト（由来）ＣＤＲを含む。例えば、抗体はヒト抗ヒトＣＣＲ８抗体であり得る。全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、好ましくはヒト、サル、カニクイザル（ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）（カニクイザル（ｃｙｎｏｍｏｌｇｕｓ　ｍｏｎｋｅｙ））、アカゲザル（ｍａｃａｃａ　ｍｕｌａｔｔａ）（アカゲザル（ｒｈｅｓｕｓ　ｍａｃａｑｕｅ））、げっ歯類、マウス、ラット、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコ及びラクダから選択され、更により好ましくはヒト、カニクイザル及びマウスから選択される少なくとも２つの種からのＣＣＲ８に対して交差反応性である。これらの実施形態のいくつかの最も好ましいものによれば、抗体又は抗原結合断片は、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８に対して交差反応性である。

【０４７３】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、第１の解離定数ＫＤで第１の種由来のＣＣＲ８に結合し、第２の解離定数ＫＤで第２の種由来のＣＣＲ８に結合し、第１及び第２の解離定数は同程度の大きさである。

【０４７４】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、＜５Ｅ－８Ｍ、＜４Ｅ－８Ｍ、＜３Ｅ－８Ｍ、＜２Ｅ－８Ｍ、＜１Ｅ－８Ｍ、＜９Ｅ－９Ｍ、＜８Ｅ－９Ｍ、＜７Ｅ－９Ｍ、＜６Ｅ－９Ｍ、＜５Ｅ－９Ｍ、＜４Ｅ－９Ｍ、＜３Ｅ－９Ｍ、＜２．５Ｅ－９Ｍ、＜２Ｅ－９Ｍ、＜１．５Ｅ－９Ｍ、＜１Ｅ－９Ｍ、＜９Ｅ－１０Ｍ、＜８Ｅ－１０Ｍ、＜７Ｅ－１０Ｍ、＜６Ｅ－１０Ｍ、＜５Ｅ－１０Ｍ、＜４Ｅ－１０Ｍ、＜３Ｅ－１０Ｍ、＜２．５Ｅ－１０Ｍ、＜２Ｅ－１０Ｍ、＜１．５Ｅ－１０Ｍ、＜１Ｅ－１０Ｍ、又は＜９Ｅ－１１ＭのＫＤ値で、

ａ）Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号４３及び／若しくは配列番号４６に記載の単離されたポリペプチドに、及び／又は

ｂ）Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号４４及び／又は配列番号４７に記載の単離されたポリペプチドに、及び／又は

ｃ）Ｙ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号４５及び／又は配列番号４８に記載の単離されたポリペプチドに結合する。

【０４７５】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、１５ｎＭ未満、１０ｎＭ未満、５ｎＭ未満、１ｎＭ未満又は０．６ｎＭ未満のＥＣ５０で、

ａ）ヒトＣＣＲ８、及び／又はＹ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号４３及び／又は配列番号４６に記載の単離されたポリペプチドに、及び／又は

ｂ）Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、カニクイザルＣＣＲ８及び／又は配列番号４４及び／又は配列番号４７による単離されたポリペプチドに、及び／又は

ｃ）マウスＣＣＲ８、及び／又はＹ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、配列番号４５及び／若しくは配列番号４８による単離されたポリペプチドに、（特異的に）結合し、

活性化ヒト制御性Ｔ細胞に対して５０ｎＭ未満、２５ｎＭ未満、１５ｎＭ未満又は１０ｎＭ未満のＥＣ５０で結合してもよい。

【０４７６】

これらの実施形態のいくつかの最も好ましい実施形態によれば、Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４６によるヒトＣＣＲ８又は単離されたポリペプチドに結合するための抗体又は抗原結合断片のＥＣ５０は、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５ｎＭ又は０．２５ｎＭ未満であり、Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４７によるカニクイザルＣＣＲ８又は単離されたポリペプチドに結合するための抗体又は抗原結合断片のＥＣ５０は、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５ｎＭ又は０．２５ｎＭ未満である。

【０４７７】

例えば実施例１０．１．１に開示されるように、本発明による抗体は、それぞれの標的に対して優れた親和性を有する。例えば、交差反応性抗体ＴＰＰ－２１１８１、ＴＰＰ－１７５７８、ＴＰＰ－１９５４６、ＴＰＰ－１８２０６、ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１は、４．８ｎＭ、１．７ｎＭ、０．８ｎＭ、０．６ｎＭ、約０．９ｎＭ又は１．７ｎＭのＥＣ５０でヒトＣＣＲ８に結合した。また、ＴＰＰ－２１１８１、ＴＰＰ－１７５７８、ＴＰＰ－１９５４６、ＴＰＰ－１８２０６、ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１はカニクイザルＣＣＲ８に結合し、ＥＣ５０は１．８ｎＭ、１ｎＭ、０．５ｎＭ、０．７ｎＭ、約０．５５ｎＭ又は０．９ｎＭであった。さらに、ＴＰＰ－１７５７８、ＴＰＰ－１９５４６、ＴＰＰ－１８２０６及びＴＰＰ－２１３６０は、２５ｎＭ、１５ｎＭ、２３ｎＭ又は１０ｎＭのＥＣ５０でヒト制御性Ｔ細胞に結合した。さらに、抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１４０９９は、３ｎＭのＥＣ５０でマウスＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞及び１３．２ｎＭのＥＣ５０でマウスｉＴｒｅｇに結合する（表１０．１．１．５を参照）。

【０４７８】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、好ましくは１０ｎＭの濃度で、

ａ）ＣＣＬ１誘導のβ－アレスチンシグナル伝達を遮断しないか、若しくは実質的に遮断しないか、若しくは遮断の程度が抗体Ｌ２６３Ｇ８及び４３３Ｈよりも低い、及び／又は

ｂ）ＥＲＫ１／２リン酸化を誘導しないか、若しくは実質的に誘導しないか、若しくは誘導の程度が抗体Ｌ２６３Ｇ８及び４３３Ｈよりも低い、及び／又は

ｃ）ＡＫＴリン酸化を誘導しないか、若しくは実質的に誘導しないか、若しくは誘導の

程度が抗体Ｌ２６３Ｇ８及び４３３Ｈよりも低い。

【０４７９】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、ケモカイン受容体のＧタンパク質依存性シグナル伝達を遮断する。

【０４８０】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、アフコシル化されている。

【０４８１】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、

ａ）５３０ｎＭ、５００ｎＭ、４５０ｎＭ、４００ｎＭ、３００ｎＭ又は２００ｎＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマ受容体ＩＩＩＡ変異体Ｖ１７６（ＣＤ１６ａ）に結合し、及び／又は

ｂ）３０μＭ、２０μＭ、１０μＭ、５μＭ又は１μＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマＲＩＩＡ（ＣＤ３２ａ）に結合する。

【０４８２】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、

ａ）ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し、及び／又は

ｂ）ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導する。

【０４８３】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片はＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰを誘導し、

ａ）活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＣ誘導性最大枯渇は、少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％若しくは９９％であり、及び／又は

ｂ）活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＰ誘導性最大枯渇は、少なくとも少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、４０％若しくは５０％であり、及び／又は

ｃ）ｉｎ　ｖｉｔｒｏ又は対象における腫瘍内制御性Ｔ細胞の最大枯渇は、少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％若しくは９９％であり、

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片のＥＣ５０は、

ａ）活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＣ誘導性枯渇の場合、１００ｐＭ、５０ｐＭ、２５ｐＭ、１２．５ｐＭ、１０ｐＭ若しくは５ｐＭ未満であり、及び／又は

ｂ）活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＰ誘発性枯渇は、５００ｐＭ、２５０ｐＭ、２００ｐＭ、１５０ｐＭ、１００ｐＭ、７５ｐＭ、５０ｐＭ又は２５ｐＭ未満である。

【０４８４】

全ての態様の好ましい実施形態において、有効量の抗体又は抗原結合断片は、

ａ）ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくは対象において、活性化又は腫瘍内制御性Ｔ細胞の数を３０％、２５％、２０％、１０％、５％又は１％未満に減少させる、及び／又は

ｂ）ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくは対象における腫瘍内Ｔｒｅｇに対する腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の比を少なくとも５、１０、１５、２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１５０、２００又はそれを超えて増加させる、及び／又は

ｃ）ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくは対象における腫瘍内ＣＤ４＋Ｔ細胞の制御性Ｔ細胞のパーセンテージを３０％未満、２０％未満、１０％未満又は５％未満に減少させる。

【０４８５】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、定義された腫瘍体積中の免疫細胞の絶対数を少なくとも１．５、２、２．５、３、３．５又は４倍増加させ、好ましくは、免疫細胞は、

ａ）（腫瘍内）ＣＤ４５＋細胞、

ｂ）（腫瘍内）ＣＤ８＋Ｔ細胞、

ｃ）（腫瘍内）ＣＤ４＋Ｔ細胞、
ｄ）（腫瘍内）マクロファージ、例えばＭ１マクロファージ又はＭ２マクロファージ、
ｅ）（腫瘍内）ＮＫ細胞、
ｆ）（腫瘍内）Ｂ細胞、
ｇ）（腫瘍内）樹状細胞、
ｈ）（腫瘍内）ガンマデルタＴ細胞、
ｉ）（腫瘍内）ｉＮＫＴ細胞、
又はそれらの任意の組み合わせから選択される。

【０４８６】

例えば、免疫細胞は、
ａ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、及びマクロファージ、又は
ｂ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、ＮＫ細胞及びマクロファージ、又は
ｃ）ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＡＣＯＤ１＋マクロファージ（Ｍ１マクロファージ）及びＢ細胞
である。

【０４８７】

全ての態様の好ましい実施形態において、３つ又はそれを超える有効量の抗体又は抗原結合断片は、腫瘍において、
ａ）腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の数を少なくとも１５０％、２００％、２５０％、３００％若しくは３５０％まで、
ｂ）腫瘍内制御性Ｔ細胞に対する腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の比を少なくとも４、５、１０、１５、２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１５０、２００以上まで、
ｃ）腫瘍内マクロファージの数を少なくとも２、３、４若しくは５倍まで、
ｄ）腫瘍内ＡＣＯＤ１＋マクロファージ（Ｍ１マクロファージ）の数を少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９又は１０倍まで、
ｅ）ＭＲＣ１＋マクロファージ（Ｍ２マクロファージ）に対するＡＣＯＤ１＋マクロファージ（Ｍ１マクロファージ）の比を少なくとも１．５、２、３、４、５、１０以上まで
ｆ）腫瘍内ＮＫ細胞の数を少なくとも１４０％又は２００％まで、
ｇ）腫瘍内ＣＤ３＋Ｔ細胞の数を少なくとも１５０％、２００％、３００％若しくは４００％まで
ｈ）腫瘍内Ｂ細胞の数を少なくとも２、５、１０、２０、３０又は４０倍まで、
ｉ）腫瘍内ＣＤ４５＋Ｔ細胞の数を少なくとも１５０％、２００％若しくは３００％まで、及び／又は
ｊ）腫瘍内ＣＤ４＋Ｔ細胞の数を少なくとも１５０％、２００％、３００％若しくは４００％まで増加させ、
好ましくは、腫瘍は、腫瘍浸潤リンパ球、例えば腫瘍浸潤Ｔ細胞によって特徴付けられる。

【０４８８】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は三次リンパ系構造の形成を誘導する。

【０４８９】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体はＩｇＧ抗体であり、好ましくはヒトＩｇＧ１又はマウスＩｇＧ２ａである。

【０４９０】

全ての態様の好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、１５ｎＭ未満、１０ｎＭ未満、５ｎＭ未満、１ｎＭ未満又は０．６ｎＭ未満のＥＣ５０で、
ａ）Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、ヒトＣＣＲ８若しくは配列番号４６に記載の単離されたポリペプチド、及び／又は
ｂ）Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、カニクイザルＣＣＲ８若しくは配列番号４７による単離されたポリペプチド、及び／又は

ｃ）Ｙ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、マウスＣＣＲ８若しくは配列番号４８に記載の単離されたポリペプチドに特異的に結合する。

【０４９１】

全ての態様の好ましい実施形態において、Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４６によるヒトＣＣＲ８又は単離されたポリペプチドに結合するための抗体又は抗原結合断片のＥＣ５０は、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５ｎＭ又は０．２５ｎＭ未満であり、Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ又は全てが硫酸化されている、配列番号４７によるカニクイザルＣＣＲ８又は単離されたポリペプチドに結合するための抗体又は抗原結合断片のＥＣ５０は、１０ｎＭ、５ｎＭ、２．５ｎＭ、１ｎＭ、０．５ｎＭ又は０．２５ｎＭ未満である。

【０４９２】

全ての態様の好ましい実施形態において、単離された抗体又は抗原結合断片は、活性化ヒト制御性Ｔ細胞に対して５０ｎＭ未満、２５ｎＭ未満、１５ｎＭ未満又は１０ｎＭ未満のＥＣ５０で結合する。

【０４９３】

全ての態様の好ましい実施形態において、第１の単離された非硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体の解離定数は、１００ｎＭ、１５０ｎＭ、２００ｎＭ、２５０ｎＭ、３００ｎＭ、３５０ｎＭ、４００ｎＭ、４５０ｎＭ、５００ｎＭ、６００ｎＭ、７００ｎＭ、８００ｎＭ、９００ｎＭ、１μＭ、１．２５μＭ、１．５μＭ、１．７５μＭ、２μＭ、２．２５μＭ、２．５μＭ、２．７５μＭ若しくは３μＭよりも高いか、又は検出不能である。好ましくは、第１の単離された非硫酸化ポリペプチドに結合するための抗体の解離定数は、１００ｎＭ、２５０ｎＭ、５００ｎＭ、１μＭ、２μＭ若しくは３μＭより高いか、又は検出不能である。

【０４９４】

「全ての態様」の最も好ましい組み合わせ

好ましい実施形態Ｉによれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、非内在化であるか、又はアイソタイプ対照の内在化の１．５、２、３、４、５、６、７、又は１０倍よりも低い内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とする。

【０４９５】

好ましい実施形態ＩＩによれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は断片は、１０～３４％のチロシン及び／又は２～２０％のヒスチジンを含むＨＣＤＲ３領域を特徴とする。

【０４９６】

好ましい実施形態ＩＩＩによれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体はヒト由来ＣＤＲを含む。

【０４９７】

好ましい実施形態ＩＶによれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、好ましくはヒト、カニクイザル及びマウスから選択される少なくとも２つの種からのＣＣＲ８に対して交差反応性であり、最も好ましくは抗体又は抗原結合断片はヒト及びカニクイザルＣＣＲ８に対して交差反応性である。

【０４９８】

好ましい実施形態Ｖによれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、

ａ．ＣＣＬ１誘導性β－アレスチンシグナル伝達を遮断しない、及び／又は

ｂ．ＥＲＫ１／２リン酸化を誘導しない、及び／又は

ｃ．ＡＫＴリン酸化を誘導しない。

【０４９９】

好ましい実施形態ＶＩによれば、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその

抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、アフコシル化されており、
ａ．ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し、
ｂ．ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導し、
ｃ．ヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞のｉｎ　ｖｉｔｒｏ枯渇を誘導する最大ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰは、少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％又は９９％である。
【０５００】
好ましい実施形態ＶＩＩによれば、好ましい実施形態ＩＩ～ＶＩのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、非内在化であるか、又はアイソタイプ対照の内在化の１．５、２、３、４、５、６、７若しくは１０倍よりも低い内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とする。
【０５０１】
好ましい実施形態ＶＩＩＩによれば、好ましい実施形態Ｉ又はＩＩＩ～ＶＩＩのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、１０～３４％のチロシン及び／又は２～２０％のヒスチジンを含むＨＣＤＲ３領域を特徴とする。
【０５０２】
好ましい実施形態ＩＸによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＩＩ又はＩＶ～ＶＩＩＩのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、抗体はヒト由来ＣＤＲを含む。
【０５０３】
好ましい実施形態Ｘによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＩＩＩ又はＶ～ＩＸのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、好ましくはヒト、カニクイザル及びマウスから選択される少なくとも２つの種由来のＣＣＲ８に対して交差反応性であり、最も好ましくは抗体又は抗原結合断片はヒト及びカニクイザルＣＣＲ８に対して交差反応性である。
【０５０４】
好ましい実施形態ＸＩによれば、好ましい実施形態Ｉ～Ｘのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、第１の解離定数ＫＤで第１の種由来のＣＣＲ８に結合し、第２の解離定数ＫＤで第２の種由来のＣＣＲ８に結合し、第１及び第２の解離定数が同程度の大きさである。
【０５０５】
好ましい実施形態ＸＩＩによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＩＶ又はＶＩ～ＸＩのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、
ａ．ＣＣＬ１誘導性β－アレスチンシグナル伝達を遮断しない、及び／又は
ｂ．ＥＲＫ１／２リン酸化を誘導しない、及び／又は
ｃ．ＡＫＴリン酸化を誘導しない。
【０５０６】
好ましい実施形態ＸＩＩＩによれば、好ましい実施形態Ｉ～Ｖ又はＶＩＩ～ＸＩＩのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、
ａ．ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し、
ｂ．ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導し、
ｃ．ヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞のｉｎ　ｖｉｔｒｏ枯渇を誘導する最大ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰは、少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％又は９９％である。
【０５０７】
好ましい実施形態ＸＩＶによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＸＩＩＩのいずれかによる単

離された抗体又は抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、ＣＣＲ８の硫酸化チロシンリッチドメインに特異的に結合する。

【０５０８】

好ましい実施形態によれば、ＸＶは、好ましい実施形態Ｉ～ＸＩＶのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片であり、抗体又は抗原結合断片は、（ｉ）１５ｎＭ未満、１０ｎＭ未満、５ｎＭ未満、１ｎＭ未満又は０．６ｎＭ未満のＥＣ５０で、特異的に結合する

ａ．Ｙ　３、Ｙ　１５及びＹ　１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、ヒトＣＣＲ８及び／又は配列番号４６に記載の単離されたポリペプチド、及び／又は

ｂ．Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、カニクイザルＣＣＲ８及び／又は配列番号４７に記載の単離されたポリペプチド、及び／又はｃ．Ｙ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、マウスＣＣＲ８及び／又は配列番号４８に記載の単離されたポリペプチドに特異的に結合し、及び／又は（ｉｉ）活性化ヒト制御性Ｔ細胞に対するＥＣ５０は５０ｎＭ未満、２５ｎＭ未満、１５ｎＭ未満又は１０ｎＭ未満である。

【０５０９】

好ましい実施形態ＸＶＩにより、好ましい実施形態Ｉ～ＸＶのいずれかによる単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、

ａ．抗体又は抗原結合断片は、５３０ｎＭ、５００ｎＭ、４５０ｎＭ、４００ｎＭ、３００ｎＭ又は２００ｎＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマ受容体ＩＩＩＡ変異体Ｖ１７６（ＣＤ１６ａ）に結合し、及び／又は

ｂ．抗体又は抗原結合断片は、３０μＭ、２０μＭ、１０μＭ、５μＭ又は１μＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマＲＩＩＡ（ＣＤ３２ａ）に結合する。

【０５１０】

好ましい実施形態ＸＶＩＩにより、好ましい実施形態Ｉ～ＸＶＩのいずれかによる単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、アフコシル化されている。

【０５１１】

好ましい実施形態ＸＶＩＩＩによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＸＶＩＩのいずれかによる単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体又は抗原結合断片は、

ａ．ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し、及び／又は

ｂ．ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導し、

好ましくは、

ｃ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＣ誘導性最大枯渇は、少なくとも２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％若しくは９９％であり、及び／又は

ｄ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＰ誘導性最大枯渇は、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、４０％若しくは５０％であり、及び／又は

ｅ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞のｉｎ　ｖｉｔｒｏ枯渇を誘導する最大ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰは、少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％又は９９％である。

【０５１２】

好ましい実施形態ＸＩＸによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＸＶＩＩＩのいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、

ａ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＣ誘導性枯渇に対する抗体若しくは抗原結合断片のＥＣ５０は、１００ｐＭ、５０ｐＭ、２５ｐＭ、１２．５ｐＭ、１０ｐＭ若しくは５ｐＭ未満であり、及び／又は

ｂ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＰ誘導性枯渇に対する抗体又は抗原結合断片のＥ

Ｃ５０は、５００ｐＭ、２５０ｐＭ、２００ｐＭ、１５０ｐＭ、１００ｐＭ、７５ｐＭ、５０ｐＭ又は２５ｐＭ未満である。

【０５１３】

好ましい実施形態ＸＸによれば、以前の好ましい実施形態のいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供され、有効量の抗体又は抗原結合断片は、

ａ．ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくは対象において活性化若しくは腫瘍内制御性Ｔ細胞の数を５０％、４０％、３０％、２５％、２０％、１０％、５％若しくは１％未満に減少させる、及び／又は

ｂ．ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくは対象における腫瘍内Ｔｒｅｇに対する腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の比を少なくとも５、１０、１５、２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１５０、２００若しくはそれを超えて増加させる、及び／又は

ｃ．ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくは対象における腫瘍内ＣＤ４＋Ｔ細胞の制御性Ｔ細胞のパーセンテージを３０％未満、２０％未満、１０％未満若しくは５％未満に減少させる。

【０５１４】

好ましい実施形態ＸＸＩによれば、有効量の抗体又は抗原結合断片が腫瘍における三次リンパ系構造の形成を誘導する、先の好ましい実施形態のいずれかによる単離された抗体又は抗原結合断片が提供される。

【０５１５】

好ましい実施形態ＸＸＩＩによれば、先の好ましい実施形態のいずれかによる単離された抗体又はその抗原結合断片が提供され、抗体はＩｇＧ抗体、好ましくはヒトＩｇＧ１若しくはマウスＩｇＧ２ａであり、又は抗原結合断片がｓｃＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’若しくはＦ（ａｂ’）２断片である。

【０５１６】

好ましい実施形態ＸＸＩＩＩによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＸＸＩＩのいずれかによる抗体又は抗原結合断片を含むコンジュゲートが提供され、好ましくは、コンジュゲートは、

ａ．放射性元素、

ｂ．オーリスタチン、メイタンシノイド、キネシンスピンドルタンパク質阻害剤、ニコチンアミドホスホリボシルトランスフェラーゼ阻害剤若しくはピロロベンゾジアゼピン誘導体等の細胞傷害剤、

ｃ．更なる抗体若しくは抗原結合断片、又は

ｄ．キメラ抗原受容体、を含む。

【０５１７】

好ましい実施形態ＸＸＩＶにより、好ましい実施形態Ｉ～ＸＸＩＩのいずれかによる抗体若しくは抗原結合断片又は好ましい実施形態ＸＸＩＩＩによるコンジュゲートを含む医薬組成物が提供される。

【０５１８】

好ましい実施形態によるＸＸＶは、好ましくは以下から選択される１つ以上の更なる治療活性化合物を含む、好ましい実施形態による医薬組成物ＸＸＩＶである：

ａ．ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１又はＣＴＬＡ－４等のチェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は化合物

（好ましくは、チェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は化合物は、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、ドスタリマブ又はイピリムマブである）、

ｂ．ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体、

ｃ．ＨＥＲ２及び／又はＥＧＦＲを標的とする抗体若しくは小分子、

ｄ．頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌及び食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌

、及び／又は前立腺癌のいずれかに対する標準治療、及び／又は
ｅ．化学療法剤、好ましくはタキサン、パクリタキセル、ドキソルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン若しくはゲムシタビン、
ｅ．抗ＣＤ１９抗体若しくは抗ＣＤ２０抗体等のＢ細胞枯渇剤及び／又は
ｆ．ソラフェニブ、レゴラフェニブ若しくはＭＥＫｉ－１等の標的化キナーゼ阻害剤。
【０５１９】
好ましい実施形態ＸＸＶＩによれば、医薬品として使用するための好ましい実施形態Ｉ～ＸＸＩＩのいずれかによる抗体若しくは抗原結合断片、又は好ましい実施形態ＸＸＩＩＩによるコンジュゲート、又は好ましい実施形態ＸＸＩＶ若しくはＸＸＶによる医薬組成物が提供される。
【０５２０】
好ましい実施形態ＸＸＶＩＩによれば、ＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞等のＣＣＲ８陽性細胞によって特徴付けられる腫瘍又は疾患の処置に使用するための、好ましい実施形態Ｉ～ＸＸＩＩのいずれかによる抗体若しくは抗原結合断片、又は好ましい実施形態ＸＸＩＩＩによるコンジュゲート、又は好ましい実施形態ＸＸＩＶ若しくはＸＸＶによる医薬組成物が提供される。
【０５２１】
好ましい実施形態ＸＸＶＩＩＩによれば、（ｉ）好ましくは、
ａ．ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１又はＣＴＬＡ－４等のチェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は小分子（好ましくは、チェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は小分子は、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、ドスタリマブ又はイピリムマブである）、
ｂ．ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体、
ｃ．腫瘍細胞によって特異的に発現されるタンパク質を標的とする抗体、
ｄ．ＨＥＲ２及び／又はＥＧＦＲを標的とする抗体又は小分子、
ｅ．頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、及び／又は前立腺癌のいずれかに対する標準治療、及び／又は
ｆ．化学療法剤、好ましくはタキサン、パクリタキセル、ドキソルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン若しくはゲムシタビン、及び／又は
ｇ．ソラフェニブ、レゴラフェニブ若しくはＭＥＫｉ－１等の標的化キナーゼ阻害剤から選択される１つ以上の更なる治療活性化合物と、及び／又は
（ｉｉ）ＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞等のＣＣＲ８陽性細胞によって特徴付けられる腫瘍又は疾患の処置における、放射線療法、及び／又は（ｉｉｉ）腫瘍内Ｂ細胞の枯渇を伴う方法との同時、別々又は逐次の組み合わせで使用するための、好ましい実施形態Ｉ～ＸＸＩＩのいずれかによる抗体若しくは抗原結合断片、又は好ましい実施形態ＸＸＩＩＩによるコンジュゲート、又は好ましい実施形態ＸＸＩＶ若しくはＸＸＶによる医薬組成物が提供される
好ましい実施形態ＸＸＩＸによれば、好ましい実施形態ＸＸＶＩＩ又はＸＸＶＩＩＩに従って使用するための抗体、断片、コンジュゲート又は医薬組成物が提供され、腫瘍が、Ｔ細胞急性リンパ芽球性白血病、乳癌、トリプルネガティブ乳癌、トリプルポジティブ乳癌、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、小細胞肺癌（ＳＣＬＣ）、精巣癌、胃癌、頭頸部扁平上皮癌、胸腺腫、食道腺癌、結腸直腸癌、膵臓腺癌、卵巣癌又は子宮頸癌、急性骨髄性白血病、腎臓癌、膀胱癌、皮膚癌、黒色腫、甲状腺癌、中皮腫、肉腫及び前立腺癌、Ｂ細胞リンパ腫、Ｔ細胞リンパ腫、又はＣＣＲ８発現細胞を伴う任意の他の癌の群から選択され、好ましくは腫瘍は、頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、前立腺癌、Ｂ細胞リンパ腫及びＴ細胞リンパ腫から選択される。好ましい実施形態ＸＸＸによれば、好ましい実施形態ＸＸＶＩ～ＸＸＩＸに従って使用するための

抗体、断片、コンジュゲート又は医薬組成物が提供され、該使用は、
ａ．腫瘍浸潤リンパ球の存在若しくは量、
ｂ．マクロファージ及び／又はＮＫ細胞の存在若しくは量、
ｃ．ＣＣＲ８陽性又はＦＯＸＰ３陽性制御性Ｔ細胞の存在若しくは量、
ｄ．腫瘍突然変異負荷、
ｅ．癌の病期分類、
ｆ．インターフェロン刺激遺伝子若しくはタンパク質の存在、レベル若しくは活性化、
ｇ．ＣＣＲ８発現、
ｈ．補体因子タンパク質、セルピン、及び／又はＭＨＣ成分の存在若しくは量、
ｉ．炎症性若しくは抑制性サイトカイン等のサイトカインの存在若しくは量、
ｊ．免疫遺伝子発現の活性化、及び／又は
ｋ．ＰＤ－（Ｌ）１若しくはＣＴＬＡ４発現等の免疫チェックポイント（タンパク質）発現、
ｌ．腫瘍浸潤ＣＤ１９＋Ｂ細胞の存在若しくは量、
ｍ．腫瘍浸潤ＣＤ８＋Ｔ細胞の存在若しくは量を、
処置の成功を予測又はモニターするために決定することを含む。

【０５２２】
好ましい実施形態ＸＸＸＩによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＸＸＩＩのいずれかによる抗体又は抗原結合断片をコードするポリヌクレオチドが提供される。

【０５２３】
好ましい実施形態ＸＸＸＩＩによれば、好ましい実施形態ＸＸＸＩによるポリヌクレオチドを含むベクターが提供される。

【０５２４】
好ましい実施形態ＸＸＸＩＩＩによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＸＸＩＩのいずれかによる抗体又は抗原結合断片の産生のために配置された単離細胞が提供される。

【０５２５】
好ましい実施形態ＸＸＸＩＶによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＸＸＩＩのいずれかによる抗体若しくは抗原結合断片又は好ましい実施形態ＸＸＩＩＩによるコンジュゲートを産生する方法であって、好ましい実施形態ＸＸＸＩＩＩによる細胞を培養すること、及び抗体若しくは抗原結合断片を精製してもよいことを含む方法が提供される。

【０５２６】
好ましい実施形態ＸＸＸＶによれば、ｉｎ　ｖｉｖｏ又はｉｎ　ｖｉｔｒｏで診断剤として使用するための好ましい実施形態Ｉ～ＸＸＩＩのいずれかによる抗体若しくは抗原結合断片、又は好ましい実施形態ＸＸＩＩＩによるコンジュゲートが提供される。

【０５２７】
好ましい実施形態ＸＸＸＶＩによれば、好ましい実施形態Ｉ～ＸＸＩＩのいずれかによる抗体若しくは抗原結合断片、又は好ましい実施形態ＸＸＩＩＩによるコンジュゲート、又は好ましい実施形態ＸＸＩＶ若しくはＸＸＶによる医薬組成物を使用説明書と共に含むキットが提供される。

【０５２８】
態様１９－抗体コンジュゲート
裸の抗体に加えて、本明細書に開示される抗体又は抗原に結合する断片を使用して、様々な更なる抗体又は抗体断片ベースのコンジュゲートを設計することができる。これらのコンジュゲートは、診断、治療、研究用途、及び様々な他の目的のためのコンジュゲートであり得る。例えば、放射性核種、細胞傷害剤、有機化合物、タンパク質毒素、免疫調節剤、例えばサイトカイン、蛍光部分、細胞、更なる抗体又はその抗原結合断片にコンジュゲートした抗体又はその抗原結合断片が提供される。

【０５２９】
本明細書に開示されるコンジュゲート、例えば抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）、標的化トリウムコンジュゲート（ＴＴＣ）、二重特異性抗体等は、本質的に「モジュール」

である。本開示を通して、コンジュゲートを構成する様々な「モジュール」の様々な具体的な実施形態が記載される。具体的な非限定的な例として、抗体又はその断片、リンカー、並びにＡＤＣを構成し得る細胞傷害剤及び／又は細胞増殖抑制剤の具体的な実施形態が記載される。記載された特定の実施形態の全ては、あたかも各特定の組み合わせが個別に明示的に記載されているかのように互いに組み合わせることができることが意図されている。

【０５３０】

第１９の態様によれば、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様又はそれらの組み合わせによる抗体又は抗原結合断片を含むコンジュゲートが提供される。例えば、コンジュゲートは、第６の態様による抗体又は抗原結合断片を含む。例えば、コンジュゲートは、第７の態様による抗体又は抗原結合断片を含む。例えば、コンジュゲートは、第８の態様による抗体又は抗原結合断片を含む。例えば、コンジュゲートは、第９の態様による抗体又は抗原結合断片を含む。例えば、コンジュゲートは、第１０の態様による抗体又は抗原結合断片を含む。例えば、コンジュゲートは、第１１の態様による抗体又は抗原結合断片を含む。例えば、コンジュゲートは、第１２の態様による抗体又は抗原結合断片を含む。例えば、コンジュゲートは、第１３の態様による抗体又は抗原結合断片を含む。例えば、コンジュゲートは、第１４の態様による抗体又は抗原結合断片を含む。例えば、コンジュゲートは、第１５の態様による抗体又は抗原結合断片を含む。例えば、コンジュゲートは、第１６の態様による抗体又は抗原結合断片を含む。例えば、コンジュゲートは、第１７の態様による抗体又は抗原結合断片を含む。例えば、コンジュゲートは、第１８の態様による抗体又は抗原結合断片を含む。

【０５３１】

いくつかの好ましい実施形態によれば、コンジュゲートは、（ａ）放射性元素、（ｂ）オーリスタチン、メイタンシノイド、キネシンスピンドルタンパク質（ＫＳＰ）阻害剤、ニコチンアミドホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＮＡＭＰＴ）阻害剤又はピロロベンゾジアゼピン誘導体等の細胞傷害剤、（ｃ）更なる抗体又は抗原結合断片、（ｄ）キメラ抗原受容体を含む。

【０５３２】

放射性コンジュゲート

第１９の態様のいくつかの第１の実施形態によれば、コンジュゲートは、ベータ粒子、アルファ粒子、又はオージェ電子放出体等の放射性核種を含むか、又は含むように構成される。本発明による適切なベータ放出体は、例えば、イットリウム－９０、ヨウ素－１３１、ストロンチウム－８９－クロリド、ルテチウム－１７７、ホルミウム－１６６、レニウム－１８６、レニウム－１８８、銅－６７、プロメチウム－１４９、金－１９９、及びロジウム－１０５である。本発明による適切なオージェ電子放出体は、例えば、臭素－７７、インジウム－１１１、ヨウ素－１２３、及びヨウ素－１２５である。本発明による適切なアルファ放出体は、例えばトリウム－２２７、ビスマス－２１３、ラジウム－２２３、アクチニウム－２２５及びアスタチン－２１１である。

【０５３３】

例えば、実施例１３に記載されるように、トリウム－２２７（２２７Ｔｈ）を、本発明による抗体にコンジュゲートさせた八座３，２－ヒドロキシピリジノン（３，２－ＨＯＰＯ）キレート剤と効率的に錯体形成させることができ、非常に安定な標的化トリウム－２２７コンジュゲート（ＴＴＣ）が得られる。標的化トリウムコンジュゲート（ＴＴＣ）は、３つの主要な構成要素を含む。アクチニウム－２２７のβ粒子崩壊に続いて、最初の構成要素であるα粒子放出放射性核種２２７Ｔｈをイオン交換クロマトグラフィーによって精製する。第２の構成要素は、生体共役のためにカルボン酸リンカーで官能化された対称ポリアミン骨格上に４つの３－ヒドロキシ－Ｎ－メチル－２－ピリジノン部分を有するＨＯＰＯ基を含有するシデロフォア由来キレート剤等のキレート剤である。標的化部分へのコンジュゲーションは、リジン残基のε－アミノ基とのアミド結合形成によって達成する

ことができる。これらの八座３，２－ＨＯＰＯキレート剤は、高い収率、純度、及び周囲条件での安定性で、２２７Ｔｈで効率的に標識することができる。加熱を必要とすることが多いテトラ－アザシクロドデカン－１，４，７，１０四酢酸（ＤＯＴＡ）キレート剤と比較して、ＨＯＰＯキレート剤は、周囲温度での効率的な放射性標識及び形成された錯体の高い安定性のために優れている。第３の構成要素は、標的化部分、すなわち、態様６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７又は１８のいずれかによるケモカイン受容体抗体又はその抗原結合断片である。

【０５３４】

ＡＤＣ

第１９の態様のいくつかの第２の実施形態によれば、コンジュゲートは、細胞傷害剤を含み、例えば、抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）を形成する。

【０５３５】

いくつかの好ましい実施形態において、細胞傷害剤は、オーリスタチン、メイタンシノイド、キネシンスピンドルタンパク質（ＫＳＰ）阻害剤、ニコチンアミドホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＮＡＭＰＴ）阻害剤又はピロロベンゾジアゼピン誘導体である。メイタンシノイドを含むコンジュゲートの生成は、両方ともその全体が本明細書に組み込まれる、Ｃｈａｒｉ，Ｒａｖｉ　ＶＪ，ｅｔ　ａｌ．“Ｉｍｍｕｎｏｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ　ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ　ｎｏｖｅｌ　ｍａｙｔａｎｓｉｎｏｉｄｓ：ｐｒｏｍｉｓｉｎｇ　ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ　ｄｒｕｇｓ．”Ｃａｎｃｅｒ　ｒｅｓｅａｒｃｈ　５２．１（１９９２）：１２７－１３１又は欧州特許２４２４５６９号Ｂ１に記載されるように起こり得る。キネシンスピンドルタンパク質（ＫＳＰ）阻害剤を含むコンジュゲートの生成は、その全体が本明細書に組み込まれる国際公開第２０１９２４３１５９号Ａ１に記載されているように起こり得る。ニコチンアミドホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＮＡＭＰＴ）阻害剤を含むコンジュゲートの生成は、その全体が本明細書に組み込まれる国際公開第２０１９１４９６３７号Ａ１に記載されているように起こり得る。ピロロベンゾジアゼピンを含むコンジュゲートの生成は、欧州特許出願公開第３３５５９３５号Ａ　１（その全体が本明細書に組み込まれる）に記載されているように得ることができる。

【０５３６】

抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの細胞傷害剤及び／又は細胞増殖抑制剤は、細胞の増殖及び／又は複製を阻害する、及び／又は細胞を死滅させることが公知の任意の薬剤であり得る。細胞傷害性及び／又は細胞増殖抑制性を有する多数の薬剤が文献で公知である。細胞傷害剤及び／又は細胞増殖抑制剤のクラスの非限定的な例としては、細胞周期調節剤、アポトーシス調節剤、キナーゼ阻害剤、タンパク質合成阻害剤、アルキル化剤、ＤＮＡ架橋剤、挿入剤、ミトコンドリア阻害剤、核外輸送阻害剤、トポイソメラーゼＩ阻害剤、トポイソメラーゼＩＩ阻害剤、ＲＮＡ／ＤＮＡ代謝拮抗剤及び有糸分裂阻害剤が例として挙げられるが、これらに限定されない。

【０５３７】

細胞傷害剤及び／又は細胞増殖抑制剤を抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの抗原結合部分に連結するリンカーは、長鎖、短鎖、可撓性、剛性、親水性又は疎水性であってもよく、又は可撓性のセグメント、剛性のセグメント等の異なる特徴を有するセグメントを含んでもよい。リンカーは、細胞外環境に対して化学的に安定であってもよく、例えば血流中で化学的に安定であってもよく、又は安定ではなく、細胞外環境で細胞傷害剤及び／又は細胞増殖抑制剤を放出する連結を含んでもよい。いくつかの実施形態において、リンカーは、細胞内での抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの内在化時に細胞傷害剤及び／又は細胞増殖抑制剤を放出するように設計された結合を含む。いくつかの具体的な実施形態において、リンカーは、細胞内で特異的又は非特異的に切断及び／又は犠牲にするか、そうでなければ分解するように設計された結合を含む。ＡＤＣに関連して抗体等の抗原結合部分に薬物を連結するのに有用な多種多様なリンカーが当技術分野で公知である。これらのリンカーのいずれか、並びに他のリンカーを使用して、細胞傷害剤及び／又は細胞増殖抑制剤を本明細書に記載の抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの

抗原結合部分に連結することができる。

【０５３８】

抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣ（薬物抗体比：ＤＡＲ）の抗原結合部分に連結された細胞傷害剤及び／又は細胞増殖抑制剤の数は様々であり得、抗原結合部分上の利用可能な付着部位の数及び単一リンカーに連結された薬剤の数によってのみ制限される。典型的には、リンカーは、単一の細胞傷害剤及び／又は細胞増殖抑制剤を抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの抗原結合部分に連結する。複数の細胞傷害性及び／又は細胞増殖抑制剤を含む抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの実施形態において、各薬剤は同じであっても異なっていてもよい。抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣが、使用及び／又は保存の条件下で許容できないレベルの凝集を示さない限り、２０又はそれを超えるＤＡＲを有する抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣが企図される。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣは、約１～１０、１～８、１～６、又は１～４の範囲のＤＡＲを有し得る。ある特定の具体的な実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣは、２、３又は４のＤＡＲを有し得る。いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣは、構造式（Ｉ）：

［Ｄ－Ｌ－ＸＹ］ｎ－Ａｂ（Ｉ）

による化合物、又はその塩であり、式中、各「Ｄ」は、他とは独立して、細胞毒性剤及び／又は細胞増殖抑制剤を表し、各「Ｌ」は、他とは独立して、リンカーを表し、「Ａｂ」は、抗ケモカイン受容体結合部分、例えば本発明による抗ＣＣＲ８抗体を表し、各「ＸＹ」は、リンカー上の官能基Ｒｘと抗ケモカイン受容体結合部分上の「相補的な」官能基Ｒｙとの間に形成される結合を表し、ｎは抗ケモカイン受容体ＡＤＣのＤＡＲを表す。

【０５３９】

特定の例示的な実施形態において、抗ケモカイン受容体ＡＤＣは、各「Ｄ」が同じであり、細胞透過性オーリスタチン（例えば、ドラスタチン－１０又はＭＭＡＥ）又は細胞透過性小溝結並びに合ＤＮＡ架橋剤のいずれかである構造式（Ｉ）による化合物である；各「Ｌ」は同じであり、リソソーム酵素によって切断可能なリンカーである；各「ＸＹ」は、マレイミドとスルフヒドリル基との間に形成される結合であり；「Ａｂ」は、本発明による抗ケモカイン受容体又はＣＣＲ８抗体の６つのＣＤＲに対応する６つのＣＤＲを含む抗体又はその断片である；ｎは２、３又は４である。特定の実施形態において、「Ａｂ」は、ヒト由来ＣＤＲを含む完全ヒト抗体である。

【０５４０】

細胞傷害剤及び細胞増殖抑制剤は、細胞、特に腫瘍細胞又は腫瘍内Ｔｒｅｇ細胞の増殖及び／又は複製を阻害し、及び／又はそれらを死滅させることが公知の薬剤である。これらの化合物は、ＣＣＲ８抗体等の抗ケモカイン受容体抗体との併用療法において、又は本明細書に記載の抗ケモカイン受容体ＡＤＣの一部として使用され得る。

【０５４１】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、放射性核種、アルキル化剤、ＤＮＡ架橋剤、ＤＮＡインターカレート剤（例えば、溝結合剤、例えば小溝結合剤）、細胞周期調節剤、アポトーシス調節剤、キナーゼ阻害剤、タンパク質合成阻害剤、ミトコンドリア阻害剤、核外輸送阻害剤、トポイソメラーゼＩ阻害剤、トポイソメラーゼＩＩ阻害剤、ＲＮＡ／ＤＮＡ代謝拮抗剤及び有糸分裂阻害剤から選択される細胞増殖抑制剤である。

【０５４２】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、ａｓａｌｅｙ（Ｌ－ロイシン、Ｎ－［Ｎ－アセチル－４－［ビス－（２－クロロエチル）アミノ］－ＤＬ－フェニルアラニル］－、エチルエステル）；ＡＺＱ（１，４－シクロヘキサジエン－１，４－ジカルバミン酸、２，５－ビス（１－アジリジニル）－３，６－ジオキソ－、ジエチルエステル）；ＢＣＮＵ（Ｎ，Ｎ’－ビス（２－クロロエチル）－Ｎ－ニトロソウレア）；ブスルファン（１，４－ブタンジオールジメタンスルホネート）

；（カルボキシフタラート）白金；ＣＢＤＣＡ（シス－（１，１－シクロブタンジカルボキシレート）ジアンミン白金（ＩＩ））；ＣＣＮＵ（Ｎ－（２－クロロエチル）－Ｎ’－シクロヘキシル－Ｎ－ニトロソ尿素）；チップ（イプロプラチン；ＮＳＣ２５６９２７）；クロラムブシル；クロロゾトシン（２－［［［（２－クロロエチル）ニトロソアミノ］カルボニル］アミノ］－２－デオキシ－Ｄ－グルコピラノース）；シス－白金（シスプラチン）；クロメゾン；シアノモルホリノドキソルビシン；シクロジソン；ジアンヒドロガラクチトール（５，６－ジエポキシズルシトール）；フルオロドパン（（５－［（２－クロロエチル）－（２－フルオロエチル）アミノ］－６－メチル－ウラシル）；ヘプスルファム；ヒカントン；インドリノベンゾジアゼピン二量体ＤＧＮ４６２；メルファラン；メチルＣＣＮＵ（（１－（２－クロロエチル）－３－（ｔｒａｎｓ－４－メチルシクロヘキサン）－１－ニトロソ尿素）；マイトマイシンＣ；ミトゾールアミド；ナイトロジェンマスタード（（ビス（２－クロロエチル）メチルアミン塩酸塩）；ＰＣＮＵ（（１－（２－クロロエチル）－３－（２，６－ジオキソ－３－ピペリジル）－１－ニトロソウレア））；ピペラジンアルキル化剤（（１－（２－クロロエチル）－４－（３－クロロプロピル）－ピペラジン二塩酸塩）；ピペラジンジオン；ピポブロマン（Ｎ，Ｎ’－ビス（３－ブロモプロピオニル）ピペラジン）；ポルフィロマイシン（Ｎ－メチルマイトマイシンＣ）；スピロヒダントインマスタード；テロキシロン（トリグリシジルイソシアヌレート）；テトラプラチン；チオ－テパ（Ｎ，Ｎ’、Ｎ’’－トリ－１，２－エタンジイルチオホスホラミド）；トリエチレンメラミン；ウラシルナイトロジェンマスタード（デスメチルドパン）；Ｙｏｓｈｉ－８６４（（ビス（３－メシルオキシプロピル）アミン塩酸塩）から選択されるアルキル化剤を含む。

【０５４３】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、シスプラチン；カルボプラチン；ネダプラチン；オキサリプラチン；サトラプラチン；トリプラチンテトラニトレート；プロカルバジン；アルトレタミン；ダカルバジン；ミトゾロミド；テモゾロミドから選択されるＤＮＡアルキル化様剤である。

【０５４４】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、カルボコン；カルムスチン；クロルナファジン；クロロゾトシン；デュオカルマイシン；エボフォスファミド；フォテムスチン；グルフォスファミド；ロムスチン；マンノスルファン；ニムスチン；フェナントリプラチン；ピポブロマン；ラニムスチン；セムスチン；ストレプトゾトシン；チオＴＥＰＡ；トレオスルファン；トリアジコン；トリエチレンメラミン；トリプラチンテトラニトレートから選択されるアルキル化抗新生物剤である。

【０５４５】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、アルトレタミン；ブレオマイシン；ダカルバジン；ダクチノマイシン；ミトブロニトール；マイトマイシン；ピンジアンマイシン；プリカマイシン；プロカルバジン；テモゾロミド；ＡＢＴ－８８８（ベリパリブ）；オラパリブ；ＫＵ－５９４３６；ＡＺＤ－２２８１；ＡＧ－０１４６９９；ＢＳＩ－２０１；ＢＧＰ－１５；ＩＮＯ－１００１；ＯＮＯ－２２３１から選択されるＤＮＡ複製及び修復阻害剤である。

【０５４６】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、パクリタキセル；Ｎａｂ－パクリタキセル；ドセタキセル；ビンクリスチン；ビンブラスチン；ＡＢＴ－３４８；ＡＺＤ－１１５２；ＭＬＮ－８０５４；ＶＸ－６８０；Ａｕｒｏｒａ　Ａ特異的キナーゼ阻害剤；Ａｕｒｏｒａ　Ｂ特異的キナーゼ阻害剤及びｐａｎ－Ａｕｒｏｒａキナーゼ阻害剤；ＡＺＤ－５４３８；ＢＭＩ－１０４０；ＢＭＳ－０３２；ＢＭＳ－３８７；ＣＶＴ－２５８４；フラボピリドール；ＧＰＣ－２８６１９９；ＭＣＳ－５Ａ；ＰＤ０３３２９９１；ＰＨＡ－６９０５０９；セレシクリブ（ＣＹＣ－２０２、Ｒ－ロスコビチン）；ＺＫ－３０４７０９；ＡＺＤ４８７７、ＡＲＲＹ－５２０：ＧＳ

Ｋ９２３２９５Ａ等の細胞周期調節因子である。

【０５４７】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、ＡＴ－１０１（（－）ゴシポール）；Ｇ３１３９又はオブリメルセン（Ｂｃｌ－２標的化アンチセンスオリゴヌクレオチド）；ＩＰＩ－１９４；ＩＰＩ－５６５；Ｎ－（４－（４－（（４’－クロロ（１，１’－ビフェニル）－２－イル）メチル）ピペラジン－１－イルベンゾイル）－４－（（（１Ｒ）－３－（ジメチルアミノ）－１－（（フェニルスルファニル）メチル）プロピル）アミノ）－３－ニトロベンゼンスルホンアミド）；Ｎ－（４－（４－（（２－（４－クロロフェニル）－５，５－ジメチル－１－シクロヘキサ－１－エン－１－イル）メチル）ピペラジン－１－イル）ベンゾイル）－４－（（（１Ｒ）－３－（モルホリン－４－イル）－１－（（フェニルスルファニル）メチル）プロピル）アミノ）－３－（（トリフルオロメチル）スルホニル）ベンゼンスルホンアミド；ＧＸ－０７０（Ｏｂａｔｏｃｌａｘ（登録商標）；１Ｈ－インドール、２－（２－（（３，５－ジメチル－１Ｈ－ピロール－２－イル）メチレン）－３－メトキシ－２Ｈ－ピロール－５－イル）－））；ＨＧＳ１０２９；ＧＤＣ－０１４５；ＧＤＣ－０１５２；ＬＣＬ－１６１；ＬＢＷ－２４２；ベネトクラックス；ＴＲＡＩＬ又は細胞死受容体（例えば、ＤＲ４及びＤＲ５）を標的とする薬剤、例えば、ＥＴＲ２－ＳＴ０１、ＧＤＣ０１４５、ＨＧＳ－１０２９、ＬＢＹ－１３５、ＰＲＯ－１７６２；カスパーゼ、カスパーゼ調節因子、ＢＣＬ－２ファミリーメンバー、デスドメインタンパク質、ＴＮＦファミリーメンバー、Ｔｏｌｌファミリーメンバー及び／又はＮＦ－κ－Ｂタンパク質を標的とする薬物等のアポトーシス調節因子である。

【０５４８】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、ＡＢＴ－８６９；ＡＥＥ－７８８；アキシチニブ（ＡＧ－１３７３６）；ＡＺＤ－２１７１；ＣＰ－５４７，６３２；ＩＭ－８６２；ペガプタミブ；ソラフェニブ；ＢＡＹ４３－９００６号；パゾパニブ（ＧＷ－７８６０３４）；バタラニブ（ＰＴＫ－７８７、ＺＫ－２２２５８４）；スニチニブ；ＳＵ－１１２４８；ＶＥＧＦトラップ；バンデタニブ；ＡＢＴ－１６５；ＺＤ－６４７４；ＤＬＬ４阻害剤等の血管新生阻害剤である。

【０５４９】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、ボルテゾミブ；カルフィルゾミブ；エポキソミシン；イキサゾミブ；サリノスポラミドＡ等のプロテアソーム阻害剤である。

【０５５０】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、アファチニブ；アキシチニブ；ボスチニブ；クリゾチニブ；ダサチニブ；エルロチニブ；フォスタマチニブ；ゲフィチニブ；イブルチニブ；イマチニブ；ラパチニブ；レンバチニブ；ムブリチニブ；ニロチニブ；パゾパニブ；ペガプタニブ；ソラフェニブ；スニチニブ；ＳＵ６６５６；バンデタニブ；ベムラフェニブ；ＣＥＰ－７０１（レサウルチニブ）；ＸＬ０１９；ＩＮＣＢ０１８４２４（ルキソリチニブ）；ＡＲＲＹ－１４２８８６（セレメチニブ）；ＡＲＲＹ－４３８１６２（ビニメチニブ）；ＰＤ－３２５９０１；ＰＤ－９８０５９；ＡＰ－２３５７３；ＣＣＩ－７７９；エベロリムス；ＲＡＤ－００１；ラパマイシン；テムシロリムス；ＰＩ－１０３、ＰＰ２４２、ＰＰ３０、Ｔｏｒｉｎ１を含むＡＴＰ競合ＴＯＲＣ１／ＴＯＲＣ２阻害剤；ＬＹ２９４００２；ＸＬ－１４７；ＣＡＬ－１２０；ＯＮＣ－２１；ＡＥＺＳ－１２７；ＥＴＰ－４５６５８；ＰＸ－８６６；ＧＤＣ－０９４１；ＢＧＴ２２６；ＢＥＺ２３５；ＸＬ７６５等のキナーゼ阻害剤である。

【０５５１】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、ストレプトマイシン；ジヒドロストレプトマイシン；ネオマイシン；フラミセチン；パロモマイシン；リボスタマイシン；カナマイシン；アミカシン；アルベカシン；ベカナマイシン；ジベカシン；トブラマイシン；スペクチノマイシン；ハイグロマイシンＢ；パ

ロモマイシン；ゲンタマイシン；ネチルミシン；シソマイシン；イセパマイシン；ベルダマイシン；アストロマイシン；テトラサイクリン；ドキシサイクリン；クロルテトラサイクリン；クロモサイクリン；デメクロサイクリン；リシン；メクロサイクリン；メタサイクリン；ミノサイクリン；オキシテトラサイクリン；ペニメピサイクリン；ロリテトラサイクリン；テトラサイクリン；グリシルサイクリン；チゲサイクリン；オキサゾリジノン；エペレゾリド；リネゾリド；ポジゾリド；ラデゾリド；ランベゾリド；ステゾリド；テジゾリド；ペプチジルトランスフェラーゼ阻害剤；クロラムフェニコール；アジダンフェニコール；チアンフェニコール；フロルフェニコール；プルロムチリン；レタパムリン；チアムリン；バルネムリン；アジスロマイシン；クラリスロマイシン；ジリスロマイシン；エリスロマイシン；フルリスロマイシン；ジョサマイシン；ミデカマイシン；ミオクタマイシン；オレアンドマイシン；ロキタマイシン；ロキシスロマイシン；スピラマイシン；トロレアンドマイシン；チロシン；ケトリド；テリスロマイシン；セトロマイシン；ソリスロマイシン；クリンダマイシン；リンコマイシン；ピリマイシン；ストレプトグラミン；プリスチナマイシン；キヌプリスチン／ダルホプリスチン；ヴァージニアマイシン等のタンパク質合成阻害剤である。

【０５５２】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、ボリノスタット；ロミドプシン；シダミド；パノビノスタット；バルプロ酸；ベリノスタット；モセチノスタット；アベキシノスタット；エンチノスタット；ＳＢ９３９（プラシノスタット）；レスミノスタット；ジビノスタット；キシノスタット；チオウレイドブチロニトリル（Ｋｅｖｅｔｒｉｎ（商標））；ＣＵＤＣ－１０；ＣＨＲ－２８４５（テフィノスタット）；ＣＨＲ－３９９６；４ＳＣ－２０２；ＣＧ２００７４５；ＡＣＹ－１２１５（ロシリノスタット）；ＭＥ－３４４；スルホラファン等のヒストンデアセチラーゼ阻害剤である。

【０５５３】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、カンプトテシン；各種カンプトテシン誘導体及び類縁体（例えば、ＮＳＣ１００８８０、ＮＳＣ６０３０７１、ＮＳＣ１０７１２４、ＮＳＣ６４３８３３、ＮＳＣ６２９９７１、ＮＳＣ２９５５００、ＮＳＣ２４９９１０、ＮＳＣ６０６９８５、ＮＳＣ７４０２８、ＮＳＣ１７６３２３、ＮＳＣ２９５５０１、ＮＳＣ６０６１７２、ＮＳＣ６０６１７３、ＮＳＣ６１０４５８、ＮＳＣ６１８９３９、ＮＳＣ６１０４５７、ＮＳＣ６１０４５９、ＮＳＣ６０６４９９、ＮＳＣ６１０４５６、ＮＳＣ３６４８３０、ＮＳＣ６０６４９７）；モルホリンイソドキソルビシン；ＳＮ－３８等のトポイソメラーゼＩ阻害剤である。

【０５５４】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、ドキソルビシン、アモナフィド（ベンズイソキノリンジオン）；ｍ－ＡＭＳＡ（４’－（９－アクリジニルアミノ）－３’－メトキシメタンスルホンアニリド）；アントラピラゾール誘導体（（ＮＳＣ３５５６４４）；エトポシド（ＶＰ－１６）；ピラゾロアクリジン（（ピラゾロ［３，４，５－ｋｌ］アクリジン－２（６Ｈ）－プロパンアミン、９－メトキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチル－５－ニトロ－モノメタンスルホネート）；ビサントレン塩酸塩；ダウノルビシン；デオキシドキソルビシン；ミトキサントロン；メノガリル；Ｎ，Ｎ－ジベンジルダウノマイシン；オキサントラゾール；ルビダゾン；テニポシド等のトポイソメラーゼＩＩ阻害剤である。

【０５５５】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、アントラマイシン；チカマイシンＡ；トマイマイシン；直流８１；シビロマイシン；ピロロベンゾジアゼピン誘導体；ＳＧＤ－１８８２（（Ｓ）－２－（４－アミノフェニル）－７－メトキシ－８－（３Ｓ）－７－メトキシ－２－（４－メトキシフェニル）－５－オキソ－５，１１ａ－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－８－イル）オキシ）プロポキシ）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］

［１，４］ジアゼピン－５（１１ａＨ）－オン）；ＳＧ２０００（ＳＪＧ－１３６；（１１ａＳ，１１ａ’Ｓ）－８，８’－（プロパン－１，３－ジイルビス（オキシ））ビス（７－メトキシ－２－メチレン－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－５（１１ａＨ）－オン））等のＤＮＡ挿入剤である。

【０５５６】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、Ｌ－アラノシン；５－アザシチジン；５－フルオロウラシル；アシビシン；アミノプテリン誘導体Ｎ－［２－クロロ－５［［（２，４－ジアミノ－５－メチル－６－キナゾリニル）メチル］アミノ］ベンゾイル］Ｌ－アスパラギン酸（ＮＳＣ１３２４８３）；アミノプテリン誘導体Ｎ－［４－［［（２，４－ジアミノ－５－エチル－６－キナゾリニル）メチル］アミノ］ベンゾイル］Ｌ－アスパラギン酸；アミノプテリン誘導体Ｎ－［２－クロロ－４－［［（２，４－ジアミノ－６－プテリジニル）メチル］アミノ］ベンゾイル］Ｌ－アスパラギン酸一水和物；葉酸代謝拮抗剤ＰＴ５２３（（Ｎα－（４－アミノ－４－デオキシプテロイル）－Ｎγ－ヘミフタロイル－Ｌ－オルニチン）；可溶性ベーカーアンチフォル（Ｂａｋｅｒ’ｓ　ｓｏｌｕｂｌｅ　ａｎｔｉｆｏｌ）（ＮＳＣ１３９１０５）；ジクロロアリルローゾン（（２－（３，３－ジクロロアリル）－３－ヒドロキシ－１，４－ナフトキノン）；ブレキナル；ｆｔｏｒａｆｕｒ（（プロドラッグ；５－フルオロ－１－（テトラヒドロ－２－フリル）－ウラシル）；５，６－ジヒドロ－５－アザシチジン；メトトレキサート；メトトレキサート誘導体（Ｎ－［［４－［［（２，４－ジアミノ－６－プテリジニル）メチル］メチルアミノ］－１－ナフタレニル］カルボニル］Ｌ－グルタミン酸）；ＰＡＬＡ（（Ｎ－（ホスホノアセチル）－Ｌ－アスパラギン酸）；ピラゾフリン；トリメトレキセート等のＲＮＡ／ＤＮＡ代謝拮抗物質である。

【０５５７】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、３－ＨＰ；２’－デオキシ－５－フルオロウリジン；５－ＨＰ；α－ＴＧＤＲ（α－２’－デオキシ－６－チオグアノシン）；アフィジコリン酸グリシネート；ａｒａ　Ｃ（シトシンアラビノシド）；５－アザ－２’－デオキシシチジン；β－ＴＧＤＲ（β－２’－デオキシ－６－チオグアノシン）；シクロシチジン；グアナゾール；ヒドロキシ尿素；イノシングリコジアルデヒド；マクベシンＩＩ；ピラゾロイミダゾール；チオグアニン；チオプリン等のＤＮＡ代謝拮抗物質である。

【０５５８】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、パンクラチスタチン；フェンパンスタチン；ローダミン－１２３；エデルホシン；ｄ－アルファ－トコフェロールスクシネート；化合物１１β；アスピリン；エリプティシン；ベルベリン；セルレニン；ＧＸ０１５－０７０（オバトクラックス（登録商標）；１Ｈ－インドール、２－（２－（（３，５－ジメチル－１Ｈ－ピロール－２－イル）メチレン）－３－メトキシ－２Ｈ－ピロール－５－イル）－）；セラストロール（トリプテリン）；メトホルミン；ブリリアントグリーン；ＭＥ－３４４等のミトコンドリア阻害剤である。

【０５５９】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、アロコルヒチン；ＭＭＡＥ（モノメチルアウリスタチンＥ）及びＭＭＡＦ（モノメチルアウリスタチンＦ）等のアウリスタチン；ハリコンドリンＢ；セマドチン；コルヒチン；コルヒチン誘導体（Ｎ－ベンゾイル－デアセチルベンズアミド）；ドラスタチン－１０；ドラスタチン－１５；メイタンシン；メイタンシノイド、例えばＤＭ１（Ｎ２’－デアセチル－Ｎ２’－（３－メルカプト－１－オキソプロピル）－メイタンシン）；ロゾキシン；パクリタキセル；パクリタキセル誘導体（（２’－Ｎ－［３－（ジメチルアミノ）プロピル］　グルタラメートパクリタキセル）；ドセタキセル；チオコルヒチン；トリチルシステイン；硫酸ビンブラスチン；硫酸ビンクリスチン等の抗有糸分裂剤である。

【０５６０】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、カリスタチンＡ；デラクトンマイシン；ＫＰＴ－１８５（プロパン－２－イル（Ｚ）－３－［３－［３－メトキシ－５－（トリフルオロメチル）フェニル］－１，２，４－トリアゾール－１－イル］プロパ－２－エノエート）；カズサマイシンＡ；レプトルスタチン；レプトフラニンＡ；レプトマイシンＢ；ラトジャドン；ベルジネキソル（Ｖｅｒｄｉｎｅｘｏｒ）（（Ｚ）－３－［３－［３，５－ビス（トリフルオロメチル）フェニル］－１，２，４トリアゾール－１－イル］－Ｎ－ピリジン－２－イルプロパ－２－エンヒドラジド）等の核外輸送阻害剤である。

【０５６１】

いくつかの実施形態において、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８　ＡＤＣの薬物部分は、アナストロゾール；エキセメスタン；アルゾキシフェン；ビカルタミド；セトロレリクス；デガレリクス；デスロレリン；トリロスタン；デキサメタゾン；フルタミド；ラロキシフェン；ファドロゾール；トレミフェン；フルベストラント；レトロゾール；フォルメスタン；糖質コルチコイド；ドセルカルシフェロール；炭酸セベラマー；ラソホキシフェン；酢酸リュープロリド；メゲステロール；ミフェプリストン；ニルタミド；クエン酸タモキシフェン；アバレリクス；プレドニゾン；フィナステリド；リロスタン；ブセレリン；黄体形成ホルモン放出ホルモン（ＬＨＲＨ）；ヒストレリン；トリロスタン又はモドラスタン；フォスレリン；ゴセレリン等のホルモン治療薬である。

【０５６２】

抗体及び／又は結合断片への付着部位を含むか、又は含むように改変され得るこれらの薬剤のいずれも、抗ケモカイン受容体ＡＤＣ、例えば抗ＣＣＲ８　ＡＤＣに含めることができる。

【０５６３】

ＣＡＲ　Ｔ細胞

第１９の態様のいくつかの第３の実施形態によれば、コンジュゲートは、ケモカイン受容体又はＣＣＲ８標的化のために操作されたＣＡＲ　Ｔ細胞コンジュゲートである。最近、ＣＡＲ　Ｔ細胞は、その臨床的成功及び迅速化されたＦＤＡ承認から注目を集めており、その全体が本明細書に組み込まれる国際公開第２０２０１０２２４０号を参照されたい。ＣＡＲ　Ｔ細胞アプローチでは、Ｔ細胞が患者の血液から採取され、次いで腫瘍細胞上に存在する抗原に特異的なＣＡＲを発現するように遺伝子操作される。次いで、これらの操作されたＴ細胞を同じ患者に再投与する。注射すると、ＣＡＲ　Ｔ細胞は、標的細胞上の標的化抗原を認識して、標的細胞死を誘導する。したがって、キメラ抗原受容体を発現するＴ細胞（ＣＡＲ　Ｔ細胞）は、腫瘍処置等の医学的使用のための新規な様式を構成する。キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）は、特定の抗原、例えば腫瘍抗原を標的とするように設計された遺伝子操作された受容体である。この標的化は、例えば、ＣＡＲを発現するＣＡＲ　Ｔ細胞が特異的腫瘍抗原を介して腫瘍を標的化し、死滅させることができるように、腫瘍に対する細胞傷害性をもたらし得る。

【０５６４】

本発明によれば、ＣＣＲ８又はケモカイン受容体認識のために提供される抗体又は抗原結合断片を使用して、それぞれのケモカイン受容体を発現するＣＣＲ８発現細胞又は細胞の特異的認識のためにＣＡＲ　Ｔ細胞を操作することができる。本発明によるＣＡＲは、ａ）標的細胞によって発現されるＣＣＲ８又はケモカイン受容体の認識及び結合のための、提供された抗ＣＣＲ８又は抗ケモカイン受容体抗体に由来する認識領域、例えば一本鎖断片可変（ｓｃＦｖ）領域と、

ｂ）ＣＡＲにおいてＴ細胞活性化シグナルとして働くことができる活性化シグナル伝達ドメイン（例えばＴ細胞のＣＤ３鎖）とを含み得る。

【０５６５】

好ましくは、本発明によるＣＡＲは、ｉｎ　ｖｉｖｏでＴ細胞の長期活性化を達成するための共刺激ドメイン（例えば、ＣＤ１３７、ＣＤ２８又はＣＤ１３４）を含む。共刺激ドメインの添加は、ＣＡＲを含有するＴ細胞のｉｎ　ｖｉｖｏ増殖及び生存を増強し、初

期の臨床データは、そのようなコンストラクトが癌等の疾患の処置における有望な治療剤であることを示している。本発明によれば、ＣＡＲ　Ｔ細胞は、標的ケモカイン受容体を発現する細胞、特にＴｒｅｇ細胞等のＣＣＲ８発現細胞の局所的又は全身的な異常な存在によって任意の疾患を処置するために使用することができる。

【０５６６】

二重特異性

第１９の態様のいくつかの第４の実施形態によれば、コンジュゲートは、二重特異性抗体又は多重特異性抗体である。いくつかの好ましい実施形態において、二重特異性抗体は少なくとも１つのＦｃドメインを含む。

【０５６７】

第１９態様のいくつかの好ましい実施形態において、二重特異性抗体の第１結合部分は、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様による抗体又は抗原結合断片である。

【０５６８】

第１９の態様の第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａにおいて、二重特異性抗体の第１結合部分は、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様による抗体又は抗原結合断片であり、二重特異性抗体の第２結合部分は、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様による同じ又は異なる抗体又は抗原結合断片である。

【０５６９】

第１９の態様の第４の実施形態のいくつかの実施形態Ｂにおいて、二重特異性抗体の第１結合部分は、ヒトＣＣＲ８に結合する第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様による抗体又は抗原結合断片であり、二重特異性抗体の第２結合部分は、異なるケモカイン受容体、例えばＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１又はＣＸＣＲ１に結合する抗体又は抗原結合断片である。例えば、二重特異性抗体の第２結合部分は、モガムリズマブ若しくはその抗原結合断片である。

【０５７０】

第１９の態様の第４の実施形態のいくつかの実施形態Ｃにおいて、二重特異性抗体の第１結合部分は、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様による抗体又は抗原結合断片であり、好ましくはＣＣＲ８に結合しており、二重特異性抗体の第２結合部分は、免疫細胞上に発現される細胞表面タンパク質等の細胞表面タンパク質又は組織型若しくは細胞型特異的抗原に結合する抗体又は抗原結合断片である。これらの実施形態のいくつかにおいて、二重特異性抗体の第２の結合部分は、抗ＰＤ１抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体又はＣＴＬＡ－４抗体等のチェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は抗原結合断片である。適切なチェックポイントタンパク質標的化抗体には、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、ドスタリマブ、又はイピリムマブが含まれる。これらの実施形態のいくつかの他の実施形態において、二重特異性抗体の第２の結合部分は、ＨＥＲ　２標的化抗体、例えばトラスツズマブ、ペルツズマブ及び／又はマルゲツキシマブである。

【０５７１】

第１９の態様の第４の実施形態のいくつかの実施形態Ｄにおいて、二重特異性抗体の第１結合部分は、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様に従う抗体又は抗原結合断片、好ましくは結合ＣＣＲ８であり、二重特異性抗体の第２結合部分は、Ｔ細胞活性化に関連する細胞表面分子に結合する抗体又は抗原結合断片であり、好ましくはＣＤ２５、ＣＴＬＡ－４、Ｐ

Ｄ－１、ＬＡＧ３、ＴＩＧＩＴ、ＩＣＯＳ及びＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバー、４－１ＢＢ、ＯＸ－４０及びＧＩＴＲから選択される。

【０５７２】

二重特異性抗体又は多重特異性抗体を作製するための技術には、異なる特異性を有する２つの免疫グロブリン重鎖－軽鎖対の組換え共発現（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ ａｎｄ Ｃｕｅｌｌｏ．“Ｈｙｂｒｉｄ ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ａｎｄ ｔｈｅｉｒ ｕｓｅ ｉｎ ｉｍｍｕｎｏｈｉｓｔｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ．”Ｎａｔｕｒｅ ３０５．５９３４（１９８３）：５３７－５４０．；ＷＯ１９９３００８８２９ Ａ１，ａｎｄ Ｔｒａｕｎｅｃｋｅｒ，Ａｎｄｒｅ，Ａｎｔｏｎｉｏ Ｌａｎｚａｖｅｃｃｈｉａ，ａｎｄ Ｋｌａｕｓ Ｋａｒｊａｌａｉｎｅｎ．“Ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ ｓｉｎｇｌｅ ｃｈａｉｎ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ（Ｊａｎｕｓｉｎｓ）ｔａｒｇｅｔ ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅｓ ｏｎ ＨＩＶ ｉｎｆｅｃｔｅｄ ｃｅｌｌｓ．”Ｔｈｅ ＥＭＢＯ Ｊｏｕｒｎａｌ １０．１２（１９９１）：３６５５－３６５９を参照）、及び２つの異なるモノクローナル抗体の化学的コンジュゲーション（Ｓｔａｅｒｚ，Ｕｗｅ Ｄ．，Ｏｓａｍｉ Ｋａｎａｇａｗａ，ａｎｄ Ｍｉｃｈａｅｌ Ｊ．Ｂｅｖａｎ．“Ｈｙｂｒｉｄ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｃａｎ ｔａｒｇｅｔ ｓｉｔｅｓ ｆｏｒ ａｔｔａｃｋ ｂｙ Ｔ ｃｅｌｌｓ．”Ｎａｔｕｒｅ ３１４．６０１２（１９８５）：６２８－６３１を参照）が含まれるが、これらに限定されない。多重特異性抗体はまた、２つ又はそれを超える抗体又は断片を架橋することによって（例えば、米国特許第４，６７６，９８０号、及びＢｒｅｎｎａｎ，Ｍａｕｒｅｅｎ，Ｐｅｔｅｒ Ｆ．Ｄａｖｉｓｏｎ，ａｎｄ Ｈｅｎｒｙ Ｐａｕｌｕｓ．“Ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ ｏｆ ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｂｙ ｃｈｅｍｉｃａｌ ｒｅｃｏｍｂｉｎａｔｉｏｎ ｏｆ ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ Ｇ１ ｆｒａｇｍｅｎｔｓ．”Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９．４７０８（１９８５）：８１－８３を参照）、二重特異性抗体を製造するためロイシンジッパーを使用することによって（例えば、Ｋｏｓｔｅｌｎｙ，Ｓｈｅｒｉ Ａ．，Ｍ．Ｓ．Ｃｏｌｅ，ａｎｄ Ｊ．Ｙｕｎ Ｔｓｏ．“Ｆｏｒｍａｔｉｏｎ ｏｆ ａ ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｂｙ ｔｈｅ ｕｓｅ ｏｆ ｌｅｕｃｉｎｅ ｚｉｐｐｅｒｓ．”Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １４８．５（１９９２）：１５４７－１５５３を参照）、二重特異性抗体断片を作製するためのダイアボディ技術を使用することによって（例えば、Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐｈｉｌｉｐｐ，Ｔｅｒｅｎｃｅ Ｐｒｏｓｐｅｒｏ，ａｎｄ Ｇｒｅｇ Ｗｉｎｔｅｒ．““Ｄｉａｂｏｄｉｅｓ”：ｓｍａｌｌ ｂｉｖａｌｅｎｔ ａｎｄ ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｆｒａｇｍｅｎｔｓ．”Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ９０．１４（１９９３）：６４４４－６４４８を参照）、単鎖Ｆｖ（ｓＦｖ）二量体を使用することによって（例えば、Ｇｒｕｂｅｒ，Ｍｅｅｇａｎ，ｅｔ ａｌ．“Ｅｆｆｉｃｉｅｎｔ ｔｕｍｏｒ ｃｅｌｌ ｌｙｓｉｓ ｍｅｄｉａｔｅｄ ｂｙ ａ ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ ｓｉｎｇｌｅ ｃｈａｉｎ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｅｘｐｒｅｓｓｅｄ ｉｎ Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ．”Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １５２．１１（１９９４）：５３６８－５３７４を参照）、記載される三重特異性抗体を調製することによって（例えば、Ｔｕｔｔ，Ａｌｉｓｏｎ，Ｇ．Ｔ．Ｓｔｅｖｅｎｓｏｎ，ａｎｄ Ｍ．Ｊ．Ｇｌｅｎｎｉｅ．“Ｔｒｉｓｐｅｃｉｆｉｃ Ｆ（ａｂ’）３ ｄｅｒｉｖａｔｉｖｅｓ ｔｈａｔ ｕｓｅ ｃｏｏｐｅｒａｔｉｖｅ ｓｉｇｎａｌｉｎｇ ｖｉａ ｔｈｅ ＴＣＲ／ＣＤ３ ｃｏｍｐｌｅｘ ａｎｄ ＣＤ２ ｔｏ ａｃｔｉｖａｔｅ ａｎｄ ｒｅｄｉｒｅｃｔ ｒｅｓｔｉｎｇ ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ Ｔ ｃｅｌｌｓ．”Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １４７．１（１９９１）：６０－６９における）、Ｌａｂｒｉｊｎ，Ａｒａｎ Ｆ．，ｅｔ ａｌ．“Ｅｆｆｉｃｉｅｎｔ ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ ｏｆ ｓｔａｂｌｅ ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ ＩｇＧ１ ｂｙ ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｆａｂ－ａｒｍ ｅｘｃｈａｎｇｅ．”Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １１０．１３（２０１３）：５１４５－５１

５０．に従って制御されたＦａｂアーム交換（ｃＦＡＥ）によって作製され得る。

【０５７３】

診断及び研究用途のためのコンジュゲート

第１９の態様のいくつかの第５の実施形態によれば、コンジュゲートは、検出可能な部分を含む。検出可能な部分の例としては、様々な酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質、生物発光物質、放射性物質、陽電子放出金属、非放射性常磁性金属イオン及び反応性部分が挙げられる。検出可能な物質は、当技術分野で公知の技術を使用して、抗体又はその断片に直接的に、又は例えば当技術分野で公知のリンカー若しくは別の部分を介して間接的にカップリング又はコンジュゲートさせることができる。酵素標識の例としては、ルシフェラーゼ（例えば、ホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ；米国特許第４，７３７，４５６号）、ルシフェリン、２，３－ジヒドロフタラジンジオン、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、ウレアーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰＯ）等のペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、アセチルコリンエステラーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、サッカリドオキシダーゼ（例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ及びグルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ）、複素環オキシダーゼ（ウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼ等）、ラクトペルオキシダーゼ、マイクロペルオキシダーゼ等が挙げられる。

【０５７４】

適切な補欠分子族複合体の例としては、ストレプトアビジン／ビオチン及びアビジン／ビオチンが挙げられる；適切な蛍光材料の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、塩化ダンシル又はフィコエリトリンが挙げられる；発光材料としては、例えば、ルミノールが挙げられる；生物発光材料の例としては、ルシフェラーゼ、ルシフェリン及びエクオリンが挙げられる；適切な放射性物質の例としては、１２５Ｉ、１３１Ｉ、１１１Ｉｎ又は９９ｍＴｃが挙げられる。

【０５７５】

ケモカイン受容体又はＣＣＲ８の発現の検出は、一般に、生物学的試料（個体の腫瘍、細胞、組織又は体液）を本発明による１つ以上の抗体又は断片（検出可能な部分にコンジュゲートされていてもよい）と接触させること、及び試料がケモカイン受容体又はＣＣＲ８に対して陽性であるかどうか、又は試料が対照試料と比較して変化した（例えば、減少又は増加）発現を有するかどうかを検出することを含む。

【０５７６】

態様２０－医薬組成物

第２０の態様によれば、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様の抗体若しくは抗原結合断片、又は第１９の態様のコンジュゲートを含む医薬組成物が提供される。好ましくは、医薬組成物は、薬学的に許容され得る担体、賦形剤又は安定剤と共に治療有効量で、本明細書に記載の実施形態のいずれか１つによる抗体若しくはその断片又はコンジュゲート、又はそれらの組み合わせを含む。

【０５７７】

医薬組成物は、所望の純度を有する抗体、断片、又はコンジュゲートを、任意の生理学的に許容され得る担体、賦形剤、又は安定剤と混合することによって調製することができる（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ，Ｊｏｓｅｐｈ Ｐｒｉｃｅ．Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ ｐｈａｒｍａｃｙ．Ｖｏｌ．１．Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ＆Ｗｉｌｋｉｎｓ，２００６．）。医薬組成物は、例えば、凍結乾燥製剤又は水溶液の形態であり得る。

【０５７８】

担体、賦形剤、安定剤

許容され得る担体、賦形剤、又は安定剤は、使用される投与量及び濃度でレシピエントに対して非毒性であり、リン酸緩衝液（例えばＰＢＳ）、クエン酸緩衝液、及び他の有機

酸緩衝液等の緩衝液；アスコルビン酸及びメチオニンを含む酸化防止剤；防腐剤（例えばオクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル又はベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えばメチル又はプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；及びｍ－クレゾール）；低分子量（例えば、約１０残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、リジン等のアミノ酸；単糖類、二糖類、及びグルコース、マンノース、又はデキストリンを含む他の炭水化物；ＥＤＴＡ等のキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトール等の糖；ナトリウム等の塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Ｚｎ－タンパク質複合体）；及び／又は非イオン性界面活性剤、例えばＴｗｅｅｎ（登録商標）、Ｐｌｕｒｏｎｉｃ（登録商標）又はポリエチレングリコール（ＰＥＧ）を含む。

【０５７９】

複数の治療活性化合物

本発明によれば、医薬組成物は、例えば処置される特定の適応症に必要又は有益であるように、２つ以上の活性化合物を含有し得る。

【０５８０】

第２０の態様のいくつかの第１の実施形態によれば、医薬組成物は、１つ以上の更なる治療活性化合物を含む。

【０５８１】

第２０の態様の第１の実施形態のいくつかの好ましい実施形態において、医薬組成物は、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様による抗体若しくは抗原結合断片、又は第１９の態様によるコンジュゲートと、

ａ）ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１又はＣＴＬＡ－４等のチェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は小分子、及び／又は

ｂ）ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体、及び／又は

ｃ）腫瘍細胞によって特異的に発現されるタンパク質を標的とする抗体、及び／又は

ｄ）ＨＥＲ２及び／又はＥＧＦＲを標的とする抗体又は小分子、及び／又は

ｅ）頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、及び／又は前立腺癌のいずれかに対する標準治療、及び／又は

ｆ）化学療法剤、好ましくはタキサン、パクリタキセル、ドキソルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、パクリタキセル若しくはゲムシタビン、及び／又は

ｇ）ソラフェニブ、レゴラフェニブ若しくはＭＥＫｉ－１等の標的化キナーゼ阻害剤と、を含む。

【０５８２】

チェックポイント阻害剤との組み合わせ

第２０の態様の第１の実施形態のいくつかの好ましい実施形態Ａによれば、医薬組成物は、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１又はＣＴＬＡ－４等のチェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は小分子を更に含む。適切なチェックポイント標的化抗体には、ニボルマブ（ＰＤ１；ヒトＩｇＧ４）、ペンブロリズマブ（ＰＤ１；ヒト化ＩｇＧ４）、アテゾリズマブ（ＰＤ－Ｌ１；ヒト化ＩｇＧ１）、アベルマブ（ＰＤ－Ｌ１；ヒトＩｇＧ１）、デュルバルマブ（ＰＤ－Ｌ１；ヒトＩｇＧ１）、セミプリマブ、セミプリマブ－ｒｗｌｃ（ＰＤ－１；ヒトｍＡｂ）、ドスタリマブ（ＴＳＲ－０４２）（ＰＤ－１；ヒト化ＩｇＧ４）、又はイピリムマブ（ＣＴＬＡ－４；ヒトＩｇＧ１）が含まれる。

【０５８３】
いくつかの実施形態において、チェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は小分子は、ＣＴＬＡ－４、ＰＤＬ１、ＰＤＬ２、ＰＤ１、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＨＶＥＭ、ＴＩＭ３、ＧＡＬ９、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＫＩＲ、２Ｂ４、ＣＤ１６０、ＣＧＥＮ－１５０４９、ＣＨＫ　１、ＣＨＫ２、Ａ２ａＲ、Ｂ－７ファミリーリガンド又はそれらの組み合わせを標的とする。
【０５８４】
ケモカイン受容体抗体との組み合わせ
第２０の態様の第１の実施形態のいくつかの好ましい実施形態Ｂによれば、医薬組成物は、ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１又はＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体又は小分子を更に含む。更なるケモカイン受容体を標的とする適切な抗体には、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様に従って提供される抗体又はモガムリズマブが含まれる。
【０５８５】
ＨＥＲ２又はＥＧＦＲ標的化抗体又は分子との組み合わせ
第２０の態様の第１の実施形態のいくつかの好ましい実施形態Ｃによれば、医薬組成物は、ＨＥＲ２及び／又はＥＧＦＲを標的とする抗体又は小分子を更に含む。ＨＥＲ２を標的とする適切な抗体は、トラスツズマブ（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１）、ペルツズマブ（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１）、Ａｄｏ－トラスツズマブエムタンシン（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１；ＡＤＣ）、［ｆａｍ－］トラスツズマブデルクテカン、ｆａｍ－トラスツズマブデルクテカン－ｎｘｋｉ（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１　ＡＤＣ）、サシツズマブゴビテカン；サクツズマブゴビテカン－ｈｚｉｙ（ＴＲＯＰ－２；ヒト化ＩｇＧ１　ＡＤＣ）及び／又はマルゲツキシマブ（ＨＥＲ２；キメラＩｇＧ１）である。ＥＧＦＲを標的とする適切な抗体は、セツキシマブ（ＥＧＦＲ；キメラＩｇＧ１）、パニツムマブ（ＥＧＦＲ；ヒトＩｇＧ２）及びネシツムマブ（ＥＧＦＲ；ヒトＩｇＧ１）である。
【０５８６】
治療用抗体との組み合わせ
第２０の態様の第１の実施形態のいくつかの実施形態Ｄによれば、医薬組成物は、ムロモナブ－ＣＤ３（ＣＤ３；マウスＩｇＧ２ａ）、エファリズマブ（ＣＤ１１ａ；ヒト化ＩｇＧ１）、トシツモマブ－Ｉ１３１（ＣＤ２０；マウスＩｇＧ２ａ）、ネバクマブ（内毒素；ヒトＩｇＭ）、エドレコロマブ（ＥｐＣＡＭ；マウスＩｇＧ２ａ）、カツマキソマブ（ＥＰＣＡＭ／ＣＤ３；ラット／マウス二重特異性ｍＡｂ）、ダクリズマブ（ＩＬ－２Ｒ；ヒト化ＩｇＧ１）、アブシキシマブ（ＧＰＩＩｂ／ＩＩＩａ；キメラＩｇＧ１　Ｆａｂ）、リツキシマブ（ＣＤ２０；キメラＩｇＧ１）、バシリキシマブ（ＩＬ－２Ｒ；キメラＩｇＧ１）、パリビズマブ（ＲＳＶ；ヒト化ＩｇＧ１）、インフリキシマブ（ＴＮＦ；キメラＩｇＧ１）、トラスツズマブ（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１）、アダリムマブ（ＴＮＦ；ヒトＩｇＧ１）、イブリツモマブチウキセタン（ＣＤ２０；マウスＩｇＧ１）、オマリズマブ（ＩｇＥ；ヒト化ＩｇＧ１）、セツキシマブ（ＥＧＦＲ；キメラＩｇＧ１）、ベバシズマブ（ＶＥＧＦ；ヒト化ＩｇＧ１）、ナタリズマブ（ａ４インテグリン；ヒト化ＩｇＧ４）、パニツムマブ（ＥＧＦＲ；ヒトＩｇＧ２）、ラニビズマブ（ＶＥＧＦ；ヒト化ＩｇＧ１　Ｆａｂ）、エクリズマブ（Ｃ５；ヒト化ＩｇＧ２／４）、セルトリズマブペゴール（ＴＮＦ；ヒト化Ｆａｂ、ペグ化）、ウステキヌマブ（ＩＬ－１２／２３；ヒトＩｇＧ１）、カナキヌマブ（ＩＬ－１β；ヒトＩｇＧ１）、ゴリムマブ（ＴＮＦ；ヒトＩｇＧ１）、オファツムマブ（ＣＤ２０；ヒトＩｇＧ１）、トシリズマブ（ＩＬ－６Ｒ；ヒト化ＩｇＧ１）、デノスマブ（ランクＬ；ヒトＩｇＧ２）、ベリムマブ（ＢＬｙＳ；ヒトＩｇＧ１）、イピリムマブ（ＣＴＬＡ－４；ヒトＩｇＧ１）、ブレンツキシマブベドチン（ＣＤ３０；キメラＩｇＧ１；ＡＤＣ）、ペルツズマブ（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１）、Ａｄｏ－トラスツズマブエムタンシン（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１；ＡＤＣ）、ラキシバクマブ

（炭疽菌（Ｂ．ａｎｔｈｒａｓｉｓ）ＰＡ；ヒトＩｇＧ１）、オビヌツズマブ（ＣＤ２０；ヒト化ＩｇＧ１糖鎖工学）、シルツキシマブ（ＩＬ－６；キメラＩｇＧ１）、ラムシルマブ（ＶＥＧＦＲ２；ヒトＩｇＧ１）、ベドリズマブ（α４β７インテグリン；ヒト化ＩｇＧ１）、ニボルマブ（ＰＤ１；ヒトＩｇＧ４）、ペンブロリズマブ（ＰＤ１；ヒト化ＩｇＧ４）、ブリナツモマブ（ＣＤ１９、ＣＤ３；マウス二重特異性タンデムｓｃＦｖ）、アレムツズマブ（ＣＤ５２；ヒト化ＩｇＧ１）、エボロクマブ（ＰＣＳＫ９；ヒトＩｇＧ２）、イダルシズマブ（ダビガトラン；ヒト化Ｆａｂ）、ネシツムマブ（ＥＧＦＲ；ヒトＩｇＧ１）、ジヌツキシマブ（ＧＤ２；キメラＩｇＧ１）、セスキヌマブ（ＩＬ－１７ａ；ヒトＩｇＧ１）、メポリズマブ（ＩＬ－５；ヒト化ＩｇＧ１）、アリロクマブ（ＰＣＳＫ９；ヒトＩｇＧ１）、ダラツムマブ（ＣＤ３８；ヒトＩｇＧ１）、エロツズマブ（ＳＬＡＭＦ７；ヒト化ＩｇＧ１）、イキセキズマブ（ＩＬ－１７ａ；ヒト化ＩｇＧ４）、レスリズマブ（ＩＬ－５；ヒト化ＩｇＧ４）、オララツズマブ（ＰＤＧＦＲα；ヒトＩｇＧ１）、ベゾトキズマブ（クロストリジウム・ディフィシル（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｄｉｆｆｉｃｉｌｅ）エンテロトキシンＢ；ヒトＩｇＧ１）、アテゾリズマブ（ＰＤ－Ｌ１；ヒト化ＩｇＧ１）、オビルトキサキシマブ（炭疽菌（Ｂ．ａｎｔｈｒａｓｉｓ）ＰＡ；キメラＩｇＧ１）、ブロダルマブ（ＩＬ－１７Ｒ；ヒトＩｇＧ２）、デュピルマブ（ＩＬ－４Ｒ α；ヒトＩｇＧ４）、イノツズマブオゾガマイシン（ＣＤ２２；ヒト化ＩｇＧ４；ＡＤＣ）、グセルクマブ（ＩＬ－２３ｐ１９；ヒトＩｇＧ１）、サリルマブ（ＩＬ－６Ｒ；ヒトＩｇＧ１）、アベルマブ（ＰＤ－Ｌ１；ヒトＩｇＧ１）、エミシズマブ（第Ｉｘａ因子、Ｘ；ヒト化ＩｇＧ４、二重特異性）、オクレリズマブ（ＣＤ２０；ヒト化ＩｇＧ１）、ベンラリズマブ（ＩＬ－５Ｒ α；ヒト化ＩｇＧ１）、デュルバルマブ（ＰＤ－Ｌ１；ヒトＩｇＧ１）、ゲムツズマブオゾガマイシン（ＣＤ３３；ヒト化ＩｇＧ４；ＡＤＣ）、エレヌマブ、エレヌマブ－ａｏｏｅ（ＣＧＲＰ受容体；ヒトＩｇＧ２）、ガルカネズマブ、ガルカネズマブ－ｇｎｌｍ（ＣＧＲＰ；ヒト化ＩｇＧ４）、ブロスマブ、ブロスマブ－ｔｗｚａ（ＦＧＦ２３；ヒトＩｇＧ１）、ラナデルマブ、ラナデルマブ－ｆｌｙｏ（血漿カリクレリン；ヒトＩｇＧ１）、モガムリズマブ、モガムリズマブ－ｋｐｋｃ（ＣＣＲ４；ヒト化ＩｇＧ１）、チルドラキズマブ；チルドラキズマブ－ａｓｍｎ（ＩＬ－２３ｐ１９；ヒト化ＩｇＧ１）、フロメネズマブ、フロメネズマブ－ｖｆｒｍ（ＣＧＲＰ；ヒト化ＩｇＧ２）、ラブリズマブ、ラブリズマブ－ｃｗｖｚ（Ｃ５；ヒト化ＩｇＧ２／４）、セミプリマブ、セミプリマブ－ｒｗｌｃ（ＰＤ－１；ヒトｍＡｂ）、イバリズマブ、イバリズマブ－ｕｉｙｋ（ＣＤ４；ヒト化ＩｇＧ４）、エマパルマブ、エマパルマブ－ｌｚｓｇ（ＩＦＮｇ；ヒトＩｇＧ１）、モキセツモマブ・パスドトックス（Ｍｏｘｅｔｕｍｏｍａｂ ｐａｓｕｄｏｔｏｘ）、モキセツモマブ・パスドトック（ｍｏｘｅｔｕｍｏｍａｂ ｐａｓｕｄｏｔｏｘ）－ｔｄｆｋ（ＣＤ２２；マウスＩｇＧ１ ｄｓＦｖ免疫毒素）、カプラシズマブ、カプラシズマブ－ｙｈｄｐ（フォン・ヴィレブランド因子；ヒト化ナノボディ）、リサンキズマブ、リサンキズマブ－ｒｚａａ（ＩＬ－２３ｐ１９；ヒト化ＩｇＧ１）、ポラツズマブベドチン、ポラツズマブベドチン－ｐｉｉｑ（ＣＤ７９ｂ；ヒト化ＩｇＧ１ ＡＤＣ）、ロモソズマブ、ロモソズマブ水溶液（スクレロスチン；ヒト化ＩｇＧ２）、ブロルシズマブ、ブロルシズマブ－ｄｂｌｌ（ＶＥＧＦ－Ａ；ヒト化ｓｃＦｖ）、クリザンリズマブ；クリザンリズマブ－ｔｍｃａ（ＣＤ６２（ａｋａ Ｐ－セレクチン）；ヒト化ＩｇＧ２）、エンホルツマブベドチン、エンホルツマブベドチン－ｅｊｆｖ（ネクチン－４；ヒトＩｇＧ１ ＡＤＣ）、［ｆａｍ－］トラスツズマブデルクテカン、ｆａｍ－トラスツズマブデルクテカン－ｎｘｋｉ（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１ ＡＤＣ）、テプロツムマブ、テプロツムマブ－ｔｒｂｗ（ＩＧＦ－１Ｒ；ヒトＩｇＧ１）、エプチンズマブ、エプチンズマブ－ｊｊｍｒ（ＣＧＲＰ；ヒト化ＩｇＧ１）、イサツキシマブ、イサツキシマブ－ｉｒｆｃ（ＣＤ３８；キメラＩｇＧ１）、サシツズマブゴビテカン；サクツズマブゴビテカン－ｈｚｉｙ（ＴＲＯＰ－２；ヒト化ＩｇＧ１ ＡＤＣ）、イネビリズマブ（ＣＤ１９；ヒト化ＩｇＧ１）、レロンリマブ（ＣＣＲ５；ヒト化ＩｇＧ４）、サトラリズマブ（ＩＬ－６Ｒ；ヒト化ＩｇＧ２）、ナルソプリマブ（ＭＡＳＰ－２、ヒトＩｇＧ４）、タファシタマブ（ＣＤ１９；ヒト化ＩｇＧ１）、ＲＥＧＮＥＢ３（エボラウイルス

；３つのヒトＩｇＧ１の混合物）、ナキシタマブ（ＧＤ２；ヒト化ＩｇＧ１）、オポルツズマブ・モナトックス（ＥｐＣＡＭ；ヒト化ｓｃＦｖ免疫毒素）、ベランタマブ・マホドチン（Ｂ細胞成熟抗原；ヒト化ＩｇＧ１　ＡＤＣ）、マルゲツキシマブ（ＨＥＲ２；キメラＩｇＧ１）、タンツズマブ（神経成長因子；ヒト化ＩｇＧ２）、ドスタリマブ（ＴＳＲ－０４２）（ＰＤ－１；ヒト化ＩｇＧ４）、テプリズマブ（ＣＤ３；ヒト化ＩｇＧ１）、アデュカヌマブ（アミロイドβ；ヒトＩｇＧ１）、スチムリマブ（ＢＩＶＶ００９）（Ｃ１ｓ；ヒト化ＩｇＧ４）、エビナクマブ（アンジオポエチン様３；ヒトＩｇＧ４）から選択される更なる治療用抗体を含む。

【０５８７】

細胞傷害剤又は細胞増殖抑制剤との組み合わせ

第２０の態様の第１の実施形態のいくつかの実施形態Ｅによれば、医薬組成物は、第１９の態様の第２の実施形態に従って記載されるように、放射性核種、アルキル化剤、ＤＮＡ架橋剤、ＤＮＡインターカレート剤（例えば、溝結合剤、例えば小溝結合剤）、細胞周期調節剤、アポトーシス調節剤、キナーゼ阻害剤、タンパク質合成阻害剤、ミトコンドリア阻害剤、核外輸送阻害剤、トポイソメラーゼＩ阻害剤、トポイソメラーゼＩＩ阻害剤、ＲＮＡ／ＤＮＡ代謝拮抗剤及び有糸分裂阻害剤から選択される細胞増殖抑制剤及び／又は細胞傷害剤を更に含む。

【０５８８】

いくつかの好ましい実施形態において、細胞傷害剤は、オーリスタチン、メイタンシノイド、キネシンスピンドルタンパク質（ＫＳＰ）阻害剤、ニコチンアミドホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＮＡＭＰＴ）阻害剤又はピロロベンゾジアゼピン誘導体である。

【０５８９】

態様２１－医療用途／処置方法

第２１の態様によれば、医薬として使用するための、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様に記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は第１９の態様に記載のコンジュゲート又は第２０の態様に記載の医薬組成物が提供される。

【０５９０】

また、例えば腫瘍又はケモカイン受容体、特にＣＣＲ８を発現する細胞が関与する疾患の処置のための医薬品の製造のための、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様に記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は第１９の態様に記載のコンジュゲート若しくは第２０の態様に記載の医薬組成物の使用が提供される。

【０５９１】

さらに、疾患を処置する方法が提供され、該方法は、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様に記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は第１９の態様に記載のコンジュゲート若しくは第２０の態様に記載の医薬組成物の有効量を、それを必要とする患者に投与することを含む。

【０５９２】

治療適用のために、本発明による抗体若しくは抗原結合断片又はコンジュゲート又は医薬組成物は、薬学的に許容され得る剤形で患者又は対象、例えばヒト又は非ヒト対象に投与することができる。例えば、投与は、ボーラスとして静脈内に、又は一定期間にわたる連続注入によって、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、滑液嚢内、髄腔内、経口、局所、若しくは吸入経路によって行われ得る。本発明による抗体、断片、コンジュゲート及び医薬組成物は、局所並びに全身治療効果を発揮するために、腫瘍内、腫瘍周囲、病変内又は病変周囲経路によって投与されるのに特に適している。

【０５９３】

可能な投与経路としては、非経口（例えば、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下）、肺内及び鼻腔内が挙げられる。さらに、抗体、断片、コンジュゲート及び医薬組成

物は、パルス注入によって、例えば、抗体、断片又はコンジュゲートの用量を減少させて投与され得る。好ましくは、投与は、投与が短時間であるか慢性であるかに部分的に依存して、注射、最も好ましくは静脈内又は皮下注射によって与えられる。投与される量は、臨床症状、患者又は対象の体重、及び他の薬物が投与されるかどうか等の様々な要因に依存し得る。当業者は、投与経路が処置される障害又は状態に応じて変化することを認識するであろう。

【０５９４】

抗体の投与頻度は、３～６ヶ月に１回～毎週、隔週（ＢＩＷ）又は毎日の投与の範囲であり得る。同様に、用量レベルは、低ｍｇ固定用量（抗体に応じて毎日、毎週、隔週又は毎月）からおよそ１ｇ用量までの範囲である。投与頻度は、標的の濃度及び代謝回転速度、標的の生体内分布、抗体、断片又はコンジュゲートの半減期、及び抗体、断片、コンジュゲート及び医薬組成物の生物学的効果を薬理学的に関連するレベルでの存在を超えて増強し得る潜在的な薬力学的効果を含む様々な因子に依存する。

【０５９５】

いくつかの実施形態において、抗ＣＣＲ８抗体は、１ｍｇ／ｋｇの用量で、例えば、毎日、毎週、ｑ２ｗ、ｑ３ｗ又はｑ４ｗで投与される。いくつかの実施形態において、抗ＣＣＲ８抗体は、１～３０ｍｇ／ｋｇ、好ましくは５～１０ｍｇ／ｋｇの用量で、例えば毎日、毎週、ｑ２ｗ、ｑ３ｗ又はｑ４ｗで投与される。いくつかの実施形態において、抗ＣＣＲ８抗体は、４～８ｍｇ／ｋｇ、好ましくは５～６ｍｇ／ｋｇの用量で、例えば毎日、毎週、ｑ２ｗ、ｑ３ｗ又はｑ４ｗで投与される。

【０５９６】

疾患の予防又は処置のために、抗体の適切な投与量は、処置される疾患の種類、疾患の重症度及び経過、抗体が予防目的で投与されるか治療目的で投与されるか、以前の治療、対象の臨床歴及び抗体変異体に対する応答、並びに主治医又は健康獣医学専門家の裁量に依存する。抗体は、一度に又は一連の処置にわたって対象に適切に投与される。

【０５９７】

実施例１２．４．２に示すように、驚くべきことに、実質的な処置応答を確立するには単回用量でも十分であり得ることが観察された。したがって、本発明によれば、腫瘍の処置に使用するためのＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰを誘導する抗ＣＣＲ８抗体であって、同じ又は異なる抗ＣＣＲ８抗体の更なる用量が対象に投与されないように、単回用量の抗ＣＣＲ８抗体のみが対象に投与される抗ＣＣＲ８抗体が提供される。そのような方法は、患者にとって事業計画的に優れ、特に便利であるだけでなく、患者のコンプライアンスの問題も回避する。

【０５９８】

静脈内投与する場合、抗体、断片又はコンジュゲートを含む医薬組成物は、約０．５～約５時間かけて注入によって投与することができる。いくつかの実施形態において、注入は、投与される抗体、断片、コンジュゲート及び医薬組成物並びに投与される抗体、断片又はコンジュゲートの量に応じて、約０．５～約２．５時間にわたって、約０．５～約２．０時間にわたって、約０．５～約１．５時間にわたって、又は約１．５時間にわたって行われ得る。

【０５９９】

態様２２－第２の医学用途／処置方法

本発明による抗ＣＣＲ８抗体による処置は、様々な同系腫瘍モデルにおいて顕著な有効性を示した。いくつかの場合、疾患対象の群への有効量の抗体又は抗原結合断片の投与は、

ａ．対象の少なくとも１５％、２０％又は２５％における完全奏効、及び／又は

ｂ．対象の少なくとも４０％、５０％、６０％又は７０％における全奏効率をもたらす。

【０６００】

第２２の態様によれば、腫瘍又はケモカイン受容体陽性細胞、好ましくはＣＣＲ８陽性

細胞、例えばＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞によって特徴付けられる疾患の処置に使用するための、第６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７及び／又は１８の態様に記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は第１９の態様に記載のコンジュゲート又は第２０の態様に記載の医薬組成物が提供される。処置は、態様２１について論じたように行うことができる。

【０６０１】

好ましくは、標的化された７回膜貫通受容体又はケモカイン受容体を発現する細胞の関与によって特徴付けられる腫瘍又は疾患の処置において使用するための、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様に記載の抗体又は抗原結合断片、あるいは第１９の態様に記載のコンジュゲート又は第２０の態様に記載の医薬組成物が提供される。

【０６０２】

本発明による抗体、抗原結合断片又はコンジュゲートについて、複数の作用様式が想定され得る。作用様式の１つは、抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）の形態の薬物への本発明の抗ケモカイン受容体抗体のコンジュゲーションである。別の作用様式は、ケモカイン受容体を標的とする抗体がＡＤＣＣを誘導する能力である。第３の作用様式は、抗体標的化ケモカイン受容体がＡＤＣＰを誘導する能力にある。

【０６０３】

特に第８、第１１、第１２、第１３及び第１４の態様による特異的ＣＣＲ８抗体又は抗原結合断片は、例えばそれらが特に低い内在化を特徴とするか、又は非内在化抗体であり、それによってＣＣＲ８発現標的細胞の表面に存在し、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ（例１０．３．３ｆｆ、例１０．３．４ｆｆ）又はｉｎ　ｖｉｖｏ（実施例１２ｆｆ）で活性化ヒトＴｒｅｇについて実証されるようにそれらの効率的な死滅を引き起こすので、ＡＤＣＣ／ＡＤＣＰベースのアプローチに特に適している。

【０６０４】

制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）は、腫瘍微小環境における腫瘍応答性Ｔ細胞を含むエフェクターＴ細胞の機能を抑制することによって腫瘍増殖を促進する。実際、Ｔｒｅｇは、多くの適応症において免疫チェックポイント阻害剤（ＩＣＩ）の有効性を妨げる重要な耐性機構の１つである。

【０６０５】

ＣＣＲ８は、ケモカイン受容体のＧＰＣＲファミリーの表面受容体であり、腫瘍に頻繁に見られる活性化免疫抑制Ｔｒｅｇ上に主に発現される。これらの抑制性Ｔ細胞に対する他のアプローチとは異なり、ＣＣＲ８を標的化することは、静止期Ｔｒｅｇ又は他の免疫細胞に全身的に影響を与えることなく腫瘍内Ｔｒｅｇを枯渇させる機会を提供する。したがって、ＣＣＲ８を標的化することは、有効性及び安全性の両方の点で優れている可能性がある。したがって、この作用様式は、腫瘍内Ｔｒｅｇを有する腫瘍において使用することができるが、活性化Ｔｒｅｇ、すなわちＣＣＲ８発現Ｔｒｅｇの異常な存在を特徴とする他の疾患においても使用することができる。

【０６０６】

具体的な適応症

原則として、抗体、断片、コンジュゲート及び医薬組成物は、ＣＣＲ８発現細胞が関与する任意の癌の処置に使用することができる。例えば、癌は、ＣＣＲ８を発現する腫瘍細胞、例えばＢ細胞リンパ腫及びＴ細胞リンパ腫を含み得る。あるいは、癌は、ＣＣＲ８を発現する腫瘍内Ｔｒｅｇを含み得る。実施例１１に示すように、ＣＣＲ８は、Ｔ細胞急性リンパ芽球性白血病、乳癌、トリプルネガティブ乳癌、トリプルポジティブ乳癌、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、小細胞肺癌（ＳＣＬＣ）、精巣癌、胃癌、頭頸部扁平上皮癌、胸腺腫、食道腺癌、結腸直腸癌、膵臓腺癌、卵巣癌又は子宮頸癌、急性骨髄性白血病、腎臓癌、膀胱癌、皮膚癌、黒色腫、甲状腺癌、中皮腫、肉腫及び前立腺癌等のいくつかの腫瘍適応症で上方制御される。いくつかの好ましい実施形態によれば、医薬としての使用は、頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、及び／

又は前立腺癌の処置における使用である。

【０６０７】

第２２の態様によるいくつかの第１の実施形態によれば、腫瘍は、副腎癌（例えば、副腎皮質癌又は褐色細胞腫）、膀胱癌（例えば移行上皮癌、移行上皮癌乳頭状）、脳癌（例えば、神経膠腫－星細胞腫、神経膠腫－星細胞腫－神経膠芽腫、神経膠腫－乏突起星細胞腫、神経膠腫－乏突起膠腫）、乳癌（例えば、ＡＤＣ、ＡＤＣ－乳管、ＡＤＣ－乳管－ＴＮＢＣ、ＡＤＣ－乳管－ＴＰＢＣ、ＡＤＣ－小葉）、結腸直腸癌（例えばＡＤＣ）、食道癌（例えばＡＤＣ）、食道癌（例えば、ＳＣＣ）、胃癌（例えば、ＡＤＣ、ＡＤＣ－びまん性、ＡＤＣ－腸、ＡＤＣ－腸－尿細管）、頭頸部癌（例えば、喉頭癌－ＳＣＣ、ＳＣＣ、口腔癌－ＳＣＣ）、腎臓がん（例えば、ｃｃＲＣＣ、色素嫌性、乳頭状、乳頭状Ｉ型、乳頭状ＩＩ型）、肝臓癌（例えば、ＨＣＣ）、肺癌（例えば、ＮＳＣＬＣ－ＡＤＣ、ＮＳＣＬＣ－ＡＤＣ混合、ＮＳＣＬＣ－ＳＣＣ、ＳＣＬＣ）、中皮腫（例えば上皮様）、卵巣癌（例えば、ＡＤＣ－嚢胞腺癌－乳頭状漿液性）、膵臓癌（例えばＡＤＣ－導管）、前立腺癌（例えば、ＡＤＣ－Ａｃｉｎａｒタイプ）、肉腫（例えば、平滑筋肉腫、脱分化型脂肪肉腫、悪性線維性組織球腫）、皮膚癌（例えば黒色腫）、精巣癌（例えば、生殖細胞腫瘍－セミノーマ）、胸腺腫、甲状腺癌（例えば、濾胞状癌、乳頭状癌－古典的変異体）、又は子宮癌（例えば、子宮ＳＣＣ、子宮頸癌－ＳＣＣ－ケラチン化、子宮頸癌－ＳＣＣ－非ケラチン化、子宮内膜－ＡＤＣ－子宮内膜様腺、子宮内膜－ＡＤＣ－乳頭漿液性、子宮内膜－癌肉腫－悪性混合型ミュラー管腫瘍）、Ｂ細胞リンパ腫及びＴ細胞リンパ腫から選択される（表１１．１．２を参照）。

【０６０８】

第２２の態様によるいくつかの第２の実施形態によれば、腫瘍は、Ｔ細胞急性リンパ芽球性白血病、乳癌、トリプルネガティブ乳癌、トリプルポジティブ乳癌、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、小細胞肺癌（ＳＣＬＣ）、精巣癌、胃癌、頭頸部扁平上皮癌、胸腺腫、食道腺癌、結腸直腸癌、膵臓腺癌、卵巣癌又は子宮頸癌、急性骨髄性白血病、腎臓癌、膀胱癌、皮膚癌、皮膚癌、黒色腫、甲状腺癌、中皮腫、肉腫及び前立腺癌、又はケケモカイン受容体若しくはＣＣＲ８発現細胞を含む任意の他の癌から選択される。好ましくは、腫瘍は、頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、及び／又は前立腺癌から選択される。

【０６０９】

併用処置

第２２の態様による第１及び／又は第２の実施形態の実施形態と組み合わせることができ、組み合わせるように示唆され得る、第２２の態様によるいくつかの第３の実施形態によれば、使用は、１つ以上の更なる治療活性化合物との同時、別々、又は逐次の組み合わせにおける使用である。併用処置の例は、実施例１２．６、１２．６．１、１２．６．２、１２．６．３、１２．６．４、１２．６．５、１２．６．６、１２．６．７、１２．６．８及び１２．６．９に提供されており、本発明による抗ＣＣＲ８抗体及び一般に併用処置における抗ＣＣＲ８抗体の広い適用性を実証している。

【０６１０】

抗ケモカイン受容体抗体、例えばＣＣＲ８抗体、又はＡＤＣは、抗癌特性を有する他の薬剤又は処置に補助的に、又はそれと共に使用することができる。補助的に使用される場合、抗体、断片又はコンジュゲート及び（１又は複数の）他の薬剤は、第２０の態様について記載されるように、単一の組み合わせ医薬組成物又は製剤で一緒に製剤化されてもよく、又は好ましくは、単一の協調投与レジメン又は異なる投与レジメンのいずれかで別々に製剤化され、投与されてもよい。

【０６１１】

逐次投与：抗ＣＣＲ８抗体処置後の併用パートナー

本発明によれば、第１の薬剤としての抗ＣＣＲ８抗体の投与及びその後の１つ以上の更なる治療活性化合物の投与は、予想外の方法で有効性を増加させることが見出された。

【０６１２】

好ましい処置スキームによれば、処置は、抗ＣＣＲ８抗体（例えば、上記のように毎日、毎週、ｑ２ｗ、ｑ３ｗ又はｑ４ｗ）の投与から開始され、１つ以上の更なる治療活性化合物の投与がその後に続いてもよい。実施例１２．６ｆｆに記載されているように。抗ＣＣＲ８抗体の初回用量の後に第２の治療薬又は治療法の投与を開始することは、更に改善された有効性に関連していた。理論に拘束されるものではないが、初期用量間の時間は、少なくとも３０％、４０％、５０％、又は６０％の腫瘍内Ｔｒｅｇ枯渇を可能にするように選択されるべきである。１つ以上の更なる治療活性化合物又は組み合わせパートナーは、この目的のために本明細書に記載されるもののいずれかであることが示唆される。例えば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、チェックポイント阻害剤（例えば、抗ＰＤ１／抗ＰＤ－Ｌ１／抗ＣＴＬＡ４抗体）、腫瘍細胞によって特異的に発現されるタンパク質を標的とする抗体、又は本明細書に記載の化学療法剤を含み得る。

【０６１３】

異なる実施形態において、処置は化学療法剤の投与から開始し、その後抗ＣＣＲ８抗体（例えば、毎週又は隔週のスケジュール）の投与が続く。

【０６１４】

併用処置のための更なる治療活性化合物

抗ケモカイン受容体抗体又はＡＤＣ、例えば抗ＣＣＲ８抗体又はＡＤＣと共に補助的に投与される薬剤は、抗体／ＡＤＣ及び他の薬剤が互いに悪影響を及ぼさないように、抗ケモカイン受容体抗体又はＡＤＣに対する相補的活性を有し得る。本発明による抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８抗体又はＡＤＣと補助的に使用され得る薬剤は、アルキル化剤、血管新生阻害剤、抗体、代謝拮抗剤、抗有糸分裂阻害剤、抗増殖剤、抗ウイルス剤、オーロラキナーゼ阻害剤、アポトーシス促進剤（例えば、Ｂｃｌ－２ファミリー阻害剤）、細胞死受容体経路の活性化剤、Ｂｃｒ－Ａｂｌキナーゼ阻害剤、ＢｉＴＥ（二重特異性Ｔ細胞エンゲージャー）抗体、抗体薬物コンジュゲート、生物学的応答修飾剤、サイクリン依存性キナーゼ阻害剤、細胞周期阻害剤、シクロオキシゲナーゼ－２阻害剤、ＤＶＤ、白血病ウイルス癌遺伝子ホモログ（ＥｒｂＢ２）受容体阻害剤、成長因子阻害剤、熱ショックタンパク質（ＨＳＰ）－９０阻害剤、ヒストンデアセチラーゼ（ＨＤＡＣ）阻害剤、ホルモン療法、免疫学的物質、アポトーシスタンパク質の阻害剤（ＩＡＰ）の阻害剤、挿入抗生物質、キナーゼ阻害剤、キネシン阻害剤、Ｊａｋ２阻害剤、ラパマイシン阻害剤の哺乳動物標的、マイクロＲＮＡ、マイトジェン活性化細胞外シグナル調節キナーゼ阻害剤、多価結合タンパク質、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、ポリＡＤＰ（アデノシン二リン酸）－リボースポリメラーゼ（ＰＡＲＰ）阻害剤、白金化学療法剤、ポロ様キナーゼ（Ｐｌｋ）阻害剤、ホスホイノシチド－３キナーゼ（ＰＩ３Ｋ）阻害剤、プロテアソーム阻害剤、プリン類縁体、ピリミジン類縁体、受容体チロシンキナーゼ阻害剤、レチノイド／三角類植物アルカロイド、低分子阻害性リボ核酸（ｓｉＲＮＡ）、トポイソメラーゼ阻害剤、ユビキチンリガーゼ阻害剤等、並びにこれらの薬剤の１つ以上の組み合わせであり得る。

【０６１５】

第２２の態様の第３の実施形態のいくつかの非常に好ましい実施形態によれば、以下と同時、別々又は逐次の組み合わせで使用するための、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８態様による抗体若しくは抗原結合断片、又は第１９態様によるコンジュゲート若しくは第２０態様による医薬組成物が提供される：

（ｉ）好ましくは、

ａ）ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１又はＣＴＬＡ－４等のチェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は小分子、

ｂ）ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体、

ｃ）腫瘍細胞によって特異的に発現されるタンパク質を標的とする抗体、
ｄ）ＨＥＲ２及び／又はＥＧＦＲを標的とする抗体又は小分子、
ｅ）頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、及び／又は前立腺癌のいずれかに対する標準治療、及び／又は
ｆ）化学療法剤、好ましくはタキサン、パクリタキセル、ドキソルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン若しくはゲムシタビン、
ｇ）ソラフェニブ、レゴラフェニブ若しくはＭＥＫｉ－１等の標的化キナーゼ阻害剤から選択される１つ以上の治療活性化合物、及び／又は
（ｉｉ）放射線療法、及び／又は
（ｉｉｉ）腫瘍内Ｂ細胞の枯渇
（例えば、腫瘍又は疾患の処置において、好ましくはケモカイン受容体陽性細胞、例えばＣＣＲ８陽性細胞、例えばＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞によって特徴付けられる）。

【０６１６】
適切なタキサンは、例えばパクリタキセル、アブラキサン、カバジタキセル、若しくはドセタキセル、又はそれらの誘導体から選択され得る。

【０６１７】
抗ＣＣＲ８抗体がドキソルビシン、タキサン、シスプラチン又はカルボプラチンと組み合わされる実施形態、抗ＣＣＲ８抗体がトラスツズマブ又はペルツズマブと組み合わされる実施形態、及び抗ＣＣＲ８抗体がＰＤ－Ｌ１抗体、例えばアテゾリズマブと組み合わされる実施形態は、ステージＩＶ乳癌等の乳癌の処置に特に適している。

【０６１８】
抗ＣＣＲ８抗体がシス－／カルボプラチン、パクリタキセル、ドセタキセル又はゲムシタビンと組み合わされる実施形態、抗ＣＣＲ８抗体がアバスチン、ＥＧＦＲ阻害剤（タルセバ又はイレッサ等）、ＡＬＫ阻害剤、ＲＯＳ阻害剤、ＢＲＡＦ阻害剤又はＮＴＲＫ阻害剤と組み合わされる実施形態、及び抗ＣＣＲ８抗体がニボルマブ、ペンブロリズマブ若しくはアテゾリズマブ、又はこれらのいずれかの誘導体と組み合わされる実施形態は、ＮＳＣＬＣの処置に特に適している。

【０６１９】
抗ＣＣＲ８抗体がニボルマブ、ペンブロリズマブ若しくはイピリムマブ（ＣＴＬＡ４）、抗ＩＬ２抗体又はこれらのいずれかの誘導体と組み合わされる実施形態、抗ＣＣＲ８抗体がＢＲＡＦ阻害剤又はＭＥＫ阻害剤と組み合わされる実施形態、及び抗ＣＣＲ８抗体がダルカバジン、パクリタキセル、カルボプラチン又はシスプラチンと組み合わされる実施形態は、黒色腫の処置に特に適している。

【０６２０】
チェックポイント阻害剤との組み合わせ
腫瘍が免疫チェックポイント阻害に応答性であった場合、又は腫瘍が高い若しくは中程度の免疫浸潤を示した場合、及び相当数のＣＤ８＋Ｔ細胞及び／又はＮＫ細胞が存在するか、又は例えば高いＣＣＲ８／ＦｏｘＰ３比（実施例１２．６ｆｆを参照、応答性同系モデルを参照）に加えて誘導され得る場合、腫瘍は抗ＣＣＲ８抗体療法に特に応答性であることが分かった。

【０６２１】
第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの特に好ましい実施形態Ａによれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１又はＣＴＬＡ－４等のチェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は小分子を含む。適切なチェックポイント標的化抗体には、ニボルマブ（ＰＤ１；ヒトＩｇＧ４）、ペンブロリズマブ（ＰＤ１；ヒト化ＩｇＧ４）、アテゾリズマブ（ＰＤ－Ｌ１；ヒト化ＩｇＧ１）、アベルマブ（ＰＤ－Ｌ１；ヒトＩｇＧ１）、デュルバルマブ（ＰＤ－Ｌ１；ヒトＩｇＧ１）、セミプリマブ、セミプリマブ－ｒｗｌｃ（ＰＤ－１；ヒトｍＡｂ）、ドスタリマブ（ＴＳＲ－０４２）（ＰＤ－１；ヒト化ＩｇＧ４）、又はイピリムマブ（ＣＴＬＡ－４；ヒトＩｇＧ１）が含まれる。いくつかの実施形態において、チェックポイントタンパク質を標的化する抗体又は小分子は

、ＣＴＬＡ－４、ＰＤＬ１、ＰＤＬ２、ＰＤ１、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＨＶＥＭ、ＴＩＭ３、ＧＡＬ９、ＬＡＧ３、ＶＩＳＴＡ、ＫＩＲ、２Ｂ４、ＣＤ１６０、ＣＧＥＮ－１５０４９、ＣＨＫ１、ＣＨＫ２、Ａ２ａＲ、Ｂ－７ファミリーリガンド又はそれらの組み合わせであり得るチェックポイントタンパク質を標的化及び／又は阻害する。

【０６２２】

実施例１２．６ｆｆ。チェックポイントタンパク質ＰＤ－Ｌ１を標的とする抗体と、第６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７及び／又は１８の態様による本発明の抗体との組み合わせによって得られる優れた治療効果を示す。実施例１２．６ｆｆは、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様による本発明の抗体と、抗体標的化チェックポイントタンパク質ＣＴＬＡ４との組み合わせが、腫瘍モデルにおいて同様に優れた有効性を示したことを実証する。

【０６２３】

ケモカイン受容体抗体との組み合わせ

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの好ましい実施形態Ｂによれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１又はＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体を含む。更なるケモカイン受容体を標的とする適切な抗体には、第６の態様に従って提供される抗体、例えばＣＣＲ５抗体、ＣＸＣＲ５抗体、ＣＣＲ４抗体、又はモガムリズマブが含まれる。

【０６２４】

ＨＥＲ２又はＥＧＦＲ標的化抗体又は分子との組み合わせ

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの好ましい実施形態Ｃによれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、ＨＥＲ２及び／又はＥＧＦＲを標的とする小分子又は抗体を含む。ＨＥＲ２を標的とする適切な抗体は、トラスツズマブ（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１）、ペルツズマブ（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１）、Ａｄｏ－トラスツズマブエムタンシン（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１；ＡＤＣ）、［ｆａｍ－］トラスツズマブデルクテカン、ｆａｍ－トラスツズマブデルクテカン－ｎｘｋｉ（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１　ＡＤＣ）、サシツズマブゴビテカン；サクツズマブゴビテカン－ｈｚｉｙ（ＴＲＯＰ－２；ヒト化ＩｇＧ１　ＡＤＣ）及び／又はマルゲツキシマブ（ＨＥＲ２；キメラＩｇＧ１）である。

【０６２５】

ＥＧＦＲを標的とする適切な抗体は、セツキシマブ（ＥＧＦＲ；キメラＩｇＧ１）、パニツムマブ（ＥＧＦＲ；ヒトＩｇＧ２）及びネシツムマブ（ＥＧＦＲ；ヒトＩｇＧ１）である。

【０６２６】

治療用抗体との組み合わせ

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｄによれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、ムロモナブ－ＣＤ３（ＣＤ３；マウスＩｇＧ２ａ）、エファリズマブ（ＣＤ１１ａ；ヒト化ＩｇＧ１）、トシツモマブ－Ｉ１３１（ＣＤ２０；マウスＩｇＧ２ａ）、ネバクマブ（内毒素；ヒトＩｇＭ）、エドレコロマブ（ＥｐＣＡＭ；マウスＩｇＧ２ａ）、カツマキソマブ（ＥＰＣＡＭ／ＣＤ３；ラット／マウス二重特異性ｍＡｂ）、ダクリズマブ（ＩＬ－２Ｒ；ヒト化ＩｇＧ１）、アブシキシマブ（ＧＰＩＩｂ／ＩＩＩａ；キメラＩｇＧ１　Ｆａｂ）、リツキシマブ（ＣＤ２０；キメラＩｇＧ１）、バシリキシマブ（ＩＬ－２Ｒ；キメラＩｇＧ１）、パリビズマブ（ＲＳＶ；ヒト化ＩｇＧ１）、インフリキシマブ（ＴＮＦ；キメラＩｇＧ１）、トラスツズマブ（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１）、アダリムマブ（ＴＮＦ；ヒトＩｇＧ１）、イブリツモマブチウキセタン（ＣＤ２０；マウスＩｇＧ１）、オマリズマブ（ＩｇＥ；ヒト化ＩｇＧ１）、セツキシマブ（ＥＧＦＲ；キメラＩｇＧ１）、ベバシズマブ（ＶＥＧＦ；ヒト化ＩｇＧ１）、ナタリズマブ（ａ４インテグリン；ヒト化ＩｇＧ４）、パニツムマブ（ＥＧＦＲ；ヒトＩｇＧ２）、ラニビズ

マブ（ＶＥＧＦ；ヒト化ＩｇＧ１　Ｆａｂ）、エクリズマブ（Ｃ５；ヒト化ＩｇＧ２／４）、セルトリズマブペゴール（ＴＮＦ；ヒト化Ｆａｂ、ペグ化）、ウステキヌマブ（ＩＬ－１２／２３；ヒトＩｇＧ１）、カナキヌマブ（ＩＬ－１β；ヒトＩｇＧ１）、ゴリムマブ（ＴＮＦ；ヒトＩｇＧ１）、オファツムマブ（ＣＤ２０；ヒトＩｇＧ１）、トシリズマブ（ＩＬ－６Ｒ；ヒト化ＩｇＧ１）、デノスマブ（ランクＬ；ヒトＩｇＧ２）、ベリムマブ（ＢＬｙＳ；ヒトＩｇＧ１）、イピリムマブ（ＣＴＬＡ－４；ヒトＩｇＧ１）、ブレンツキシマブベドチン（ＣＤ３０；キメラＩｇＧ１；ＡＤＣ）、ペルツズマブ（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１）、Ａｄｏ－トラスツズマブエムタンシン（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１；ＡＤＣ）、ラキシバクマブ（炭疽菌（Ｂ．ａｎｔｈｒａｓｉｓ）ＰＡ；ヒトＩｇＧ１）、オビヌツズマブ（ＣＤ２０；ヒト化ＩｇＧ１糖鎖工学）、シルツキシマブ（ＩＬ－６；キメラＩｇＧ１）、ラムシルマブ（ＶＥＧＦＲ２；ヒトＩｇＧ１）、ベドリズマブ（α４β７インテグリン；ヒト化ＩｇＧ１）、ニボルマブ（ＰＤ１；ヒトＩｇＧ４）、ペンブロリズマブ（ＰＤ１；ヒト化ＩｇＧ４）、ブリナツモマブ（ＣＤ１９、ＣＤ３；マウス二重特異性タンデムｓｃＦｖ）、アレムツズマブ（ＣＤ５２；ヒト化ＩｇＧ１）、エボロクマブ（ＰＣＳＫ９；ヒトＩｇＧ２）、イダルシズマブ（ダビガトラン；ヒト化Ｆａｂ）、ネシツムマブ（ＥＧＦＲ；ヒトＩｇＧ１）、ジヌツキシマブ（ＧＤ２；キメラＩｇＧ１）、セスキヌマブ（ＩＬ－１７ａ；ヒトＩｇＧ１）、メポリズマブ（ＩＬ－５；ヒト化ＩｇＧ１）、アリロクマブ（ＰＣＳＫ９；ヒトＩｇＧ１）、ダラツムマブ（ＣＤ３８；ヒトＩｇＧ１）、エロツズマブ（ＳＬＡＭＦ７；ヒト化ＩｇＧ１）、イキセキズマブ（ＩＬ－１７ａ；ヒト化ＩｇＧ４）、レスリズマブ（ＩＬ－５；ヒト化ＩｇＧ４）、オララツズマブ（ＰＤＧＦＲα；ヒトＩｇＧ１）、ベゾトキズマブ（クロストリジウム・ディフィシル（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ　ｄｉｆｆｉｃｉｌｅ）エンテロトキシンＢ；ヒトＩｇＧ１）、アテゾリズマブ（ＰＤ－Ｌ１；ヒト化ＩｇＧ１）、オビルトキサキシマブ（炭疽菌（Ｂ．ａｎｔｈｒａｓｉｓ）ＰＡ；キメラＩｇＧ１）、ブロダルマブ（ＩＬ－１７Ｒ；ヒトＩｇＧ２）、デュピルマブ（ＩＬ－４Ｒ　α；ヒトＩｇＧ４）、イノツズマブオゾガマイシン（ＣＤ２２；ヒト化ＩｇＧ４；ＡＤＣ）、グセルクマブ（ＩＬ－２３ｐ１９；ヒトＩｇＧ１）、サリルマブ（ＩＬ－６Ｒ；ヒトＩｇＧ１）、アベルマブ（ＰＤ－Ｌ１；ヒトＩｇＧ１）、エミシズマブ（第Ｉｘａ因子、Ｘ；ヒト化ＩｇＧ４、二重特異性）、オクレリズマブ（ＣＤ２０；ヒト化ＩｇＧ１）、ベンラリズマブ（ＩＬ－５Ｒ　α；ヒト化ＩｇＧ１）、デュルバルマブ（ＰＤ－Ｌ１；ヒトＩｇＧ１）、ゲムツズマブオゾガマイシン（ＣＤ３３；ヒト化ＩｇＧ４；ＡＤＣ）、エレヌマブ、エレヌマブ－ａｏｏｅ（ＣＧＲＰ受容体；ヒトＩｇＧ２）、ガルカネズマブ、ガルカネズマブ－ｇｎｌｍ（ＣＧＲＰ；ヒト化ＩｇＧ４）、ブロスマブ、ブロスマブ－ｔｗｚａ（ＦＧＦ２３；ヒトＩｇＧ１）、ラナデルマブ、ラナデルマブ－ｆｌｙｏ（血漿カリクレリン；ヒトＩｇＧ１）、モガムリズマブ、モガムリズマブ－ｋｐｋｃ（ＣＣＲ４；ヒト化ＩｇＧ１）、チルドラキズマブ；チルドラキズマブ－ａｓｍｎ（ＩＬ－２３ｐ１９；ヒト化ＩｇＧ１）、フロメネズマブ、フロメネズマブ－ｖｆｒｍ（ＣＧＲＰ；ヒト化ＩｇＧ２）、ラブリズマブ、ラブリズマブ－ｃｗｖｚ（Ｃ５；ヒト化ＩｇＧ２／４）、セミプリマブ、セミプリマブ－ｒｗｌｃ（ＰＤ－１；ヒトｍＡｂ）、イバリズマブ、イバリズマブ－ｕｉｙｋ（ＣＤ４；ヒト化ＩｇＧ４）、エマパルマブ、エマパルマブ－ｌｚｓｇ（ＩＦＮｇ；ヒトＩｇＧ１）、モキセツモマブ・パスドトックス（Ｍｏｘｅｔｕｍｏｍａｂ　ｐａｓｕｄｏｔｏｘ）、モキセツモマブ・パスドトック（ｍｏｘｅｔｕｍｏｍａｂ　ｐａｓｕｄｏｔｏｘ）－ｔｄｆｋ（ＣＤ２２；マウスＩｇＧ１　ｄｓＦｖ免疫毒素）、カプラシズマブ、カプラシズマブ－ｙｈｄｐ（フォン・ヴィレブランド因子；ヒト化ナノボディ）、リサンキズマブ、リサンキズマブ－ｒｚａａ（ＩＬ－２３ｐ１９；ヒト化ＩｇＧ１）、ポラツズマブベドチン、ポラツズマブベドチン－ｐｉｉｑ（ＣＤ７９ｂ；ヒト化ＩｇＧ１　ＡＤＣ）、ロモソズマブ、ロモソズマブ水溶液（スクレロスチン；ヒト化ＩｇＧ２）、ブロルシズマブ、ブロルシズマブ－ｄｂｌｌ（ＶＥＧＦ－Ａ；ヒト化ｓｃＦｖ）、クリザンリズマブ；クリザンリズマブ－ｔｍｃａ（ＣＤ６２（ａｋａ　Ｐ－セレクチン）；ヒト化ＩｇＧ２）、エンホルツマブベドチン、エンホルツマブベドチン－ｅｊｆｖ（ネクチン－４；ヒトＩｇＧ１　ＡＤＣ）、［ｆａｍ－］トラス

ツズマブデルクテカン、ｆａｍ－トラスツズマブデルクテカン－ｎｘｋｉ（ＨＥＲ２；ヒト化ＩｇＧ１　ＡＤＣ）、テプロツムマブ、テプロツムマブ－ｔｒｂｗ（ＩＧＦ－１Ｒ；ヒトＩｇＧ１）、エプチンズマブ、エプチンズマブ－ｊｊｍｒ（ＣＧＲＰ；ヒト化ＩｇＧ１）、イサツキシマブ、イサツキシマブ－ｉｒｆｃ（ＣＤ３８；キメラＩｇＧ１）、サシツズマブゴビテカン；サクツズマブゴビテカン－ｈｚｉｙ（ＴＲＯＰ－２；ヒト化ＩｇＧ１　ＡＤＣ）、イネビリズマブ（ＣＤ１９；ヒト化ＩｇＧ１）、レロンリマブ（ＣＣＲ５；ヒト化ＩｇＧ４）、サトラリズマブ（ＩＬ－６Ｒ；ヒト化ＩｇＧ２）、ナルソプリマブ（ＭＡＳＰ－２、ヒトＩｇＧ４）、タファシタマブ（ＣＤ１９；ヒト化ＩｇＧ１）、ＲＥＧＮＥＢ３（エボラウイルス；３つのヒトＩｇＧ１の混合物）、ナキシタマブ（ＧＤ２；ヒト化ＩｇＧ１）、オポルツズマブ・モナトックス（ＥｐＣＡＭ；ヒト化ｓｃＦｖ免疫毒素）、ベランタマブ・マホドチン（Ｂ細胞成熟抗原；ヒト化ＩｇＧ１　ＡＤＣ）、マルゲツキシマブ（ＨＥＲ２；キメラＩｇＧ１）、タンツズマブ（神経成長因子；ヒト化ＩｇＧ２）、ドスタリマブ（ＴＳＲ－０４２）（ＰＤ－１；ヒト化ＩｇＧ４）、テプリズマブ（ＣＤ３；ヒト化ＩｇＧ１）、アデュカヌマブ（アミロイドβ；ヒトＩｇＧ１）、スチムリマブ（ＢＩＶＶ００９）（Ｃ１ｓ；ヒト化ＩｇＧ４）、エビナクマブ（アンジオポエチン様３；ヒトＩｇＧ４）から選択される更なる治療用抗体を含む。

【０６２７】

これらの更なる治療用抗体のいずれかとの併用処置は、特に、選択された更なる治療用抗体の標的を特異的に発現する腫瘍に好ましい。

【０６２８】

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｅによれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、ＣＤ１６ａ、ＩＬＤＲ２、ＰＳＭＡ又はメソテリンを標的とする更なる治療用抗体を含む。

【０６２９】

細胞傷害剤又は細胞増殖抑制剤との組み合わせ

ドキソルビシン及びオキサリプラチン等のいくつかの化学療法剤は、免疫原性細胞死（ＩＣＤ）を誘導する。しかしながら、ＩＣＤは、併用療法が単剤療法の適用に更なる利益を追加し得るように、抗ＣＣＲ８抗体に対する応答に関連することが見出された。

【０６３０】

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆによれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、放射性核種、アルキル化剤、ＤＮＡ架橋剤、ＤＮＡインターカレート剤（例えば、溝結合剤、例えば副溝結合剤）、細胞周期調節剤、アポトーシス調節剤、キナーゼ阻害剤、タンパク質合成阻害剤、ミトコンドリア阻害剤、核外輸送阻害剤、トポイソメラーゼＩ阻害剤、トポイソメラーゼＩＩ阻害剤、ＲＮＡ／ＤＮＡ代謝拮抗剤及び有糸分裂阻害剤から選択される細胞増殖抑制剤を含む。

【０６３１】

アルキル化剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ１によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、ａｓａｌｅｙ（Ｌ－ロイシン、Ｎ－［Ｎ－アセチル－４－［ビス－（２－クロロエチル）アミノ］－ＤＬ－フェニルアラニル］－、エチルエステル）；ＡＺＱ（１，４－シクロヘキサジエン－１，４－ジカルバミン酸、２，５－ビス（１－アジリジニル）－３，６－ジオキソ－、ジエチルエステル）；ＢＣＮＵ（Ｎ，Ｎ’－ビス（２－クロロエチル）－Ｎ－ニトロソウレア）；ブスルファン（１，４－ブタンジオールジメタンスルホネート）；（カルボキシフタラート）白金；ＣＢＤＣＡ（シス－（１，１－シクロブタンジカルボキシレート）ジアンミン白金（ＩＩ））；ＣＣＮＵ（Ｎ－（２－クロロエチル）－Ｎ’－シクロヘキシル－Ｎ－ニトロソ尿素）；チップ（イプロプラチン；ＮＳＣ２５６９２７）；クロラムブシル；クロロゾトシン（２－［［［（２－クロロエチル）ニトロソアミノ］カルボニル］アミノ］－２－デオキシ－Ｄ－グルコピラノース）；シス－白金（シスプラチン）；クロメゾン；シアノモルホリノドキソルビシン；シクロジソン；ジアンヒドロガラクチトール（５，６－ジエポキシズルシトール）；フルオロドパ

ン（（５－［（２－クロロエチル）－（２－フルオロエチル）アミノ］－６－メチル－ウラシル）；ヘプスルファム；ヒカントン；インドリノベンゾジアゼピン二量体ＤＧＮ４６２；メルファラン；メチルＣＣＮＵ（（１－（２－クロロエチル）－３－（ｔｒａｎｓ－４－メチルシクロヘキサン）－１－ニトロソ尿素）；マイトマイシンＣ；ミトゾールアミド；ナイトロジェンマスタード（（ビス（２－クロロエチル）メチルアミン塩酸塩）；ＰＣＮＵ（（１－（２－クロロエチル）－３－（２，６－ジオキソ－３－ピペリジル）－１－ニトロソウレア））；ピペラジンアルキル化剤（（１－（２－クロロエチル）－４－（３－クロロプロピル）－ピペラジン二塩酸塩）；ピペラジンジオン；ピポブロマン（Ｎ，Ｎ’－ビス（３－ブロモプロピオニル）ピペラジン）；ポルフィロマイシン（Ｎ－メチルマイトマイシンＣ）；スピロヒダントインマスタード；テロキシロン（トリグリシジルイソシアヌレート）；テトラプラチン；チオ－テパ（Ｎ，Ｎ’、Ｎ’’－トリ－１，２－エタンジイルチオホスホラミド）；トリエチレンメラミン；ウラシルナイトロジェンマスタード（デスメチルドパン）；Ｙｏｓｈｉ－８６４（（ビス（３－メシルオキシプロピル）アミン塩酸塩）から選択されるアルキル化剤を含む。

【０６３２】

ＤＮＡアルキル化様剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ２によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、シスプラチン；カルボプラチン；ネダプラチン；オキサリプラチン；サトラプラチン；トリプラチンテトラニトレート；プロカルバジン；アルトレタミン；ダカルバジン；ミトゾロミド；テモゾロミドから選択されるＤＮＡアルキル化様剤を含む。

【０６３３】

アルキル化抗新生物剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ３によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、カルボコン；カルムスチン；クロルナファジン；クロロゾトシン；デュオカルマイシン；エボフォスファミド；フォテムスチン；グルフォスファミド；ロムスチン；マンノスルファン；ニムスチン；フェナントリプラチン；ピポブロマン；ラニムスチン；セムスチン；ストレプトゾトシン；チオＴＥＰＡ；トレオスルファン；トリアジコン；トリエチレンメラミン；トリプラチンテトラニトレートから選択されるアルキル化抗新生物剤を含む。

【０６３４】

ＤＮＡ複製及び修復阻害剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ４によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、アルトレタミン；ブレオマイシン；ダカルバジン；ダクチノマイシン；ミトブロニトール；マイトマイシン；ピンジアンマイシン；プリカマイシン；プロカルバジン；テモゾロミド；ＡＢＴ－８８８（ベリパリブ）；オラパリブ；ＫＵ－５９４３６；ＡＺＤ－２２８１；ＡＧ－０１４６９９；ＢＳＩ－２０１；ＢＧＰ－１５；ＩＮＯ－１００１；ＯＮＯ－２２３１から選択されるＤＮＡ複製及び修復阻害剤を含む。

【０６３５】

セルサイクル調節剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ５によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、パクリタキセル；Ｎａｂ－パクリタキセル；ドセタキセル；ビンクリスチン；ビンブラスチン；ＡＢＴ－３４８；ＡＺＤ－１１５２；ＭＬＮ－８０５４；ＶＸ－６８０；Ａｕｒｏｒａ　Ａ特異的キナーゼ阻害剤；Ａｕｒｏｒａ　Ｂ特異的キナーゼ阻害剤及びｐａｎ－Ａｕｒｏｒａキナーゼ阻害剤；ＡＺＤ－５４３８；ＢＭＩ－１０４０；ＢＭＳ－０３２；ＢＭＳ－３８７；ＣＶＴ－２５８４；フラボピリドール；ＧＰＣ－２８６１９９；ＭＣＳ－５　Ａ；ＰＤ０３３２９９１；ＰＨＡ－６９０５０９；セレシクリブ（ＣＹＣ－２０２、Ｒ－ロスコビチン）；ＺＫ－３０４７０９；ＡＺＤ　４８７７、ＡＲＲＹ－５２０：ＧＳＫ９２３２９５Ａ等の細胞周期調節因子を含む。

【０６３６】

アポトーシス制御因子

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ６によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、ＡＴ－１０１（（－）ゴシポール）；Ｇ３１３９又はオブリメルセン（Ｂｃｌ－２標的化アンチセンスオリゴヌクレオチド）；ＩＰＩ－１９４；ＩＰＩ－５６５；Ｎ－（４－（４－（（４’－クロロ（１，１’－ビフェニル）－２－イル）メチル）ピペラジン－１－イルベンゾイル）－４－（（（１Ｒ）－３－（ジメチルアミノ）－１－（（フェニルスルファニル）メチル）プロピル）アミノ）－３－ニトロベンゼンスルホンアミド）；Ｎ－（４－（４－（（２－（４－クロロフェニル）－５，５－ジメチル－１－シクロヘキサ－１－エン－１－イル）メチル）ピペラジン－１－イル）ベンゾイル）－４－（（（１Ｒ）－３－（モルホリン－４－イル）－１－（（フェニルスルファニル）メチル）プロピル）アミノ）－３－（（トリフルオロメチル）スルホニル）ベンゼンスルホンアミド；ＧＸ－０７０（Ｏｂａｔｏｃｌａｘ（登録商標）；１Ｈ－インドール、２－（２－（（３，５－ジメチル－１Ｈ－ピロール－２－イル）メチレン）－３－メトキシ－２Ｈ－ピロール－５－イル）－））；ＨＧＳ１０２９；ＧＤＣ－０１４５；ＧＤＣ－０１５２；ＬＣＬ－１６１；ＬＢＷ－２４２；ベネトクラックス；ＴＲＡＩＬ又は細胞死受容体（例えば、ＤＲ４及びＤＲ５）を標的とする薬剤、例えば、ＥＴＲ２－ＳＴ０１、ＧＤＣ０１４５、ＨＧＳ－１０２９、ＬＢＹ－１３５、ＰＲＯ－１７６２；カスパーゼ、カスパーゼ調節因子、ＢＣＬ－２ファミリーメンバー、デスドメインタンパク質、ＴＮＦファミリーメンバー、Ｔｏｌｌファミリーメンバー及び／又はＮＦ－κ－Ｂタンパク質を標的とする薬物等のアポトーシス調節因子を含む。

【０６３７】

血管新生阻害剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ７によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、ＡＢＴ－８６９；ＡＥＥ－７８８；アキシチニブ（ＡＧ－１３７３６）；ＡＺＤ－２１７１；ＣＰ－５４７，６３２；ＩＭ－８６２；ペガプタミブ；ソラフェニブ；ＢＡＹ　４３－９００６号；パゾパニブ（ＧＷ－７８６０３４）；バタラニブ（ＰＴＫ－７８７、ＺＫ－２２２５８４）；スニチニブ；ＳＵ－１１２４８；ＶＥＧＦトラップ；バンデタニブ；ＡＢＴ－１６５；ＺＤ－６４７４；ＤＬＬ　４阻害剤等の血管新生阻害剤を含む。

【０６３８】

プロテアソーム阻害剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ８によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、ボルテゾミブ；カルフィルゾミブ；エポキソミシン；イキサゾミブ；サリノスポラミドＡ等のプロテアソーム阻害剤を含む。

【０６３９】

キナーゼ阻害剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ９によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、アファチニブ；アキシチニブ；ボスチニブ；クリゾチニブ；ダサチニブ；エルロチニブ；フォスタマチニブ；ゲフィチニブ；イブルチニブ；イマチニブ；ラパチニブ；レンバチニブ；ムブリチニブ；ニロチニブ；パゾパニブ；ペガプタニブ；ソラフェニブ；スニチニブ；ＳＵ６６５６；バンデタニブ；ベムラフェニブ；ＣＥＰ－７０１（レサウルチニブ）；ＸＬ０１９；ＩＮＣＢ０１８４２４（ルキソリチニブ）；ＡＲＲＹ－１４２８８６（セレメチニブ）；ＡＲＲＹ－４３８１６２（ビニメチニブ）；ＰＤ－３２５９０１；ＰＤ－９８０５９；ＡＰ－２３５７３；ＣＣＩ－７７９；エベロリムス；ＲＡＤ－００１；ラパマイシン；テムシロリムス；ＰＩ－１０３、ＰＰ２４２、ＰＰ３０、Ｔｏｒｉｎ１を含むＡＴＰ競合ＴＯＲＣ１／ＴＯＲＣ２阻害剤；ＬＹ２９４００２；ＸＬ－１４７；ＣＡＬ－１２０；実施例２１；ＡＥＺＳ－１２７；ＥＴＰ－４５６５８；ＰＸ－８６６；ＧＤＣ－０９４１；ＢＧＴ２２６；ＢＥＺ２３５；ＸＬ７６５、レゴラフェニブ及びＭＥＫｉ－１等のキナーゼ阻害剤を含む。

【０６４０】

タンパク質合成阻害剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ１０によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、ストレプトマイシン；ジヒドロストレプトマイシン；ネオマイシン；フラミセチン；パロモマイシン；リボスタマイシン；カナマイシン；アミカシン；アルベカシン；ベカナマイシン；ジベカシン；トブラマイシン；スペクチノマイシン；ハイグロマイシンＢ；パロモマイシン；ゲンタマイシン；ネチルミシン；シソマイシン；イセパマイシン；ベルダマイシン；アストロマイシン；テトラサイクリン；ドキシサイクリン；クロルテトラサイクリン；クロモサイクリン；デメクロサイクリン；リシン；メクロサイクリン；メタサイクリン；ミノサイクリン；オキシテトラサイクリン；ペニメピサイクリン；ロリテトラサイクリン；テトラサイクリン；グリシルサイクリン；チゲサイクリン；オキサゾリジノン；エペレゾリド；リネゾリド；ポジゾリド；ラデゾリド；ランベゾリド；ステゾリド；テジゾリド；ペプチジルトランスフェラーゼ阻害剤；クロラムフェニコール；アジダンフェニコール；チアンフェニコール；フロルフェニコール；プルロムチリン；レタパムリン；チアムリン；バルネムリン；アジスロマイシン；クラリスロマイシン；ジリスロマイシン；エリスロマイシン；フルリスロマイシン；ジョサマイシン；ミデカマイシン；ミオクタマイシン；オレアンドマイシン；ロキタマイシン；ロキシスロマイシン；スピラマイシン；トロレアンドマイシン；チロシン；ケトリド；テリスロマイシン；セトロマイシン；ソリスロマイシン；クリンダマイシン；リンコマイシン；ピリマイシン；ストレプトグラミン；プリスチナマイシン；キヌプリスチン／ダルホプリスチン；ヴァージニアマイシン等のタンパク質合成阻害剤を含む。

【０６４１】

ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ１１によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、ボリノスタット；ロミドプシン；シダミド；パノビノスタット；バルプロ酸；ベリノスタット；モセチノスタット；アベキシノスタット；エンチノスタット；ＳＢ９３９（プラシノスタット）；レスミノスタット；ジビノスタット；キシノスタット；チオウレイドブチロニトリル（Ｋｅｖｅｔｒｉｎ（商標））；ＣＵＤＣ－１０；ＣＨＲ－２８４５（テフィノスタット）；ＣＨＲ－３９９６；４ＳＣ－２０２；ＣＧ２００７４５；ＡＣＹ－１２１５（ロシリノスタット）；ＭＥ－３４４；スルホラファン等のヒストン脱アセチル化酵素阻害剤を含む。

【０６４２】

トポイソメラーゼＩ阻害剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ１２によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、カンプトテシン；各種カンプトテシン誘導体及び類縁体（例えば、ＮＳＣ　１００８８０、ＮＳＣ　６０３０７１、ＮＳＣ　１０７１２４、ＮＳＣ　６４３８３３、ＮＳＣ　６２９９７１、ＮＳＣ　２９５５００、ＮＳＣ　２４９９１０、ＮＳＣ　６０６９８５、ＮＳＣ　７４０２８、ＮＳＣ　１７６３２３、ＮＳＣ　２９５５０１、ＮＳＣ　６０６１７２、ＮＳＣ　６０６１７３、ＮＳＣ　６１０４５８、ＮＳＣ　６１８９３９、ＮＳＣ　６１０４５７、ＮＳＣ　６１０４５９、ＮＳＣ　６０６４９９、ＮＳＣ　６１０４５６、ＮＳＣ　３６４８３０、ＮＳＣ　６０６４９７）；モルホリンイソドキソルビシン；ＳＮ－３８等のトポイソメラーゼＩ阻害剤を含む。

【０６４３】

トポイソメラーゼＩＩ阻害剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ１３によれば、１つ以上更なる治療活性化合物は、ドキソルビシン；アモナフィド（ベンズイソキノリンジオン）；ｍ－ＡＭＳＡ（４’－（９－アクリジニルアミノ）－３’－メトキシメタンスルホンアニリド）；アントラピラゾール誘導体（（ＮＳＣ　３５５６４４）；エトポシド（ＶＰ－１６）；ピラゾロアクリジン（（ピラゾロ［３，４，５－ｋｌ］アクリジン－２（６　Ｈ）－プロパンアミン、９－メトキシ－Ｎ，Ｎ－ジメチル－５－ニトロ－モノメタンスルホネート）；ビサントレン塩酸塩；ダウノルビシン；デオキシドキソルビシン；ミトキサントロ

ン；メノガリル；Ｎ，Ｎ－ジベンジルダウノマイシン；オキサントラゾール；ルビダゾン；テニポシド等のトポイソメラーゼＩＩ阻害剤を含む。

【０６４４】

ＤＮＡ挿入剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ１４によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、アントラマイシン；チカマイシンＡ；トマイマイシン；直流８１；シビロマイシン；ピロロベンゾジアゼピン誘導体；ＳＧＤ－１８８２（（Ｓ）－２－（４－アミノフェニル）－７－メトキシ－８－（３Ｓ）－７－メトキシ－２－（４－メトキシフェニル）－５－オキソ－５，１１ａ－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－８－イル）オキシ）プロポキシ）－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－５（１１ａＨ）－オン）；ＳＧ２０００（ＳＪＧ－１３６；（１１ａＳ，１１ａ’ｓ）－８，８’－（プロパン－１，３－ジイルビス（オキシ））ビス（７－メトキシ－２－メチレン－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ベンゾ［ｅ］ピロロ［１，２－ａ］［１，４］ジアゼピン－５（１１ａＨ）－オン））等のＤＮＡ挿入剤を含む。

【０６４５】

ＲＮＡ／ＤＮＡ代謝拮抗剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ１５によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、ゲムシタビン、Ｌ－アラノシン；５－アザシチジン；５－フルオロウラシル；アシビシン；アミノプテリン誘導体Ｎ－［２－クロロ－５［［（２，４－ジアミノ－５－メチル－６－キナゾリニル）メチル］アミノ］ベンゾイル］Ｌ－アスパラギン酸（ＮＳＣ１３２４８３）；アミノプテリン誘導体Ｎ－［４－［［（２，４－ジアミノ－５－エチル－６－キナゾリニル）メチル］アミノ］ベンゾイル］Ｌ－アスパラギン酸；アミノプテリン誘導体Ｎ－［２－クロロ－４－［［（２，４－ジアミノ－６－プテリジニル）メチル］アミノ］ベンゾイル］Ｌ－アスパラギン酸一水和物；葉酸代謝拮抗剤ＰＴ５２３（（Ｎα－（４－アミノ－４－デオキシプテロイル）－Ｎγ－ヘミフタロイル－Ｌ－オルニチン）；可溶性ベーカーアンチフォル（Ｂａｋｅｒ’ｓ ｓｏｌｕｂｌｅ ａｎｔｉｆｏｌ）（ＮＳＣ１３９１０５）；ジクロロアリルローゾン（（２－（３，３－ジクロロアリル）－３－ヒドロキシ－１，４－ナフトキノン）；ブレキナル；フトラウフ（（プロドラッグ；５－フルオロ－１－（テトラヒドロ－２－フリル）－ウラシル）；５，６－ジヒドロ－５－アザシチジン；メトトレキサート；メトトレキサート誘導体（Ｎ－［［４－［［（２，４－ジアミノ－６－プテリジニル）メチル］メチルアミノ］－１－ナフタレニル］カルボニル］Ｌ－グルタミン酸）；ＰＡＬＡ（（Ｎ－（ホスホノアセチル）－Ｌ－アスパラギン酸）；ピラゾフリン；トリメトレキセート等のＲＮＡ／ＤＮＡ代謝拮抗物質を含む。

【０６４６】

ＤＮＡ代謝拮抗剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ１６によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、３－ＨＰ；２’－デオキシ－５－フルオロウリジン；５－ＨＰ；α－ＴＧＤＲ（α－２’－デオキシ－６－チオグアノシン）；アフィジコリン酸グリシネート；ａｒａ Ｃ（シトシンアラビノシド）；５－アザ－２’－デオキシシチジン；β－ＴＧＤＲ（β－２’－デオキシ－６－チオグアノシン）；シクロシチジン；グアナゾール；ヒドロキシ尿素；イノシングリコジアルデヒド；マクベシンＩＩ；ピラゾロイミダゾール；チオグアニン；チオプリン等のＤＮＡ代謝拮抗剤を含む。

【０６４７】

ミトコンドリア阻害剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ１７によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、パンクラスタチン；フェンパンスタチン；ローダミン－１２３；エデルホシン；ｄ－アルファ－トコフェロールスクシネート；化合物１１β；アスピリン；エリプティシン；ベルベリン；セルレニン；ＧＸ０１５－０７０（オバトクラックス

（登録商標）；１　Ｈ－インドール、２－（２－（（３，５－ジメチル－１　Ｈ－ピロール－２－イル）メチレン）－３－メトキシ－２　Ｈ－ピロール－５－イル）－）；セラストロール（トリプテリン）；メトホルミン；ブリリアントグリーン；ＭＥ－３４４等のミトコンドリア阻害剤を含む。

【０６４８】

抗有糸分裂剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ１８によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、アロコルヒチン；ＭＭＡＥ（モノメチルアウリスタチンＥ）及びＭＭＡＦ（モノメチルアウリスタチンＦ）等のアウリスタチン；ハリコンドリンＢ；セマドチン；コルヒチン；コルヒチン誘導体（Ｎ－ベンゾイル－デアセチルベンズアミド）；ドラスタチン－１０；ドラスタチン－１５；メイタンシン；メイタンシノイド、例えばＤＭ１（Ｎ２’－デアセチル－Ｎ２’－（３－メルカプト－１－オキソプロピル）－メイタンシン）；ロゾキシン；パクリタキセル；パクリタキセル誘導体（（２’－Ｎ－［３－（ジメチルアミノ）プロピル］グルタラメートパクリタキセル）；ドセタキセル；チオコルヒチン；トリチルシステイン；硫酸ビンブラスチン；硫酸ビンクリスチン等の有糸分裂阻害剤を含む。

【０６４９】

核外輸送阻害剤

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ１９によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、カリスタチンＡ；デラクトンマイシン；ＫＰＴ－１８５（プロパン－２－イル（Ｚ）－３－［３－［３－メトキシ－５－（トリフルオロメチル）フェニル］－１，２，４－トリアゾール－１－イル］プロパ－２－エノエート）；カズサマイシンＡ；レプトルスタチン；レプトフラニンＡ；レプトマイシンＢ；ラトジャドン；ベルジネキソル（Ｖｅｒｄｉｎｅｘｏｒ）（（Ｚ）－３－［３－［３，５－ビス（トリフルオロメチル）フェニル］－１，２，４トリアゾール－１－イル］－Ｎ－ピリジン－２－イルプロパ－２－エンヒドラジド）等の核外輸送阻害剤を含む。

【０６５０】

ホルモン治療薬

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｆ２０によれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、アナストロゾール；エキセメスタン；アルゾキシフェン；ビカルタミド；セトロレリクス；デガレリクス；デスロレリン；トリロスタン；デキサメタゾン；フルタミド；ラロキシフェン；ファドロゾール；トレミフェン；フルベストラント；レトロゾール；フォルメスタン；糖質コルチコイド；ドセルカルシフェロール；炭酸セベラマー；ラソホキシフェン；酢酸リュープロリド；メゲステロール；ミフェプリストン；ニルタミド；クエン酸タモキシフェン；アバレリクス；プレドニゾン；フィナステリド；リロスタン；ブセレリン；黄体形成ホルモン放出ホルモン（ＬＨＲＨ）；ヒストレリン；トリロスタン又はモドラスタン；フォスレリン；ゴセレリン等のホルモン治療薬を含む。

【０６５１】

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｇによれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、骨髄抑制細胞を標的とする抗体を含む。

【０６５２】

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｈによれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、抗原提示細胞（ＡＰＣ）をプライミングする薬剤を含み、これは次にＴ細胞を活性化することができる。

【０６５３】

第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｉによれば、１つ以上の更なる治療活性化合物は、ＢｉＴＥ抗体を含む。ＢｉＴＥ抗体は、２つの細胞に同時に結合することによって癌細胞を攻撃するようにＴ細胞に指示する二重特異性抗体である。次いで、Ｔ細胞は標的細胞、すなわちＴｒｅｇを攻撃する。例えば、ＢｉＴＥアプローチは、裸のＣＣＲ８抗体のＡＤＣＣベースのアプローチと相補的である。

【０６５４】
標準治療法
第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｊによれば、組み合わせは、ケモカイン受容体陽性、例えばＣＣＲ８陽性細胞を特徴とする腫瘍又は疾患の標準治療との組み合わせである。標準的なケアは、Ｔ細胞急性リンパ芽球性白血病、乳癌、トリプルネガティブ乳癌、トリプルポジティブ乳癌、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、精巣癌、胃癌、頭頸部扁平上皮癌、胸腺腫、食道腺癌、結腸直腸癌、膵臓腺癌、卵巣癌又は子宮頸癌、急性骨髄性白血病、腎臓癌、膀胱癌、黒色腫、甲状腺癌、中皮腫、肉腫及び前立腺癌のいずれかに対する標準治療であり得る。

【０６５５】
いくつかの好ましい実施形態によれば、標準治療は、頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、及び／又は前立腺癌の処置のための標準治療である。疑いがある場合、標準治療はそれぞれの腫瘍の「Ｓ３ガイドライン」、例えば、肛門癌（Ａｎａｌｋａｒｚｉｎｏｍ）、光線性角化症及び皮膚の扁平上皮癌（Ａｋｔｉｎｉｓｃｈｅ Ｋｅｒａｔｏｓｅ ｕｎｄ Ｐｌａｔｔｅｎｅｐｉｔｈｅｌｋａｒｚｉｎｏｍ ｄｅｒ Ｈａｕｔ）、慢性リンパ性白血病（Ｃｈｒｏｎｉｓｃｈｅ Ｌｙｍｐｈａｔｉｓｃｈｅ Ｌｅｕｋａｍｉｅ）（ＣＬＬ）、子宮内膜癌（Ｅｎｄｏｍｅｔｒｉｕｍｋａｒｚｉｎｏｍ）、濾胞性リンパ腫（Ｆｏｌｌｉｋｕｌａｒｅｓ Ｌｙｍｐｈｏｍ）、膀胱癌（Ｈａｒｎｂｌａｓｅｎｋａｒｚｉｎｏｍ）、皮膚癌（Ｈａｕｔｋｒｅｂｓ－Ｐｒａｖｅｎｔｉｏｎ）、肝細胞癌（Ｈｅｐａｔｏｚｅｌｌｕｌａｒｅｓ Ｋａｒｚｉｎｏｍ）（ＨＣＣ）、精巣腫瘍（Ｈｏｄｅｎｔｕｍｏｒｅｎ）、ホジキンリンパ腫（Ｈｏｄｇｋｉｎ－Ｌｙｍｐｈｏｍ）、大腸癌（Ｋｏｌｏｒｅｋｔａｌｅｓ Ｋａｒｚｉｎｏｍ）、咽頭癌（Ｌａｒｙｎｘｋａｒｚｉｎｏｍ）、肺癌（Ｌｕｎｇｅｎｋａｒｚｉｎｏｍ）、胃癌（Ｍａｇｅｎｋａｒｚｉｎｏｍ）、乳癌（Ｍａｍｍａｋａｒｚｉｎｏｍ）、腎細胞癌（Ｎｉｅｒｅｎｚｅｌｌｋａｒｚｉｎｏｍ）、卵巣癌（Ｏｖａｒｉａｌｋａｒｚｉｎｏｍ）、食道癌（Ｏｓｏｐｈａｇｕｓｋａｒｚｉｎｏｍ）、緩和医療（Ｐａｌｌｉａｔｉｖｍｅｄｉｚｉｎ）、膵臓癌（Ｐａｎｋｒｅａｓｋａｒｚｉｎｏｍ）、陰茎癌（Ｐｅｎｉｓｋａｒｚｉｎｏｍ）、前立腺癌（Ｐｒｏｓｔａｔａｋａｒｚｉｎｏｍ）、精神腫瘍学（Ｐｓｙｃｈｏｏｎｋｏｌｏｇｉｅ）、支持療法（Ｓｕｐｐｏｒｔｉｖｅ Ｔｈｅｒａｐｉｅ）、子宮頸癌（Ｚｅｒｖｉｘｋａｒｚｉｎｏｍ）のガイドラインは、２０２０－０６－２６に有効であり（ｈｔｔｐｓ：／／ｗｗｗ．ｌｅｉｔｌｉｎｉｅｎｐｒｏｇｒａｍｍ－ｏｎｋｏｌｏｇｉｅ．ｄｅ／ｌｅｉｔｌｉｎｉｅｎ／を参照）、２０２１年６月１日に利用可能として、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０６５６】
放射線療法
第２２の態様による第１及び／又は第２の実施形態の実施形態と組み合わせることができ、組み合わせるように示唆され得る、第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｋによれば、使用は、放射線療法と同時、別々、又は逐次の組み合わせでの使用である。

【０６５７】
例えば、放射線療法は、例えば、１５回の毎日の処置に分割された４０Ｇｙの典型的な総線量又は３７回の毎日の処置に分割された７０Ｇｙの総線量によるＸ線による外部ビーム療法を含む、当技術分野で公知の放射線方式を含む療法であり得る。例えば、放射線療法は近接照射療法であり得る。実施例１２．６．８は、抗ＣＣＲ８抗体と放射線療法との併用処置を示す。

【０６５８】
ＮＫ細胞療法
第２２の態様による第１及び／又は第２の実施形態の実施形態と組み合わせることができ、組み合わせるように示唆され得る、第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｌによれば、使用は、ＮＫ細胞療法と同時、別々、又は逐次の組み合わせでの使

用である。ＮＫ細胞療法は、例えば、欧州特許第１７７１４７１号明細書に記載されているような操作されたＮＫ細胞株の使用を含むことができ、又はキメラ受容体等の改変を潜在的に含む単離された初代ＮＫ細胞の使用を含むことができる（国際公開第２００６０５２５３４号を参照）。

【０６５９】

Ｔ細胞活性化に関連する細胞表面分子の標的化

第２２の態様の第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｍによれば、ＣＤ２５、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＬＡＧ３、ＴＩＧＩＴ、ＩＣＯＳ、及びＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバー、４－１ＢＢ、ＯＸ－４０、及びＧＩＴＲから選択される、Ｔ細胞活性化に関連する細胞表面分子を標的とする１つ以上の更なる治療活性化合物と、同時、別々又は逐次の組み合わせで使用するための、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８態様による抗体若しくは抗原結合断片、又は第１９態様によるコンジュゲート若しくは第２０態様による医薬組成物が提供される。

【０６６０】

Ｂ細胞枯渇

第２２の態様による第１及び／又は第２の実施形態の実施形態と組み合わせることができ、組み合わせることが示唆される第２２の態様による第３の実施形態のいくつかの実施形態Ｎによれば、使用は、腫瘍内Ｂ細胞枯渇と同時、別々、又は逐次的に組み合わせた使用である。腫瘍内Ｂ細胞枯渇は、抗体若しくは他の分子の投与、又は腫瘍内Ｂ細胞、好ましくはＣＤ１９＋Ｂ細胞を特異的に標的とする任意の更なる処置によって起こり得る。実施例１２．３．２は、抗ＣＣＲ８抗体を投与し、腫瘍内ＣＤ１９＋Ｂ細胞を枯渇させた処置を示す。ＣＤ８＋Ｔ細胞の枯渇は抗ＣＣＲ８抗体による処置の有益な効果を無効にしたが、驚くべきことに、Ｂ細胞の枯渇が抗ＣＣＲ８抗体による処置の有益な効果を改善することが見出された。限定されないが、Ｂ細胞枯渇は、ＣＤ１９若しくはＣＤ２０又は別の適切なＢ細胞マーカーを標的とする抗体を使用することによって起こり得る。

【０６６１】

層別化／予測及びモニタリング方式

以下の実施形態に従って記載される層別化工程は、例えば、抗ＣＣＲ８抗体処置のための層別化、診断、又は処置成功のモニタリングのための独立型方法としても提供される。

【０６６２】

第２２の態様による第１、第２及び／又は第３の実施形態と組み合わせてもよく、組み合わせてもよいことが示唆されている、第２２の態様によるいくつかの第４の実施形態によれば、使用は、例えば、腫瘍応答を予測するため、又は処置成功をモニターするために対象又は患者の群を層別化するために、処置成功を予測又はモニターするための特定のパラメータを決定することを含む。例えば、対象は、ヒト又は非ヒト、例えばマウス、げっ歯類又はカニクイザルであり得る。

【０６６３】

第２２の態様による第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａによれば、使用は、

ａ．腫瘍浸潤リンパ球の存在若しくは量、

ｂ．マクロファージ及び／又はＮＫ細胞の存在若しくは量、

ｃ．ＣＣＲ８陽性又はＦＯＸＰ３陽性制御性Ｔ細胞の存在若しくは量、

ｄ．腫瘍突然変異負荷、

ｅ．癌の病期分類、

ｆ．インターフェロン刺激遺伝子若しくはタンパク質の存在、レベル若しくは活性化、

ｇ．ＣＣＲ８発現、

ｈ．補体因子タンパク質、セルピン、及び／又はＭＨＣ成分の存在若しくは量、

ｉ．炎症性若しくは抑制性サイトカイン等のサイトカインの存在若しくは量、

ｊ．免疫遺伝子発現の活性化、

ｋ．ＰＤ－（Ｌ）１若しくはＣＴＬＡ４発現等の免疫チェックポイントタンパク質発現

、
ｌ．腫瘍浸潤ＣＤ１９＋Ｂ細胞の存在若しくは量、及び／又は
ｍ．腫瘍浸潤ＣＤ８＋Ｔ細胞の存在若しくは量を、
腫瘍応答を予測するために、又は処置成功を予測若しくはモニタリングするために対象又は患者の群を層別化するために決定することを含む。

【０６６４】
第２２の態様による第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａ１によれば、使用は、（ａ）腫瘍浸潤リンパ球、（ｂ）マクロファージ及び／若しくはＮＫ細胞、及び／又は（ｃ）ＣＣＲ８陽性若しくはＦＯＸＰ３陽性制御性Ｔ細胞の存在又は量を決定することを含む。

【０６６５】
（ａ）腫瘍浸潤リンパ球、（ｂ）マクロファージ及び／若しくはＮＫ細胞、及び／又は（ｃ）ＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞等の細胞型の存在又は量の評価は、生検、例えば皮膚生検、外科生検、内視鏡生検若しくは針生検、例えば細針吸引、コア針生検、真空補助生検、又は画像誘導生検及びその後の染色を用いて行われ得る。次いで、（ａ）腫瘍浸潤リンパ球、（ｂ）マクロファージ及び／又はＮＫ細胞、及び／又は（ｃ）ＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞の数又は相対量を、参照、例えば参照サンプル又は参照値と比較することができる。

【０６６６】
（ａ）腫瘍浸潤リンパ球、（ｂ）マクロファージ及び／若しくはＮＫ細胞、及び／又は（ｃ）ＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞の相対的な存在又は量を使用して、本発明による抗体又は断片による処置に対する好ましい応答を予測することができる。あるいは、例えばＺｈａｎｇ，Ｄａｃｈｕａｎ，ｅｔ ａｌ．“Ｓｃｏｒｉｎｇ ｓｙｓｔｅｍ ｆｏｒ ｔｕｍｏｒ－ｉｎｆｉｌｔｒａｔｉｎｇ ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅｓ ａｎｄ ｉｔｓ ｐｒｏｇｎｏｓｔｉｃ ｖａｌｕｅ ｆｏｒ ｇａｓｔｒｉｃ ｃａｎｃｅｒ．”Ｆｒｏｎｔｉｅｒｓ ｉｎ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １０（２０１９）：７１に記載されているスコアリングシステム等のスコアリングシステムを使用して、腫瘍浸潤リンパ球の数又は相対量を決定することができる。

【０６６７】
第２２の態様による第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａ２によれば、使用は、腫瘍応答を予測及びモニタリングするための腫瘍突然変異負荷を決定することを含む。腫瘍突然変異負荷（ＴＭＢ）は、癌患者の腫瘍に存在する体細胞突然変異の数を測定するバイオマーカーであり、メガベース当たりの突然変異（ｍｕｔ／Ｍｂ）として定量される。このメトリックは、患者を層別化するために、例えば、本発明による抗体又はコンジュゲートによる処置に対する応答を予測又はモニターするために使用することができる。ＦＤＡ承認試験が存在し、例えば１０ｍｕｔ／Ｍｂ以上の参照値で使用され得る。代替において、マイクロサテライト不安定性（ＭＳＩ）が層別化のために使用される場合があり、これは、ＤＮＡミスマッチ修復系の不全によって引き起こされる。

【０６６８】
第２２の態様による第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａ３によれば、使用は、腫瘍応答を予測及びモニタリングするための癌病期分類を決定することを含む。癌病期分類は、当技術分野で公知のように、例えばＴＮＭ分類システム又はＦＩＧＯ病期分類を使用して行われ得、患者を層別化するために、例えば本発明による抗体又はコンジュゲートによる処置に対する応答を予測又はモニターするために使用され得る。

【０６６９】
第２２の態様による第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａ４によれば、使用は、腫瘍応答を予測及びモニタリングするためのインターフェロン又はインターフェロン刺激遺伝子又はタンパク質の存在、レベル又は活性化を決定することを含む。インターフェロン刺激遺伝子は、その発現がインターフェロン、特にＩＦＮｇによって刺激される遺伝子である。適切なインターフェロン刺激遺伝子又はタンパク質としては、限定されないが、ＡＣＯＤ１、ＡＣＴＧ１、ＡＣＴＲ２、ＡＣＴＲ３、ＡＤＡＭＴＳ１３、ＡＩＦ１、ＡＱＰ４、ＡＳＳ１、Ｂ２Ｍ、ＢＳＴ２、Ｃ９ＪＱＬ５、ＣＡＬＣＯＣＯ２、ＣＡＭＫ２Ａ、ＣＡ

ＭＫ２Ｂ、ＣＡＭＫ２Ｄ、ＣＡＭＫ２Ｇ、ＣＡＳＰ１、ＣＣＬ１、ＣＣＬ１１、ＣＣＬ１３、ＣＣＬ１４、ＣＣＬ１５、ＣＣＬ１５、ＣＣＬ１４、ＣＣＬ１６、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ１８、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ２１、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２３、ＣＣＬ２４、ＣＣＬ２５、ＣＣＬ２６、ＣＣＬ３、ＣＣＬ３Ｌ１、ＣＣＬ４、ＣＣＬ４Ｌ１、ＣＣＬ５、ＣＣＬ７、ＣＣＬ８、ＣＤ４０、ＣＤ４４、ＣＤ５８、ＣＤＣ４２ＥＰ２、ＣＤＣ４２ＥＰ４、ＣＩＩＴＡ、ＣＩＴＥＤ１、ＣＬＤＮ１、ＣＸ３ＣＬ１、ＣＸＣＬ１６、ＣＹＰ２７Ｂ１　ＤＡＰＫ１、ＤＡＰＫ３、ＥＤＮ１、ＥＰＲＳ、ＥＶＬ、ＦＣＧＲ１Ａ、ＦＣＧＲ１Ｂ、ＦＬＮＢ、ＧＡＰＤＨ、ＧＢＰ１、ＧＢＰ２、ＧＢＰ４、ＧＢＰ５、ＧＢＰ６、ＧＣＨ１、ＧＳＮ、ＨＣＫ、ＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－Ｂ、ＨＬＡ－Ｃ、ＨＬＡ－ＤＰＡ１、ＨＬＡ－ＤＰＢ１、ＨＬＡ－ＤＱＡ１、ＨＬＡ－ＤＱＡ２、ＨＬＡ－ＤＱＢ１、ＨＬＡ－ＤＱＢ２、ＨＬＡ－ＤＲＡ　ＨＬＡ－ＤＲＢ１、ＨＬＡ－ＤＲＢ３、ＨＬＡ－ＤＲＢ４、ＨＬＡ－ＤＲＢ５、ＨＬＡ－Ｅ、ＨＬＡ－Ｆ、ＨＬＡ－Ｇ、ＨＬＡ－Ｈ、ＩＣＡＭ１、ＩＦＩ３０、ＩＦＩＴＭ１、ＩＦＩＴＭ２、ＩＦＩＴＭ３、ＩＦＮＧ、ＩＦＮＧＲ１、ＩＦＮＧＲ２、ＩＬ１２Ｂ、ＩＬ１２ＲＢ１　ＩＬ２３Ｒ、ＩＲＦ１、ＩＲＦ２、ＩＲＦ３、ＩＲＦ４、ＩＲＦ５、ＩＲＦ６、ＩＲＦ７、ＩＲＦ８、ＩＲＦ９、ＪＡＫ１、ＪＡＫ２、ＫＩＦ１６Ｂ、ＫＩＦ５Ｂ、ＫＹＮＵ、ＬＧＡＬＳ９、ＭＥＦＶ、ＭＩＤ１、ＭＲＣ１、ＭＴ２Ａ、ＭＹＯ１Ｃ、ＮＣＡＭ１、ＮＭＩ、ＮＯＳ２、ＮＵＢ１、ＯＡＳ１、ＯＡＳ２、ＯＡＳ３、ＯＡＳＬ、ＰＤＥ１２、ＰＭＬ、ＰＲＫＣＤ、ＰＴＡＦＲ、ＲＡＢ１２、ＲＡＢ２０、ＲＡＢ４３、ＲＡＢ７Ｂ、ＲＰＬ１３Ａ、ＲＰＳ６ＫＢ１　ＲＹＤＥＮ、ＳＥＣ６１Ａ１　ＳＬＣ１１Ａ１　ＳＬＣ２６Ａ６　ＳＬＣ３０Ａ８　ＳＮＣＡ、ＳＰ１００、ＳＴＡＲ、ＳＴＡＴ１、ＳＴＸ４、ＳＴＸ８、ＳＴＸＢＰ１、ＳＴＸＢＰ２、ＳＴＸＢＰ３、ＳＴＸＢＰ４、ＳＹＮＣＲＩＰ　ＴＤＧＦ１、ＴＬＲ２、ＴＬＲ３、ＴＬＲ４、ＴＲＩＭ２１、ＴＲＩＭ２２、ＴＲＩＭ２５、ＴＲＩＭ２６、ＴＲＩＭ３１、ＴＲＩＭ３４、ＴＲＩＭ３８、ＴＲＩＭ５、ＴＲＩＭ６２、ＴＲＩＭ６８、ＴＲＩＭ８、ＵＢＤ、ＶＡＭＰ３、ＶＣＡＭ１、ＶＩＭ、ＶＰＳ２６Ｂ、ＷＡＳ、ＷＮＴ５Ａ、ＸＣＬ１、ＸＣＬ２、ＺＹＸが挙げられる。

【０６７０】

第２２の態様による第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａ５によれば、使用は、腫瘍応答を予測及びモニタリングするためのＣＣＲ８発現を決定することを含む。ＣＣＲ８発現レベルは、例えば当技術分野で公知のように、例えばＩＨＣ、ＰＣＲ又はＥＬＩＳＡベースの方法を使用して、例えば本明細書に開示される抗体、断片又はコンジュゲートを使用して、例えば生検試料に基づいて決定され得る。

【０６７１】

第２２の態様による第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａ６によれば、使用は、腫瘍応答を予測及びモニタリングするための、（ａ）補体因子タンパク質、（ｂ）セルピン、（ｃ）ＭＨＣ成分又は（ｄ）Ａｒｇ２若しくは（ｅ）本明細書に開示される別のバイオマーカー（例えば、実施例１２．７．１又は１２．７．２を参照）から選択される遺伝子又はタンパク質の存在、レベル又は活性化を決定することを含む。適切な補体因子タンパク質としては、限定されないが、Ｃ１Ｒ、Ｃ１Ｓ、Ｃ４Ａ、Ｃ５ａｒ２、Ｆ１２及びＭＡＳＰ２、又は処置のためのそれぞれの種由来のそれらの類縁体が挙げられる。適切なセルピンとしては、限定されないが、Ｓｅｒｐｉｎａ１ａ、Ｓｅｒｐｉｎａ１ｂ、Ｓｅｒｐｉｎａ１ｄ、Ｓｅｒｐｉｎａ３ｉ、又は他の種からのそれらの類縁体が挙げられる。適切なＭＨＣ成分としては、限定されないが、Ｈ２－Ｋ２、Ｈ２－Ｔ２４、Ｈ２－Ｑ１０、Ｈ２－Ｂｌ、Ｈ２－Ｑ１、Ｈ２－Ｑ５、及びＨ２－ＤＭｂ２、又は他の種からのそれらの類縁体が挙げられる。

【０６７２】

実施例１２．１．２で論じられるように、本発明者らは、同系マウスモデルからの初期腫瘍のゲノムワイドＲＮＡ－ｓｅｑデータに基づいて、以下の遺伝子のレベルの増加が腫瘍応答と強く相関することを見出した：Ｅｉｆ３ｊ２、Ｅｎｏ１ｂ、Ｉｆｉ４４ｌ、Ｈｉｓｔ１ｈ２ａｌ、Ｉｆｉ２０２ｂ、Ｈｍｇａ１ｂ、Ａｍｄ２、Ｓｙｃｐ１、Ｉｔｌｎ１、

Ｔｒｉｍ３４ｂ、Ｃａｔｓｐｅｒｇ２、Ｚｆｐ８６８、Ｓｅｒｐｉｎａ１ｂ、Ｐｒｓｓ４１、Ｃ１ｒｂ、Ｃｙｌｄ、Ｃｃｎｂ１ｉｐ１、Ｍａｓｐ２、Ａｃａａ１ｂ、Ｃ４ａ、Ｓｎｏｒｄ９３、Ａｂｈｄ１、Ｓｅｒｐｉｎａ３ｈ、Ｈ２－Ｋ２、Ｃｄ１ｄ２、Ｈａｌ、Ｒｎｆ１５１、Ｒｂｍ４６、Ａｒｇ２、Ｍｉｒ８０９９－２、Ｉｇｓｆ２１、Ｏｌｆｒ３７３、Ｃ１ｓ２、Ｃｒｙｍ、Ａｒｖ１、Ｈｄｄｃ３、Ｐｌｐｐｒ４、Ｐｐｐ１ｒ１１、Ｒｐｓ３ａ２、Ｚｆｐ４５９、Ｒｎｄ１、Ｓｅｒｐｉｎａ１ａ、Ｖｃｐｋｍｔ、Ａｔｐ１０ｄ、Ｇｂｐ２ｂ、Ｈ２－Ｔ２４、Ｔｌｃｄ２、Ｃｔｓｅ、Ｈ２－Ｑ１０、Ｃｙｐ２ｃ５５、Ｂｏｒｃｓ８、Ｔｐｓａｂ１、Ｔｒｉｍ４３ｂ、Ｃｃ２ｄ１ａ、Ｓｅｒｐｉｎａ１ｄ、Ｃａｃｎａ１ａ、Ｋｃｎｊ１４、Ｔｔｃ１３、Ｆａｒｓａ、Ｏｌｆｒ１２１７、Ｊａｍｌ、Ｈ２－Ｂｌ、Ｔｎｐｏ２、Ｒｉｍｓ３、Ｄｏｃｋ９、Ｃａｒ５ｂ、Ａｔｐ１ａ４、Ｈ２－Ｑ１、Ｚｆｐ６９、Ｓｌｐｉ、Ｐｃｄｈｇｂ８、Ｏｃｅｌ１、Ｓｅｌｅｎｂｐ２、Ｎｓｄ３、Ｗｔ１、Ｎａｐ１ｌ２、Ｒａｎｂｐ９、Ｇｔｐｂｐ３、ＡＹ７６１１８５、Ｒｎａｓｅｔ２ａ、Ｓｅｒｐｉｎａ３ｉ、Ｅｌｌ２、Ｇａｌ３ｓｔ２ｂ、Ｕｒｂ２、Ｆ１２、Ｋｌｋ１、Ｉｆｉ２１４、Ｃｓｔｌ１、Ａｇｔｐｂｐ１、Ｍｓｈ５、Ｃｏｘ１８、Ｚｆｐ３３０、Ｔｔｃ３７、Ｋｌｋ４、Ｈ２－Ｑ５、Ｃｘｃｌ１１、Ｒａｂ３９、Ｐｍ２０ｄ１、Ｎｏｄ２、Ｈ２－ＤＭｂ２．興味深いことに、このセットは、初期補体因子、セルピン等の補体調節因子、及びＭＨＣ成分が高度に濃縮されている。特に、高レベルの補体Ｃ１／Ｃ４の存在は、Ｔｒｅｇ溶解に寄与し得る。補体因子の枯渇／消費がＴｒｅｇ枯渇の有効性を低下させる場合、例えば併用処置において補体系を補完することが選択肢であり得る。

【０６７３】

第２２の態様による第４の実施形態のいくつかの好ましい実施形態によれば、使用は、腫瘍応答を予測及びモニタリングするため、Ｅｉｆ３ｊ２、Ｅｎｏ１ｂ、Ｉｆｉ４４ｌ、Ｈｉｓｔ１ｈ２ａｌ、Ｉｆｉ２０２ｂ、Ｈｍｇａ１ｂ、Ａｍｄ２、Ｓｙｃｐ１、Ｉｔｌｎ１、Ｔｒｉｍ３４ｂ、Ｃａｔｓｐｅｒｇ２、Ｚｆｐ８６８、Ｓｅｒｐｉｎａ１ｂ、Ｐｒｓｓ４１、Ｃ１ｒｂ、Ｃｙｌｄ、Ｃｃｎｂ１ｉｐ１、Ｍａｓｐ２、Ａｃａａ１ｂ、Ｃ４ａ、Ｓｎｏｒｄ９３、Ａｂｈｄ１、Ｓｅｒｐｉｎａ３ｈ、Ｈ２－Ｋ２、Ｃｄ１ｄ２、Ｈａｌ、Ｒｎｆ１５１、Ｒｂｍ４６、Ａｒｇ２、Ｍｉｒ８０９９－２、Ｉｇｓｆ２１、Ｏｌｆｒ３７３、Ｃ１ｓ２、Ｃｒｙｍ、Ａｒｖ１、Ｈｄｄｃ３、Ｐｌｐｐｒ４、Ｐｐｐ１ｒ１１、Ｒｐｓ３ａ２、Ｚｆｐ４５９、Ｒｎｄ１、Ｓｅｒｐｉｎａ１ａ、Ｖｃｐｋｍｔ、Ａｔｐ１０ｄ、Ｇｂｐ２ｂ、Ｈ２－Ｔ２４、Ｔｌｃｄ２、Ｃｔｓｅ、Ｈ２－Ｑ１０、Ｃｙｐ２ｃ５５、Ｂｏｒｃｓ８、Ｔｐｓａｂ１、Ｔｒｉｍ４３ｂ、Ｃｃ２ｄ１ａ、Ｓｅｒｐｉｎａ１ｄ、Ｃａｃｎａ１ａ、Ｋｃｎｊ１４、Ｔｔｃ１３、Ｆａｒｓａ、Ｏｌｆｒ１２１７、Ｊａｍｌ、Ｈ２－Ｂｌ、Ｔｎｐｏ２、Ｒｉｍｓ３、Ｄｏｃｋ９、Ｃａｒ５ｂ、Ａｔｐ１ａ４、Ｈ２－Ｑ１、Ｚｆｐ６９、Ｓｌｐｉ、Ｐｃｄｈｇｂ８、Ｏｃｅｌ１、Ｓｅｌｅｎｂｐ２、Ｎｓｄ３、Ｗｔ１、Ｎａｐ１ｌ２、Ｒａｎｂｐ９、Ｇｔｐｂｐ３、ＡＹ７６１１８５、Ｒｎａｓｅｔ２ａ、Ｓｅｒｐｉｎａ３ｉ、Ｅｌｌ２、Ｇａｌ３ｓｔ２ｂ、Ｕｒｂ２、Ｆ１２、Ｋｌｋ１、Ｉｆｉ２１４、Ｃｓｔｌ１、Ａｇｔｐｂｐ１、Ｍｓｈ５、Ｃｏｘ１８、Ｚｆｐ３３０、Ｔｔｃ３７、Ｋｌｋ４、Ｈ２－Ｑ５、Ｃｘｃｌ１１、Ｒａｂ３９、Ｐｍ２０ｄ１、Ｎｏｄ２、Ｈ２－ＤＭｂ２又はそれらの任意の組み合わせから選択される遺伝子又はタンパク質存在、レベル、又は活性化を決定することを含む。当業者によって直ちに理解されるように、ヒト対象について、層別化、予測又はモニタリング方法は、提供される遺伝子又はタンパク質のヒト対応物の存在、レベル又は活性化を決定することを含む。

【０６７４】

第２２の態様による第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａ７によれば、使用は、腫瘍応答を予測及びモニタリングするための炎症性又は抑制性サイトカインの存在又は量を決定することを含む。炎症性又は抑制性サイトカインの存在又は量の評価は、当技術分野で公知のように行われ得る。

【０６７５】

第２２の態様による第４の実施形態のいくつかの実施形態Ａ８によれば、使用は、免疫遺伝子発現の活性化に基づいて腫瘍応答を予測又はモニタリングすることを含む。免疫遺

伝子発現の活性化の測定は、当技術分野で公知の方法を使用して、例えば遺伝子セット濃縮分析を使用して、又は当技術分野で公知のマーカーベースアッセイを使用して行うことができる。さらに、層別化、予測又はモニタリングは、活性化Ｔｒｅｇ又は免疫細胞に特徴的な遺伝子シグネチャに基づいて行われ得る。

【０６７６】

第２２の態様による第４の実施形態のいくつかの非常に好ましい実施形態Ａ９によれば、使用は、ＰＤ－Ｌ１発現、ＰＤ－１発現又はＣＴＬＡ４発現等の免疫チェックポイントタンパク質発現に基づいて腫瘍応答を予測するために対象又は患者の群を層別化することを含むか、又は使用は、腫瘍応答を予測及びモニタリングするためのＰＤ－Ｌ１発現、ＰＤ－１発現又はＣＴＬＡ４発現等の免疫チェックポイントタンパク質発現レベルを決定することを含む。

【０６７７】

プログラム死リガンド１（ＰＤ－Ｌ１）は、腫瘍細胞を含む多くの組織型の表面に発現され得る免疫関連バイオマーカーである。ＰＤ－Ｌ１タンパク質発現は、Ｔｕｍｏｒ Ｐｒｏｐｏｒｔｉｏｎ Ｓｃｏｒｅ（ＴＰＳ）又は複合陽性スコア（ＣＰＳ）を使用することによって決定することができる。本発明によれば、驚くべきことに、抗ＣＣＲ８抗体による（単剤）療法に対する応答が、ＩＣＩ応答性腫瘍、特に（高い）ＰＤ－Ｌ１発現を有する腫瘍を有する対象について改善されることが見出された（実施例１２．７を参照）。

【０６７８】

この観察の後、本発明者らは、ＦｏｘＰ３＋Ｔｒｅｇ細胞による浸潤が同様に高いＰＤ－Ｌ１発現と関連することを見出した。したがって、本発明者らは、ＣＣＲ８を分析することが困難であり、したがって抗ＣＣＲ８抗体処置から最も利益を得る可能性が高い対象集団を選択するために容易に使用することができないという問題を克服するために、ＰＤ－Ｌ１を層別化のための代用マーカーとして提案する。特に好ましい実施形態において、ＰＤ－Ｌ１発現は、ＣＰＳ又はＴＰＳに基づいて決定される。例えば、ＣＰＳ≧１、好ましくはＣＰＳ≧５、最も好ましくはＣＰＳ≧１０によって示されるように、又はＴＰＳ≧１％、好ましくはＴＰＳ≧１０％、最も好ましくはＴＰＳ≧５０％によって示されるように、ＰＤ－Ｌ１発現が存在するか又は高い場合、対象又は患者は抗ＣＣＲ８抗体による処置に適格であると判定される。

【０６７９】

態様２３－更なる使用及び診断的使用

本明細書中に記載されるような抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８抗体、断片及びコンジュゲートは、ｉｎ ｖｉｔｒｏ、ｉｎ ｖｉｖｏ及びｅｘ ｖｉｖｏでの適用又は診断のために、例えば、活性化Ｔｒｅｇ又は腫瘍内Ｔｒｅｇ等のケモカイン受容体又はＣＣＲ８発現細胞の精製又は固定化を補助するために、種々の目的のために使用され得る。具体的な例として、抗体は、生物学的試料中のケモカイン受容体又はケモカイン受容体発現細胞のレベルを定性的及び／又は定量的に測定するためのイムノアッセイに使用することができる（例えば、Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｓｅｃｏｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，１９８８）を参照）。

【０６８０】

例えば、抗ケモカイン受容体抗体、抗ＣＣＲ８抗体又はその抗原結合断片は、ケモカイン受容体又はＣＣＲ８発現腫瘍の存在を検出するために使用することができる。血清及び組織生検標本を含む様々な生物学的試料内のケモカイン受容体若しくはＣＣＲ８発現細胞又はシェッドケモカイン受容体（ｓｈｅｄ ｃｈｅｍｏｋｉｎｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒ）若しくはＣＣＲ８の存在又はレベルを分析することができる。さらに、抗ケモカイン受容体又は抗ＣＣＲ８抗体は、９９Ｔｃ（又は異なる同位体）コンジュゲート抗体を用いた免疫シンチグラフィー等の様々なイメージング方法で使用され得る。例えば、１１１ Ｉｎコンジュゲート抗ＰＳＭＡ抗体を使用して記載されたものと同様のイメージングプロトコルを使用して、癌を検出することができる（Ｓｏｄｅｅ，Ｄ．Ｂｒｕｃｅ，ｅｔ ａｌ．“

Ｐｒｅｌｉｍｉｎａｒｙ Ｉｍａｇｉｎｇ Ｒｅｓｕｌｔｓ Ｕｓｉｎｇ Ｉｎ－１１１ Ｌａｂｅｌｅｄ ＣＹＴ－３５６（Ｐｒｏｓｔａｓｃｉｎｔｓｔ）ｉｎ ｔｈｅ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｒｅｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｓｔａｔｅ Ｃａｎｃｅｒ．”Ｃｌｉｎｉｃａｌ ｎｕｃｌｅａｒ ｍｅｄｉｃｉｎｅ ２１．１０（１９９６）：７５９－７６７．）。使用することができる別の検出方法は、例えば、本発明の抗体を適切な同位体と結合させることによる陽電子放射断層撮影法である（Ｈｅｒｚｏｇ，Ｈａｎｓ，ｅｔ ａｌ．“Ｍｅａｓｕｒｅｍｅｎｔ ｏｆ ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ ｏｆ ｙｔｔｒｉｕｍ－８６ ｒａｄｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ ｗｉｔｈ ＰＥＴ ａｎｄ ｒａｄｉａｔｉｏｎ ｄｏｓｅ ｃａｌｃｕｌａｔｉｏｎ ｏｆ ａｎａｌｏｇｏｕｓ ｙｔｔｒｉｕｍ－９０ ｒａｄｉｏｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ．”Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｎｕｃｌｅａｒ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ ３４．１２（１９９３）：２２２２－２２２６を参照）。

【０６８１】

第２３の態様によれば、診断用途又は診断に使用するための、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様に記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は第１９の態様に記載のコンジュゲート又は第２０の態様に記載の医薬組成物が提供される。

【０６８２】

第２３の態様のいくつかの第１の実施形態において、ｉｎ ｖｉｖｏでの診断方法において使用するための、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様による抗体若しくは抗原結合断片、又は第１９の態様によるコンジュゲート若しくは第２０の態様による医薬組成物が提供される。使用は、腫瘍又はケモカイン受容体陽性細胞、例えばＣＣＲ８陽性細胞、例えばＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞を特徴とする疾患の診断のための使用であり得る。例えば、ケモカイン受容体陽性細胞を特徴とする腫瘍又は疾患は、Ｔ細胞急性リンパ芽球性白血病、乳癌、トリプルネガティブ乳癌、トリプルポジティブ乳癌、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、小細胞肺癌（ＳＣＬＣ）、精巣癌、胃癌、頭頸部扁平上皮癌、胸腺腫、食道腺癌、結腸直腸癌、膵臓腺癌、卵巣癌又は子宮頸癌、急性骨髄性白血病、腎臓癌、膀胱癌、皮膚癌、黒色腫、甲状腺癌、中皮腫、肉腫及び前立腺癌から選択される。いくつかの好ましい実施形態によれば、ｉｎ ｖｉｖｏでの診断方法における使用は、頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、及び／又は前立腺癌、又は本明細書に記載される任意の他の腫瘍の診断における使用である。

【０６８３】

いくつかの好ましい実施形態によれば、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様に記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は第１９の態様に記載のコンジュゲート若しくは第２０の態様に記載の医薬組成物は、処置、例えば本明細書に記載の疾患の処置のための対象又は患者の層別化に使用される。

【０６８４】

態様２４－ＣＣＲ８抗体に対するＤＮＡ／ＲＮＡ

第２４の態様によれば、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様の抗体又は抗原結合断片をコードするポリヌクレオチドが提供される。好ましくは、この態様によるポリヌクレオチドは、配列表に従って提供されるポリヌクレオチドである。

【０６８５】

態様２５－抗体用ベクター

第２５の態様によれば、第２４の態様に記載のポリヌクレオチドを含むベクターが提供される。様々な適切なベクター系が当技術分野で公知であるか、又は本明細書に記載されている。

【０６８６】

態様２６－抗体産生細胞

第２６の態様によれば、第６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７及び／又は１８の態様の抗体又は抗原結合断片の産生のために配置された単離細胞が提供される。好ましくは、本態様による単離細胞は、第２５の態様によるベクターを含むＣＨＯ又はＨＥＫ細胞等の真核細胞である。別の好ましい実施形態において、細胞はラット骨髄腫ＹＢ２／０細胞である。

【０６８７】

態様２７－抗体の製造方法

第２７の態様によれば、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様に記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は第１９の態様に記載のコンジュゲートを産生する方法であって、第２６の態様に記載の細胞を培養すること、及び抗体若しくは抗原結合断片を精製してもよいことを含む方法が提供される。いくつかの非常に好ましい実施形態において、本方法は、本明細書の他の箇所に記載される抗体のアフコシル化を含む。いくつかの実施形態において、本方法は、抗体の精製を含む。

【０６８８】

例えば、本発明の抗体は、以下に記載の精製方法により精製されてもよい。記載される精製プロセスは、広範囲のモノクローナルＩｇＧ抗体に適しており、単回使用又はステンレス鋼バイオリアクターからの予想収穫量が例えば２０００Ｌで、最大８ｇ／Ｌのバイオリアクター力価に最適化される。適切な改変により、他の力価範囲の抗体培養物を処理することができる。細胞培養物を回収し、深層濾過及び／又は荷電濾過によって清澄化する。清澄化された収穫物を、単回使用バッグ又は任意の冷却を伴うステンレス鋼保管タンクに保管する。

【０６８９】

一般的なプロセス条件

閉鎖処理及び使い捨てシステムが好ましく、ステンレス鋼のスキッド又はシステムもまた、適切な洗浄及び交換手順によって可能である。使い捨てバッグは、典型的には、接触層として低密度又は超低密度ポリエチレンである。とりわけ、酢酸ナトリウム／酢酸又はＴｒｉｓ／Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝系は、特に明記しない限り、通常は５０ｍＭの総濃度で使用され、５０ｍＭのＮａＣｌを含む。それぞれの単位操作（例えば、ロード、溶離液又はフロースルー）の緩衝液及びプロセス中間体は、通常、例えばＰＥＳ膜及び／又はフリース濾過器を使用して、インライン又は濾過アセンブリで０．２μｍ濾過される。これらの溶液は、通常、周囲（例えば１８～２６℃）条件又は２～８℃の条件で、使い捨てバッグ又はステンレス鋼容器に保管される。

【０６９０】

捕捉

抗体捕捉は、例えばＣｙｔｉｖａ ＭａｂＳｅｌｅｃｔ ＳｕＲｅ、ＭａｂＳｅｌｅｃｔ ＳｕＲｅ ＬＸ、Ｍａｂ Ｓｅｌｅｃｔ ＰｒｉｓｍＡ又はＰｕｒｏｌｉｔｅ Ａ５０樹脂を利用するプロテインＡベースのクロマトグラフィーを使用して行われる。充填は、限外濾過による予備濃縮の有無にかかわらず、清澄化後に行われる。負荷密度は、典型的には、カラム上に清澄化された収穫物を適用するために単一又は可変流量を使用して４５～７５ｇ／Ｌである（１２０～４００ｃｍ／ｈ）。クロマトグラフィーは、１つ以上のカラムを用いてバッチモードで、又は最大８本のカラムを用いて連続（ＭＣＣ（マルチカラムクロマトグラフィー）／ＳＭＢ（擬似移動床））モードで行うことができる。事前充填カラム又は自己充填カラムは、バッチモードのために２０ｃｍの典型的なベッド高さで使用される。連続モードでは、清澄化された収穫物の樹脂への１～４分の接触時間を目標とする。捕捉は、抗体価に応じて１サイクル又は複数サイクルで行われる。負荷の前に、カラムをトリス緩衝液（例えばｐＨ　７）を用いて平衡化する；少なくとも２回の洗浄工程（第１の洗浄緩衝液中の高ＮａＣｌ濃度、次いで酢酸緩衝液中の第２の緩衝液（例えば、１回目の洗浄：１Ｍ　ＮａＣｌ、ｐＨ　５．５；２回目の洗浄：５０ｍＭ　ＮａＣｌ、

ｐＨ６．０）中の低ＮａＣｌ濃度）で洗浄を行う。溶出は、例えば、ＵＶ又は体積制御溶出液収集を用いて、典型的には≦５カラム体積（ＣＶ）で０～５０ｍＭのＮａＣｌを含有する低ｐＨ（例えば３．５）酢酸塩緩衝液によって達成され得る。溶出液をプールし、この工程で又はウイルス不活化後に十分に混合することができる。アフィニティーカラムを３ＣＶ以上の酢酸（例えば、０．１Ｍ、５００ｍＭ　ＮａＣｌを含む）によって再生し、衛生化（クリーンインプレース（ｃｌｅａｎ－ｉｎ－ｐｌａｃｅ）、ＣＩＰ）を０．５～１．０Ｍ　ＮａＯＨで３０分間行い、４ＣＶ以上で再平衡化する。カラムを、例えば２０％ＥｔＯＨ又は２％ＢｎＯＨ中で保管する。

【０６９１】

あるいは、清澄化された収穫物からの親和性捕捉は、上記で概説したものと同じ負荷スキーム及び緩衝系を使用して、セルロース構造（例えばＦｉｂｒｏ　ＰｒｉｓｍＡ）上の親和性リガンドを用いて行うことができる。再生又はＣＩＰブロックは、最適な処理時間のためにスキップされ得る。５～２０秒の接触時間は、様々なサイズのＦｉｂｒｏ単位（例えば０．４ｍＬ～２．４Ｌ）に適用することができる。典型的には、２５～３５ｇ／Ｌ単位体積の負荷容量を実現することができる。Ｆｉｂｒｏユニット及びバイオリアクタサイズ並びに抗体培養の力価に応じて、単一のユニットを使用して単一のバッチ又は複数のバッチを処理することができる。親和性負荷材料は、寿命使用を最大にし、汚損を最小にするために、負荷前に＞３００Ｌ／ｍ２のスループットで帯電フィルターによって更に清澄化することができる。

【０６９２】

低ｐＨウイルス不活化

捕捉溶出液をＨＯＡｃ又はＨＣｌでｐＨ　３．７～３．９に調整し、１８℃以上の同じ又は別々のバッグ内で１２０～２４０分間保持して、潜在的に存在するウイルスを不活化する。あるいは、ウイルス不活化をｐＨ３．４～３．６で＞３０分間行う。次いで、プロセス中間体を貯蔵条件又は更なる処理条件、例えば１～２　Ｍ　Ｔｒｉｓ／－ＨＣｌ滴定ストックを使用してｐＨ　４～７に調整する。

【０６９３】

最終精製１

プロセス関連及び／又は生成物関連の不純物及び粒子を除去するために、抗体を、典型的には膜カプセル又はカセット（例えば、Ｓａｒｔｏｒｉｕｓ　Ｓａｒｔｏｂｉｎｄ　ＳＴＩＣ　ＰＡ　４　ｍｍ又は３Ｍ　ＭＡ　ＳＴ　Ｐｏｌｉｓｈｅｒ）の形態でフロースルーモードで、流速≦３５０ＭＶ／ｈで陰イオン交換クロマトグラフィー（ＡＥＸ）によって更に最終精製する。１つのバッチからの全量は、抗体量に応じて、１回又は複数回のサイクルで処理することができる。負荷の前に、中間体は、塩基性等電点を有する抗体について、例えば８～２０　ｍＳ／ｃｍの目標導電率及び例えば７．０の目標ｐＨに調整される。ｐＨ７．０より低い等電点を有する抗体の場合、導電率は５～２０ｍＳ／ｃｍであり得、ｐＨはその等電点とｐＨ５．０との間であり得る。膜は、トリス緩衝液ｐＨ７．０又は酢酸塩緩衝液ｐＨ５～６で平衡化され、典型的には０．５～１０ｇ抗体／ｍＬ膜体積（ＭＶ）の間の密度で負荷される。平衡緩衝液を用いた追跡を実施し、収集したフロースルーと組み合わせてもよく、その収集基準は、例えばＵＶ又は体積によって制御される。膜吸着器は、１回又は複数回使用されてもよく、そのために再生され（２５ＭＶに対して１Ｍ　ＮａＣｌ）、再平衡化される（Ｔｒｉｓ　緩衝液ｐＨ７．０）。

【０６９４】

最終精製２

最終精製は、例えば、陽イオン交換クロマトグラフィー（ＣＥＸ）によって達成することができる。原則として、ＡＥＸ及びＣＥＸ単位操作の順序は逆であってもよい。ＣＥＸ単位操作は、通常、１００～２００　ｃｍ／ｈの流量で結合及び溶出モードで行われる。

【０６９５】

樹脂、例えばＣｙｔｉｖａ　Ｃａｐｔｏ　Ｓ　ＩｍｐＡｃｔ又はＣａｐｔｏ　ＳＰ　ＩｍｐＲｅｓを含む事前充填カラム又は自己充填カラムは、ベッド高さ２０　ｃｍで使用され

得る。最終精製工程は、抗体量に応じて１サイクル又は複数サイクルで行う。必要に応じて、ＨＯＡｃ、トリス滴定剤又はＷＦＩを用いて、５～９　ｍＳ／ｃｍ及びｐＨ　４．５～７．５の間の目標導電率になるように負荷を調整してもよい。負荷を、≧５　ＣＶの酢酸塩緩衝液（ＣＥＸ負荷に適合したｐＨ及び導電率）で平衡化したＣＥＸカラムに４０～１０５　ｇ／Ｌの典型的な密度で適用し、≧５　ＣＶの同じ緩衝液を使用してその後洗浄する。抗体を、適切なＮａＣｌ濃度を有する酢酸緩衝液（＞５０　ｍＭ；５００ｍＭ未満）を用いて溶出し、溶出液を、典型的には≦１０　ＣＶの収集された溶出液体積でＵＶ制御によって収集する。酢酸緩衝液中０．５～２Ｍ　ＮａＣｌを使用してカラムを再生し、再平衡化し（ＣＥＸ平衡化緩衝液で５ＣＶ以上）、消毒し（０．５～１．０Ｍ　ＮａＯＨで３０分以上）、再平衡化し（ＣＥＸ平衡化緩衝液で５ＣＶ以上）、最後に例えば２０％ＥｔＯＨ又は２％ＢｎＯＨ中で保存する。

【０６９６】

追加の最終精製

残留生成物又はプロセス関連不純物を除去するために追加の最終精製が必要な場合、ＣＥＸ工程の代わりに、又はＣＥＸ工程と共に、混合モードクロマトグラフィー（ＭＭＣ）を使用することができる。混合モードのクロマトグラフィー樹脂の例は、Ｃａｐｔｏ　ａｄｈｅｒｅ及びＣａｐｔｏ　ＭＭＣ　ＩｍｐＲｅｓである。この単位操作は、典型的にはフロースルーモードで操作されるが、結合溶出モードも採用され得る。カラムは、様々な直径で５～２０ｃｍのベッド高さで自己充填又は事前充填することができ、フロースルーモードで１００～５００ｃｍ／時又は結合溶出モードで１００～２２０ｃｍ／時の流量で操作することができる。

【０６９７】

負荷は、典型的には、必要に応じて、ＨＯＡｃ、Ｔｒｉｓ滴定剤又はＷＦＩを用いて３～１２ｍＳ／ｃｍ及びｐＨ４．２～７．５の導電率を目標とするように調整される。負荷は、≧５ＣＶの酢酸塩緩衝液（ＭＭＣ負荷に適合したｐＨ及び導電率）で平衡化したＭＭＣカラム上に７５～３００ｇ／Ｌの間の典型的な密度で適用される。平衡緩衝液を用いた追跡を実施し、収集したフロースルーと組み合わせてもよく、その収集基準は、例えばＵＶ又は体積によって制御される。ＭＭＣカラムは、最終精製される抗体の量に応じて、１回又は複数回使用され得る。酢酸緩衝液中０．５～２ＭＮａＣｌを使用してカラムを再生し、再平衡化し（平衡緩衝液で５ＣＶ以上）、消毒し（０．５～１．０Ｍ　ＮａＯＨで３０分以上）、最後に例えば２０％ＥｔＯＨ又は２％ＢｎＯＨ中で保存する。

【０６９８】

ナノ濾過

潜在的に残っている外来性ウイルスは、ＰＤＶＦベースのナノ濾過によって、例えばプレフィルターあり又はなしでＰｌａｎｏｖａ　ＢｉｏＥＸを使用して除去される。負荷は、１５００～５０００ｇ抗体／ｍ^{2}の負荷密度で一定の圧力（例えば２．０～３．４バール）で予備平衡化ナノフィルター（５Ｌ／ｍ^{2}以上の酢酸緩衝液、レシピ、例えばＭＡ　ＡＥＸ又はＣＥＸ溶出条件と一致）に適用される。フィルターは同じ緩衝液を使用して追跡することができ、フィルターの完全性は通常、使用後に試験される。完全性試験に失敗すると、この工程を繰り返すことができる。あるいは、外来ウイルスは、プレフィルターを用いて又は用いずにセルロース系ナノ濾過によって除去することができる。負荷は、５００～２０００ｇ抗体／ｍ^{2}の負荷密度で一定の圧力（例えば０．８～１．２バール）で予備平衡化ナノフィルター（５Ｌ／ｍ^{2}以上の酢酸緩衝液、レシピ、例えばＭＡ　ＡＥＸ又はＣＥＸ溶出条件と一致）に適用される。

【０６９９】

濃度及び緩衝液交換

中間体を限外濾過によって１５～１１０ｇ／Ｌに濃縮し、ダイアフィルトレーション緩衝液（ＤＦＢ）（例えば、１０ｍＭヒスチジン、１０ｍＭメチオニン、３０ｍＭアルギニン、ｐＨ５．３）に対して≧６ダイアフィルター体積でダイアフィルターし、必要に応じて更に２００ｇ／Ｌまで濃縮する。これは、典型的には、タンジェンシャルフロー濾過デ

バイス及び３０～５０ｋＤａ（例えば、Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ Ｐｅｌｌｉｃｏｎ、Ｓａｒｔｏｒｉｕｓ Ｈｙｄｒｏｓａｒｔ、Ｐａｌｌ Ｏｍｅｇａ）のカットオフを有する適切な膜を使用して、典型的には３００～１０００ｇ抗体／ｍ^{2}の負荷で行われる。このプロセスは、典型的には、供給流又は保持液流（例えば、２～７Ｌ／分／ｍ^2）によって、あるいは供給圧力（２～４バール）によって、及びＴＭＰ（０．７～２バール）によって制御される。膜をＤＦＢによって追跡し、プールされた保持液を目標濃度までＤＦＢで希釈してもよい。ＴＦＦ系及び膜を０．５Ｍ ＮａＯＨで消毒し、酢酸緩衝液又はＤＦＢで平衡化する。膜の完全性又は透過性は、使用前に試験される。

【０７００】

安定化

任意の安定化工程において、賦形剤濃縮物を添加して原薬（ＢＤＳ）を製造する。バイオバーデン還元濾過（例えば０．２μｍ）は、例えば使用後に完全性について試験される予備平衡化フィルター（例えば、ＤＦＢで希釈した賦形剤濃縮物）を使用して実施される。完全性試験に失敗したら、濾過工程を繰り返してもよい。

【０７０１】

充填及び凍結

ＢＤＳを、好ましくは無菌的に接続及び切断される個々のｉ．ｄ．サンプリング区画を有するＬＤＰＥ接触層を有する適切なバッグ（例えば５又は１０Ｌ）に充填する。バッグは、任意の真空封止（ＬＤＰＥオーバーラップバッグ）によって個別に保護包装され、保護シェル（例えば、ＲｏＳＳシェル）内に配置される。任意の中間的な２～８℃での保管の後、シェル化したバッグを（プレート又は受動的な冷凍庫を使用して）凍結し、続いて≦－３０又は≦－６０℃、例えば＋／－５℃、あるいは≦－２５又は≦－６０℃、例えば＋／－５℃で貯蔵する。

【０７０２】

態様２８－抗原によって定義された抗体を有する部分のキット

第２８の態様によれば、第６、第７、第８、第９、第１０、第１１、第１２、第１３、第１４、第１５、第１６、第１７及び／又は第１８の態様に記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は第１９の態様に記載のコンジュゲート、又は第２０の態様に記載の医薬組成物を使用説明書と共に含むキットが提供される。

【０７０３】

本発明の抗体、断片、コンジュゲート又は医薬組成物は、キット、すなわち、説明書を備えた１つ以上の容器内の所定量の試薬の包装された組み合わせで提供することができる。例えば、抗体、断片又はコンジュゲートが治療用抗体、断片又はコンジュゲートである場合、使用説明書は添付文書を含み得る。例えば、添付文書は、本明細書中に記載されるような有利な投与様式又は併用処置を記載する情報を含み得る。

【０７０４】

例えば、抗体が酵素で標識されている場合、キットは、酵素が必要とする基質及び補因子（例えば、検出可能な発色団又は蛍光団を提供する基質前駆体）を含み得る。さらに、安定剤、緩衝剤（例えば、ブロック緩衝液又は溶解緩衝液）等の他の添加剤を含んでもよい。様々な試薬の相対量は、アッセイの感度を実質的に最適化する試薬の溶液中の濃度を提供するために広く変化させることができる。特に、試薬は、溶解時に適切な濃度を有する試薬溶液を提供する賦形剤を含む、通常は凍結乾燥された乾燥粉末として提供され得る。

【０７０５】

態様２９－抗ＣＣＲ８抗体を含む併用処置

一態様によれば、抗ＣＣＲ８抗体、及び腫瘍の治処置に使用するための更なる治療活性化合物又は治療法が提供され、更なる治療活性化合物は、

ａ）化学療法剤、好ましくはタキサン、ドキソルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン若しくはゲムシタビン、

ｂ）ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣ

Ｒ８、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体、

ｃ）腫瘍細胞によって特異的に発現されるタンパク質を標的とする抗体、

ｄ）ＨＥＲ２及び／又はＥＧＦＲを標的とする抗体又は小分子、

ｅ）頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、及び／又は前立腺癌のいずれかに対する標準治療、

ｆ）ソラフェニブ、レゴラフェニブ若しくはＭＥＫｉ－１等の標的化キナーゼ阻害剤、及び／又は

ｇ）放射線療法である。

【０７０６】

言い換えれば、腫瘍の処置に使用するための抗ＣＣＲ８抗体、好ましくは本明細書の他の箇所に記載されるようなＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰを誘導する抗ＣＣＲ８抗体が提供され、使用は、チェックポイントタンパク質を標的とせず、以下から選択される更なる治療活性化合物又は治療法の投与を含む：

ｈ）化学療法剤、好ましくはタキサン、パクリタキセル、ドキソルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン若しくはゲムシタビン、

ｉ）ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体、

ｊ）腫瘍細胞によって特異的に発現されるタンパク質を標的とする抗体、

ｋ）ＨＥＲ２及び／又はＥＧＦＲを標的とする抗体又は小分子、

ｌ）頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、及び／又は前立腺癌のいずれかに対する標準治療、及び／又は

ｍ）ソラフェニブ、レゴラフェニブ若しくはＭＥＫｉ－１等の標的化キナーゼ阻害剤、

ｎ）放射線療法、及び／又は

ｏ）（化合物又は抗体）腫瘍内Ｂ細胞、好ましくはＣＤ１９＋Ｂ細胞の枯渇化。

【０７０７】

抗ＣＣＲ８抗体は、本明細書に記載の本発明の抗ＣＣＲ８抗体、又は当技術分野で公知の任意の更なる治療上適切な抗ＣＣＲ８抗体であり得る。腫瘍は、例えば第２２の態様について本明細書に記載される任意の腫瘍であり得る。好ましくは、腫瘍又は疾患は、ケモカイン受容体陽性細胞、例えばＣＣＲ８陽性細胞、例えばＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞又はＣＣＲ８陽性腫瘍細胞によって特徴付けられる。好ましくは、腫瘍はＩＣＩ応答性腫瘍である。本明細書中に記載される実施例（例えば、実施例１２．６ｆｆ．応答マウスモデルを参照）に基づいて、特に、免疫チェックポイント阻害に対して応答性であるか又は最初に応答性であった腫瘍が、単独で及び組み合わせて両方で抗ＣＣＲ８抗体処置から利益を得ることはもっともらしい。更なる治療活性化合物は、本明細書の他の箇所に記載される治療活性化合物であり得る。適切なタキサンは、例えばパクリタキセル、アブラキサン、カバジタキセル、若しくはドセタキセル、又はそれらの誘導体から選択され得る。好ましい実施形態によれば、使用は、例えば本明細書の他の箇所に記載されるように、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体又はＣＴＬＡ４抗体等のチェックポイント阻害剤の投与を更に含む。

【０７０８】

態様３０－抗ＣＣＲ８抗体を含む三重の併用処置

一態様によれば、抗ＣＣＲ８抗体、チェックポイント阻害剤、例えば抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体又はＣＴＬＡ４抗体、及び腫瘍の処置に使用するための更なる治療活性化合物又は治療法が提供され、更なる治療活性化合物又は治療法は、好ましくは、

ａ）ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸ

ＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体、
ｂ）腫瘍細胞によって特異的に発現されるタンパク質を標的とする抗体、
ｃ）ＨＥＲ２及び／又はＥＧＦＲを標的とする抗体又は小分子、
ｄ）頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、及び／又は前立腺癌のいずれかに対する標準治療、及び／又は
ｅ）化学療法剤、好ましくはタキサン、パクリタキセル、ドキソルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン若しくはゲムシタビン、
ｆ）ソラフェニブ、レゴラフェニブ若しくはＭＥＫｉ－１等の標的化キナーゼ阻害剤、及び／又は
ｇ）放射線療法、
ｈ）（化合物又は抗体）腫瘍内Ｂ細胞、好ましくはＣＤ１９＋Ｂ細胞の枯渇化である。

【０７０９】

言い換えれば、腫瘍の処置に使用するためのＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰを誘導する抗ＣＣＲ８抗体が提供され、該使用は、チェックポイントタンパク質を標的としない、以下から選択される、更なる治療活性化合物又は治療法の投与を含む：
ａ）化学療法剤、好ましくはタキサン、パクリタキセル、ドキソルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン若しくはゲムシタビン、
ｂ）ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体、
ｃ）腫瘍細胞によって特異的に発現されるタンパク質を標的とする抗体、
ｄ）ＨＥＲ２及び／又はＥＧＦＲを標的とする抗体又は小分子、
ｅ）ソラフェニブ、レゴラフェニブ若しくはＭＥＫｉ－１等の標的化キナーゼ阻害剤、
ｆ）放射線療法から選択される、更なる治療活性化合物又は治療法の投与を含み、及び／又は
腫瘍内Ｂ細胞、好ましくはＣＤ１９＋Ｂ細胞の枯渇化、及び使用は、例えば本明細書の他の箇所に記載されるような、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体又はＣＴＬＡ４抗体等のチェックポイント阻害剤の投与を更に含む。

【０７１０】

態様３１－抗ＣＣＲ８抗体を含む逐次併用処置
一態様によれば、抗ＣＣＲ８抗体、及び腫瘍の処置に使用するための更なる治療活性化合物又は療法が提供され、ここで、更なる治療活性化合物又は治療の用量は、抗ＣＣＲ８抗体の最初の用量、例えば、
ａ）抗ＣＣＲ８抗体が少なくとも２、３、４若しくは５倍の腫瘍内ＣＤ８細胞対Ｔｒｅｇ細胞比の増加をもたらした後、又は
ｂ）抗ＣＣＲ８抗体が腫瘍内Ｔｒｅｇ細胞の少なくとも４０、４５、５０、５５、６０、６５又は７０％を枯渇させた後に、投与される。

【０７１１】

換言すれば、腫瘍の処置に使用するための抗ＣＣＲ８抗体、好ましくは本明細書の他の箇所に記載されるようなＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰを誘導する抗ＣＣＲ８抗体が提供され、該使用は、更なる治療活性化合物又は治療法の投与を含み、該更なる治療活性化合物又は治療法の用量が、抗ＣＣＲ８抗体の初回用量の後、好ましくは
ａ）抗ＣＣＲ８抗体が少なくとも２、３、４若しくは５倍の腫瘍内ＣＤ８細胞対Ｔｒｅｇ細胞比の増加を誘導した後、又は
ｂ）抗ＣＣＲ８抗体が腫瘍内Ｔｒｅｇ細胞の少なくとも４０、４５、５０、５５、６０、６５又は７０％を枯渇させた後に投与される。

【０７１２】

好ましい処置スキームによれば、処置は、最初の用量の抗ＣＣＲ８抗体（例えば、上記

のように毎日、毎週、ｑ２ｗ、ｑ３ｗ又はｑ４ｗ）の投与から始まり、続いて更なる治療活性化合物又は治療法の投与を行う。理論に拘束されるものではないが、抗ＣＣＲ８抗体の初期用量と更なる治療活性化合物との間の時間は、少なくとも４０、５０、又は６０％の腫瘍内Ｔｒｅｇ枯渇を可能にするように選択されるべきである。抗ＣＣＲ８抗体は、本明細書に記載の本発明の抗ＣＣＲ８抗体であってもよいが、任意の更なる治療的に適切な抗ＣＣＲ８抗体であってもよい。腫瘍は、例えば第２２の態様について本明細書に記載される任意の腫瘍であり得る。好ましくは、腫瘍又は疾患は、ケモカイン受容体陽性細胞、例えばＣＣＲ８陽性細胞、例えばＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞又はＣＣＲ８陽性腫瘍細胞によって特徴付けられる。好ましくは、腫瘍は、ＩＣＩ応答性腫瘍であるか、又は最初はＩＣＩ応答性腫瘍であった。ＰＤ（Ｌ）に対する獲得耐性－１抗体は腫瘍内活性化制御性Ｔ細胞（ＣＣＲ８発現を特徴とする）によって強く影響され得るので、チェックポイント阻害剤と組み合わせた抗ＣＣＲ８抗体による逐次処置は、そのような獲得耐性を克服するのに有益である。抗ＣＣＲ８抗体の最初の用量の後に更なる治療活性化合物又は治療法を投与すると、極めて困難な腫瘍モデルであっても、処置の有効性が実質的に改善されることが分かった。抗ＣＣＲ８抗体の最初の用量と更なる治療活性化合物の用量との間の時間は、最初の抗腫瘍免疫応答を誘導するのに十分でなければならない。本明細書で提供されるデータ（実施例１２．６ｆｆを参照）によれば、これは、少なくとも２、３、４若しくは５倍の腫瘍内ＣＤ８細胞対Ｔｒｅｇ細胞比の増加によって、又は腫瘍内Ｔｒｅｇ細胞の少なくとも４０、４５、５０、５５、６０、６５若しくは７０％の（一時的な）枯渇によって示される。

【０７１３】

更なる治療活性化合物又は治療法は、本明細書の他の箇所に開示されている任意の化合物又は治療法であり得る。治療活性化合物は、チェックポイント阻害剤、例えば抗ＰＤ－Ｌ１抗体、抗ＰＤ１抗体又は抗ＣＴＬＡ４抗体であってもなくてもよい。第２の治療薬は非標的化治療薬であり得るが、標的化治療薬がこの目的のために非常に好ましいことが分かった。本明細書で定義される標的化治療薬は、全ての高速分裂細胞又は免疫細胞集団ではなく腫瘍細胞を特異的に認識する治療活性化合物である。全ての分裂細胞を標的とするか又は免疫細胞集団に影響を及ぼす薬剤を組み合わせて使用してもよく、有効性を改善することができる（実施例１２．６．８、１２．６．９を参照）が、持続可能な免疫学的腫瘍応答に必要な免疫細胞集団を妨害し得る。この問題は、腫瘍細胞によって特異的に発現されるタンパク質を標的とする抗体の使用によって解決された。好ましい標的化治療薬は、腫瘍細胞によって特異的に発現されるタンパク質に結合する抗体である。

【０７１４】

好ましくは、更なる治療活性化合物又は治療は、

ａ）ＰＤ－（Ｌ）１又はＣＴＬＡ－４等のチェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は小分子、

ｂ）化学療法剤、好ましくはタキサン、パクリタキセル、ドキソルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン若しくはゲムシタビン、

ｃ）ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体、

ｄ）腫瘍細胞によって特異的に発現されるタンパク質を標的とする抗体、

ｅ）ＨＥＲ２及び／又はＥＧＦＲを標的とする抗体又は小分子、

ｆ）ソラフェニブ、レゴラフェニブ若しくはＭＥＫｉ－１等の標的化キナーゼ阻害剤、

ｇ）頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、及び／又は前立腺癌のいずれかに対する標準治療、及び／又は

ｈ）放射線療法、及び／又は

ｉ）（化合物又は抗体）腫瘍内Ｂ細胞、好ましくはＣＤ１９＋Ｂ細胞の枯渇化から選択される。

【０７１５】
適切なタキサンは、例えばパクリタキセル、アブラキサン、カバジタキセル、若しくはドセタキセル、又はそれらの誘導体から選択され得る。
【０７１６】
好ましくは、更なる治療活性化合物又は治療の用量は、上述の更なる治療活性化合物又は治療の第１の用量である。
【０７１７】
態様３２－層別化方法／診断方法
５本明細書の他の箇所で説明するように、第２２の態様による第４の実施形態について説明した層別化工程は、第２２の態様による処置方法の一部として使用されてもよく、又は
ａ）抗ＣＣＲ８抗体による処置から最も利益を得る可能性が高い対象を選択する方法、ｂ）抗ＣＣＲ８抗体による処置に対して感受性であるとして腫瘍を診断するための診断方法、又は
ｃ）抗ＣＣＲ８抗体による処置について処置成功をモニターする方法として独立して提供される。
【０７１８】
本態様において、抗体は本発明による抗体であり得るが、任意の治療的に適切な抗ＣＣＲ８抗体であってもよい。
【０７１９】
抗ＣＣＲ８抗体処置のためのバイオマーカー
これまでのところ、抗ＣＣＲ８抗体の処置成功を予測又はモニターするために利用可能なバイオマーカーはない。実証された作用様式は、ＣＣＲ８自体が可能なバイオマーカーとして機能し得ることを示唆しているが、本発明者らは、ＣＣＲ８レベルが臨床設定又は臨床研究内で評価するのが幾分困難であることを見出した。この差し迫った問題を解決するために、本発明者らは仮説を作成し、これらのいくつかを優れた予測力を有する適切なバイオマーカーとして検証することができた（例えば、実施例１２．７．１及び１２．７．２を参照）。マーカー発現のレベルは、通常、当技術分野で公知のアッセイ又は方法を用いて決定され、レベルはその後、本明細書の他の箇所に記載される参照値と比較され、その後、処置応答を予測又はモニターするために使用される。
【０７２０】
抗ＣＣＲ８抗体による処置に感受性である腫瘍を有するとして対象を診断／層別化する方法に使用するためのバイオマーカーが提供され、該使用は、
ａ．制御性Ｔ細胞を含む腫瘍又は腫瘍試料中のバイオマーカーのレベルを決定することと、
ｂ．バイオマーカーのレベルを参照サンプル又は値と比較することと、
ｃ．バイオマーカーのレベルが参照試料又は値以上である場合、対象を、抗ＣＣＲ８抗体による処置に対して感受性である腫瘍を有すると診断する／層別化することとを含み、該バイオマーカーは、
ｄ．免疫チェックポイントタンパク質、好ましくはＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１若しくはＣＴＬＡ４、
ｅ．グランザイム又は免疫細胞マーカー、好ましくはリンパ球、エフェクター細胞、Ｔ細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、マクロファージ細胞、Ｍ１マクロファージ細胞、Ｍ２マクロファージ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞又はそれらの組み合わせに対するマーカー、
ｆ．Ｔｒｅｇ浸潤マーカー、好ましくはＣＣＲ８、ＦＯＸＰ３、ＩＣＯＳ、ＣＣＲ４、ＴＩＧＩＴ、Ｐ２ＲＹ１０、ＣＤ８０、ＴＮＦＲＳＦ９、ＣＤ３（Ｇ）、ＳＬＡＭＦ１、ＩＬ７Ｒ、ＩＬ２ＲＢ、ＣＴＬＡ４、ＣＤ５、ＩＴＫ、ＩＬ２ＲＡ、ＬＡＸ１、ＩＫＺＦ３、ＧＢＰ５、ＣＸＣＲ６、ＳＩＲＰＧ、ＣＤ２、ＣＳＦ２ＲＢ、ＳＬＡＭＦ７若しくはＣＸＣＬ９、
ｇ．好ましくはＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＸＣＲ３、ＣＣＲ５、４－１Ｂ

Ｂ、ＯＸ－４０若しくはＧＩＴＲから選択されるＴ細胞マーカー若しくは細胞傷害性Ｔ細胞マーカー、

ｈ．好ましくはＩＦＮガンマ、ＩＬ１０、ＩＬ１２ｐ７０、ＩＬ１ベータ、ＩＬ２及びＴＮＦアルファから選択されるインターフェロン若しくはインターフェロン誘導性タンパク質、

ｉ．補体因子、

ｊ．セルピン及び／又は

ｋ．表１２．７．２．１、１２．７．２．２又は１２．７．２．３による遺伝子に由来する分子である。

【０７２１】

好ましくは、バイオマーカーは免疫チェックポイントタンパク質、最も好ましくはＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１又はＣＴＬＡ４である。

【０７２２】

抗ＣＣＲ８抗体の投与を含む治療の治療成功を予測又はモニターするためのバイオマーカーの使用が提供され、該使用は、

ａ．サンプル中のバイオマーカーのレベルを決定することと、

ｂ．バイオマーカーのレベルを参照サンプル又は値と比較することとを含み、

該バイオマーカーは、

ｃ．免疫チェックポイントタンパク質、好ましくはＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１若しくはＣＴＬＡ４、

ｄ．グランザイム又は免疫細胞マーカー、好ましくはリンパ球、エフェクター細胞、Ｔ細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、マクロファージ細胞、Ｍ１マクロファージ細胞、Ｍ２マクロファージ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞又はそれらの組み合わせに対するマーカー、

ｅ．好ましくは、ＦＯＸＰ３、ＩＣＯＳ、ＣＣＲ４、ＴＩＧＩＴ、Ｐ２ＲＹ１０、ＣＤ８０、ＴＮＦＲＳＦ９、ＣＤ３（Ｇ）、ＳＬＡＭＦ１、ＩＬ７Ｒ、ＩＬ２ＲＢ、ＣＴＬＡ４、ＣＤ５、ＩＴＫ、ＩＬ２ＲＡ、ＬＡＸ１、ＩＫＺＦ３、ＧＢＰ５、ＣＸＣＲ６、ＳＩＲＰＧ、ＣＤ２、ＣＳＦ２ＲＢ、ＳＬＡＭＦ７若しくはＣＸＣＬ９から選択される、Ｔｒｅｇ浸潤マーカー、

ｆ．好ましくはＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＸＣＲ３、ＣＣＲ５、及びＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバー（４－１ＢＢ、ＯＸ－４０、又はＧＩＴＲ等）から選択されるＴ細胞マーカー又は細胞傷害性Ｔ細胞マーカー、

ｇ．好ましくはＩＦＮガンマ、ＩＬ１０、ＩＬ１２ｐ７０、ＩＬ１ベータ、ＩＬ２及びＴＮＦアルファから選択されるインターフェロン誘導性タンパク質、

ｈ．補体因子、

ｉ．セルピン及び／又は

ｊ．表１２．７．２．１、１２．７．２．２又は１２．７．２．３による遺伝子に由来する分子である。

【０７２３】

好ましくは、バイオマーカーは免疫チェックポイントタンパク質、最も好ましくはＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１又はＣＴＬＡ４である。

【０７２４】

さらに、抗ＣＣＲ８抗体による処置に対して感受性である腫瘍を有するとして対象を診断／層別化するための方法において使用するためのバイオマーカーに結合する分子も提供され、この使用は、バイオマーカーに結合する分子を使用して腫瘍又は腫瘍試料中のバイオマーカーのレベルを決定することを含み、バイオマーカーは（好ましくは）

ａ．免疫チェックポイントタンパク質、好ましくはＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１若しくはＣＴＬＡ４、

ｂ．グランザイム又は免疫細胞マーカー、好ましくはリンパ球、エフェクター細胞、Ｔ細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、マクロファージ細胞、Ｍ１マクロファージ細胞、Ｍ２マクロファージ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞又はそれらの組み合わせに対するマーカー

ｃ．Ｔｒｅｇ浸潤マーカー、好ましくはＣＣＲ８、ＦＯＸＰ３、ＩＣＯＳ、ＣＣＲ４、ＴＩＧＩＴ、Ｐ２ＲＹ１０、ＣＤ８０、ＴＮＦＲＳＦ９、ＣＤ３（Ｇ）、ＳＬＡＭＦ１、ＩＬ７Ｒ、ＩＬ２ＲＢ、ＣＴＬＡ４、ＣＤ５、ＩＴＫ、ＩＬ２ＲＡ、ＬＡＸ１、ＩＫＺＦ３、ＧＢＰ５、ＣＸＣＲ６、ＳＩＲＰＧ、ＣＤ２、ＣＳＦ２ＲＢ、ＳＬＡＭＦ７若しくはＣＸＣＬ９、

ｄ．好ましくはＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＸＣＲ３、ＣＣＲ５、４－１ＢＢ、ＯＸ－４０若しくはＧＩＴＲから選択されるＴ細胞マーカー若しくは細胞傷害性Ｔ細胞マーカー、

ｅ．好ましくはＩＦＮガンマ、ＩＬ１０、ＩＬ１２ｐ７０、ＩＬ１ベータ、ＩＬ２及びＴＮＦアルファから選択されるインターフェロン若しくはインターフェロン誘導性タンパク質、

ｆ．補体因子、

ｇ．セルピン、及び／又は

ｈ．表１２．７．２．１、１２．７．２．２又は１２．７．２．３による遺伝子に由来する分子、である。

【０７２５】

バイオマーカーに結合する分子は、好ましくは抗体若しくは抗原結合断片、又はそれらのコンジュゲートである。最も好ましくは、バイオマーカーに結合する分子は、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、ドスタリマブ又はイピリムマブ等の抗ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１又はＣＴＬＡ４抗体である。

【０７２６】

さらに、抗ＣＣＲ８抗体の投与を含む治療の治療的成功を予測又はモニターするためのバイオマーカーに結合する分子の使用が提供され、バイオマーカーに結合する分子を使用して腫瘍又は腫瘍試料中のバイオマーカーのレベルを決定することを含み、バイオマーカーは（好ましくは）、

ａ．免疫チェックポイントタンパク質、好ましくはＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１若しくはＣＴＬＡ４、

ｂ．グランザイム又は免疫細胞マーカー、好ましくはリンパ球、エフェクター細胞、Ｔ細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、マクロファージ細胞、Ｍ１マクロファージ細胞、Ｍ２マクロファージ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞又はそれらの組み合わせに対するマーカー、

ｃ．Ｔｒｅｇ浸潤マーカー、好ましくはＣＣＲ８、ＦＯＸＰ３、ＩＣＯＳ、ＣＣＲ４、ＴＩＧＩＴ、Ｐ２ＲＹ１０、ＣＤ８０、ＴＮＦＲＳＦ９、ＣＤ３（Ｇ）、ＳＬＡＭＦ１、ＩＬ７Ｒ、ＩＬ２ＲＢ、ＣＴＬＡ４、ＣＤ５、ＩＴＫ、ＩＬ２ＲＡ、ＬＡＸ１、ＩＫＺＦ３、ＧＢＰ５、ＣＸＣＲ６、ＳＩＲＰＧ、ＣＤ２、ＣＳＦ２ＲＢ、ＳＬＡＭＦ７若しくはＣＸＣＬ９、

ｄ．好ましくはＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＸＣＲ３、ＣＣＲ５、４－１ＢＢ、ＯＸ－４０若しくはＧＩＴＲから選択されるＴ細胞マーカー若しくは細胞傷害性Ｔ細胞マーカー、

ｅ．好ましくはＩＦＮガンマ、ＩＬ１０、ＩＬ１２ｐ７０、ＩＬ１ベータ、ＩＬ２及びＴＮＦアルファから選択されるインターフェロン若しくはインターフェロン誘導性タンパク質、

ｆ．補体因子、

ｇ．セルピン、及び／又は

ｈ．表１２．７．２．１、１２．７．２．２又は１２．７．２．３による遺伝子に由来する分子、であり、

バイオマーカーに結合する分子は、好ましくは抗体若しくは抗原結合断片、又はそれらのコンジュゲートである。最も好ましくは、バイオマーカーに結合する分子は、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、ドスタリマブ又はイピリムマブ等の抗チェックポイント、抗ＰＤ－１、抗ＰＤ－Ｌ１又は抗ＣＴＬＡ４抗体である。

【０７２７】
本態様の好ましい実施形態において、バイオマーカーは免疫細胞マーカーであり、バイオマーカーに結合する分子は、好ましくはリンパ球、エフェクター細胞、Ｔ細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、マクロファージ細胞、Ｍ１マクロファージ細胞、Ｍ２マクロファージ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、又はそれらの組み合わせに対するマーカーに結合する抗体である。
【０７２８】
本態様の好ましい実施形態において、バイオマーカーに結合する分子は、Ｔｒｅｇ浸潤マーカーに結合する分子、好ましくは抗体結合ＣＣＲ８、ＦＯＸＰ３、ＩＣＯＳ、ＣＣＲ４、ＴＩＧＩＴ、Ｐ２ＲＹ１０、ＣＤ８０、ＴＮＦＲＳＦ９、ＣＤ３（Ｇ）、ＳＬＡＭＦ１、ＩＬ７Ｒ、ＩＬ２ＲＢ、ＣＴＬＡ４、ＣＤ５、ＩＴＫ、ＩＬ２ＲＡ、ＬＡＸ１、ＩＫＺＦ３、ＧＢＰ５、ＣＸＣＲ６、ＳＩＲＰＧ、ＣＤ２、ＣＳＦ２ＲＢ、ＳＬＡＭＦ７又はＣＸＣＬ９である。
【０７２９】
本態様の好ましい実施形態において、バイオマーカーに結合する分子は、好ましくはＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＸＣＲ３、ＣＣＲ５、及び４－１ＢＢ、ＯＸ－４０、又はＧＩＴＲを含むＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバーから選択されるＴ細胞マーカーに結合する抗体である。
【０７３０】
本態様の好ましい実施形態において、バイオマーカーに結合する分子は、好ましくはＩＮＦガンマ、ＩＬ１０、ＩＬ１２ｐ７０、ＩＬ１ベータ、ＩＬ２及びＴＮＦアルファから選択されるインターフェロン又はインターフェロン誘導性タンパク質に結合する抗体である。
【０７３１】
抗ＣＣＲ８抗体処置のためのバイオマーカーとしての免疫チェックポイントタンパク質本発明によれば、驚くべきことに、抗ＣＣＲ８抗体による（単剤）療法に対する応答が、少なくとも最初にＩＣＩ処置、特に抗ＰＤ－（Ｌ）１又はＣＴＬＡ４抗体処置に応答した対象について改善されることが見出された（例えば、表１２．７．１を参照）。ＰＤ－Ｌ１発現は抗ＰＤ－Ｌ１抗体処置に対する応答性の予測因子であるので、本発明者らは、ＰＤ－Ｌ１発現及びチェックポイントタンパク質発現自体もまた、抗ＣＣＲ８抗体処置に対する応答を直接予測するのに適し得ると仮定した。この仮説は、ＰＤ－Ｌ１発現と抗ＣＣＲ８抗体処置応答との間の相関データによって確認することができた（表１２．８．１）。ＰＤ－Ｌ１発現は、当技術分野で公知のように、例えば、限定されないが、Ｔｕｍｏｒ Ｐｒｏｐｏｒｔｉｏｎ Ｓｃｏｒｅ（ＴＰＳ）、複合陽性スコア（ＣＰＳ）又はｍＲＮＡ発現を使用することによって決定することができる。したがって、本発明者らは、免疫チェックポイントマーカー、特にＰＤ－Ｌ１を層別化のための代用マーカーとして示唆して、ＣＣＲ８は分析が困難であり、したがって抗ＣＣＲ８抗体処置から最も利益を得る可能性が高い患者集団を選択するために実施することが困難であるという問題を克服する。
【０７３２】
したがって、抗ＣＣＲ８抗体による処置に対して感受性である腫瘍を有するとして対象を診断／層別化するための方法において使用するための免疫チェックポイントタンパク質に結合する分子が提供され、該方法は、
ａ．腫瘍（サンプル）における免疫チェックポイントタンパク質発現のレベルを決定することと、
ｂ．免疫チェックポイントタンパク質発現のレベルを参照試料又は値と比較することと、
ｃ．免疫チェックポイントタンパク質発現のレベルが参照試料又は値以上である場合、対象を、抗ＣＣＲ８抗体による処置に対して感受性である腫瘍を有すると診断する／層別化することと、を含む。
【０７３３】
さらに、抗ＣＣＲ８抗体療法の処置成功をモニタリングするための免疫チェックポイン

トタンパク質に結合する分子の使用が提供され、該方法は、
ａ．腫瘍（サンプル）／サンプルにおける免疫チェックポイントタンパク質発現のレベルを決定することと、
ｂ．免疫チェックポイントタンパク質発現のレベルを参照試料又は値と比較することと、を含む。
【０７３４】
免疫チェックポイントタンパク質に結合する分子は、好ましくは抗体である。免疫チェックポイントタンパク質は、好ましくはＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１又はＣＴＬＡ４である。免疫チェックポイントタンパク質に結合する分子は、好ましくは、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１又はＣＴＬＡ４に結合する抗体である。例えば、抗体は、ＰＤ－Ｌ１　２８－８、ＰＤ－Ｌ１　２２Ｃ３、ＰＤ－Ｌ１　ＳＰ１４２、ＰＤ－Ｌ１　ＳＰ２６３、又はコンパニオン診断として当技術分野で公知の任意の他の適切な抗体であり得る。特に好ましい実施形態において、チェックポイントタンパク質発現のレベルは、複合陽性スコア（ＣＰＳ）又はＴｕｍｏｒ　Ｐｒｏｐｏｒｔｉｏｎ　Ｓｃｏｒｅ（ＴＰＳ）に基づいて決定される。例えば、ＣＰＳ≧１、好ましくはＣＰＳ≧５、最も好ましくはＣＰＳ≧１０によって示されるように、又はＴＰＳ≧１％、好ましくはＴＰＳ≧１０％、最も好ましくはＴＰＳ≧５０％によって示されるように、免疫チェックポイントタンパク質発現が存在するか又は高い場合、対象又は患者の腫瘍は抗ＣＣＲ８抗体による処置に対して感受性であると診断／層別化される。したがって、いくつかの好ましい実施形態において、参照値はＣＰＳ＝１、より好ましくはＣＰＳ＝５、又は最も好ましくはＣＰＳ＝１０である。いくつかの他の又は同じ好ましい実施形態において、参照値は、ＴＰＳ＝１％、より好ましくはＴＰＳ＝１０％、又は最も好ましくはＴＰＳ≧５０％である。
【０７３５】
いくつかの好ましい実施形態において、ＰＤ－Ｌ１発現は、ＣＰＳ≧１、好ましくはＣＰＳ≧５、最も好ましくはＣＰＳ≧１０によって決定されるか、又はＴＰＳ≧１％、好ましくはＴＰＳ≧１０％、最も好ましくはＴＰＳ≧５０％によって決定される。
【０７３６】
抗ＣＣＲ８抗体処置のためのバイオマーカーとしてのＴｒｅｇ浸潤マーカー
抗ＣＣＲ８抗体による処置に対して感受性である腫瘍を有するとして対象を診断／層別化するための方法において使用するためのＴｒｅｇ浸潤マーカーに結合する分子が提供され、該方法は、
ａ．腫瘍（サンプル）におけるＴｒｅｇ浸潤マーカー発現のレベルを決定することと、
ｂ．Ｔｒｅｇ浸潤マーカー発現のレベルを参照サンプル又は値と比較することと、
ｃ．Ｔｒｅｇ浸潤マーカーのレベルが参照試料又は値以上である場合、対象を、抗ＣＣＲ８抗体による処置に対して感受性である腫瘍を有すると診断／層別化することとを含む。
【０７３７】
Ｔｒｅｇ浸潤マーカーは、活性化Ｔｒｅｇ上に高度に発現されるマーカーである。好ましくは、Ｔｒｅｇ浸潤マーカーは、ＣＣＲ８、ＦＯＸＰ３、ＩＣＯＳ、ＣＣＲ４、ＴＩＧＩＴ、Ｐ２ＲＹ１０、ＣＤ８０、ＴＮＦＲＳＦ９、ＣＤ３（Ｇ）、ＳＬＡＭＦ１、ＩＬ７Ｒ、ＩＬ２ＲＢ、ＣＴＬＡ４、ＣＤ５、ＩＴＫ、ＩＬ２ＲＡ、ＬＡＸ１、ＩＫＺＦ３、ＧＢＰ５、ＣＸＣＲ６、ＳＩＲＰＧ、ＣＤ２、ＣＳＦ２ＲＢ、ＳＬＡＭＦ７、ＣＸＣＬ９から選択される（表１１．１．１、表１２．８．１を参照）。Ｔｒｅｇ浸潤マーカーはＣＣＲ８とは異なり得る。Ｔｒｅｇ浸潤マーカーに結合する分子は、好ましくは抗体、例えばＴｒｅｇ浸潤マーカーの１つ以上に結合する抗体である。
【０７３８】
本明細書に開示されるＴｒｅｇ浸潤マーカーはまた、例えば本明細書の他の箇所に記載されるように、処置の成功を制御するためのバイオマーカーとして使用され得る。例えば、Ｔｒｅｇ浸潤マーカーの２倍の減少によって示されるように、少なくとも４０％又は５０％の（一時的な）Ｔｒｅｇ枯渇が得られた場合、処置は成功したと見なされる。

【０７３９】
抗ＣＣＲ８抗体処置のためのバイオマーカーとしての免疫細胞マーカー
抗ＣＣＲ８抗体による処置に対して感受性である腫瘍を有するとして対象を診断／層別化するための方法において使用するための免疫細胞マーカーに結合する分子が提供され、該方法は、
ａ．腫瘍（サンプル）における免疫細胞マーカー発現のレベルを決定することと、
ｂ．免疫細胞マーカー発現のレベルを参照サンプル又は値と比較することと、
ｃ．免疫細胞のレベルが参照試料又は値以上である場合、対象を、抗ＣＣＲ８抗体による処置に対して感受性である腫瘍を有すると診断／層別化することとを含む。
【０７４０】
免疫細胞マーカーは、リンパ球、エフェクター細胞、Ｔ細胞、細胞傷害性Ｔ細胞、マクロファージ細胞、Ｍ１マクロファージ細胞、Ｍ２マクロファージ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、又はそれらの組み合わせのマーカーであり得る。これらの免疫細胞集団に適したマーカーは、本開示を通して記載される。例えば、適切なＴ細胞マーカーとしては、ＣＤ３（例えば、ＣＤ３Ｅ、Ｄ及び／又はＧ）が挙げられる。例えば、適切な細胞傷害性Ｔ細胞マーカーとしては、ＣＤ８（例えばＣＤ８Ａ及び／又はＢ）が挙げられる。例えば、適切なマクロファージ細胞マーカーとしては、ＭＳ４Ａ７が挙げられる。例えば、適切なマクロファージＭ１細胞マーカーとしては、Ａｃｏｄ１が挙げられる。例えば、適切なＭ２マクロファージ細胞マーカーとしては、Ｍｒｃ１が挙げられる。例えば、適切なＢ細胞マーカーとしては、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２及び／又はＭＳＡ４１が挙げられる。
【０７４１】
本明細書に開示される免疫細胞はまた、例えば本明細書の他の箇所に記載されるように、処置の成功を制御するためのバイオマーカーとして使用され得る。例えば少なくとも２倍の免疫細胞浸潤マーカーの増加によって示されるように、例えば少なくとも５０％の（一時的な）免疫細胞の増加が起こる場合、処置は成功したと見なされる。
【０７４２】
抗ＣＣＲ８抗体処置のためのバイオマーカーとしてのＴ細胞マーカー
抗ＣＣＲ８抗体による処置に対して感受性である腫瘍を有するとして対象を診断／層別化するための方法において使用するためのＴ細胞マーカーに結合する分子が提供され、該方法は、
ａ．腫瘍（サンプル）におけるＴ細胞マーカー発現のレベルを決定することと、
ｂ．Ｔ細胞マーカー発現のレベルを参照サンプル又は値と比較することと、
ｃ．Ｔ細胞マーカーのレベルが参照試料又は値以上である場合、対象を、抗ＣＣＲ８抗体による処置に対して感受性である腫瘍を有すると診断する／層別化することとを含む。
【０７４３】
Ｔ細胞マーカーは、活性化Ｔ細胞等のＴ細胞上に高度に発現されるマーカーであり得る。好ましくは、Ｔ細胞マーカーは、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＸＣＲ３、ＣＣＲ５、及び４－１ＢＢ、ＯＸ－４０、又はＧＩＴＲを含むＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバーから選択される。Ｔ細胞マーカーに結合する分子は、好ましくは抗体、例えば本明細書に開示されるＴ細胞マーカーの１つ以上に結合する抗体である。
【０７４４】
本明細書に開示されるＴ細胞マーカーはまた、例えば本明細書の他の箇所に記載されるように、単独で、又はＴｒｅｇ浸潤マーカーと組み合わせて、処置成功を制御するためのバイオマーカーとして使用され得る。例えば、Ｔ細胞マーカーの少なくとも２倍の増加によって示されるように、例えば少なくとも５０％の（一時的な）Ｔ細胞増加が起こった場合、処置は成功したと見なされる。
【０７４５】
抗ＣＣＲ８抗体処置のためのバイオマーカーとしてのインターフェロン又はインターフェロン誘導性タンパク質
抗ＣＣＲ８抗体による処置又は処置の成功のモニタリングに対して感受性である腫瘍を

有するとして対象を診断／層別化するための方法において使用するためのインターフェロン又はインターフェロン誘導性タンパク質が提供され、該方法は、

ａ．腫瘍（サンプル）中のインターフェロン又はインターフェロン誘導性タンパク質のレベルを決定することと、

ｂ．インターフェロン又はインターフェロン誘導性タンパク質のレベルを参照試料又は値と比較することと、

ｃ．インターフェロン又はインターフェロン誘導性タンパク質のレベルが参照試料又は参照値以上である場合、対象を、抗ＣＣＲ８抗体による処置に対して感受性である腫瘍を有すると診断する／層別化することとを含む。

【０７４６】

インターフェロン又はインターフェロン誘導性タンパク質は、好ましくは、ＩＦＮガンマ、ＩＬ１０、ＩＬ１２ｐ７０、ＩＬ１ベータ、ＩＬ２及びＴＮＦアルファから選択される。本発明によれば、ＣＣＲ８　ｍＲＮＡ発現と炎症マーカーＩＦＮガンマとの相関は、５０の腫瘍適応症について有意であることが見出された（表１１．１．２参照）。このことから、ＩＦＮガンマレベルが、本明細書中に開示されるようなバイオマーカーとして好適であり得ると結論付けることができる。これは、例えば、ＩＦＮガンマ及びＴＮＦアルファレベルが処置応答と相関した実施例１２．６．２で確認された。異なる実験（実施例１２．６．６）では、ＩＦＮガンマ、ＩＬ－１ｂ及びＩＬ－２のレベルの増加は、有効性の改善と関連していた。適切なインターフェロン刺激遺伝子又はタンパク質としては、限定されないが、ＡＣＯＤ１、ＡＣＴＧ１、ＡＣＴＲ２、ＡＣＴＲ３、ＡＤＡＭＴＳ１３、ＡＩＦ１、ＡＱＰ４、ＡＳＳ１、Ｂ２Ｍ、ＢＳＴ２、Ｃ９ＪＱＬ５、ＣＡＬＣＯＣＯ２、ＣＡＭＫ２Ａ、ＣＡＭＫ２Ｂ、ＣＡＭＫ２Ｄ、ＣＡＭＫ２Ｇ、ＣＡＳＰ１、ＣＣＬ１、ＣＣＬ１１、ＣＣＬ１３、ＣＣＬ１４、ＣＣＬ１５、ＣＣＬ１５、ＣＣＬ１４、ＣＣＬ１６、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ１８、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ２１、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２３、ＣＣＬ２４、ＣＣＬ２５、ＣＣＬ２６、ＣＣＬ３、ＣＣＬ３Ｌ１、ＣＣＬ４、ＣＣＬ４Ｌ１、ＣＣＬ５、ＣＣＬ７、ＣＣＬ８、ＣＤ４０、ＣＤ４４、ＣＤ５８、ＣＤＣ４２ＥＰ２、ＣＤＣ４２ＥＰ４、ＣＩＩＴＡ、ＣＩＴＥＤ１、ＣＬＤＮ１、ＣＸ３ＣＬ１、ＣＸＣＬ１６、ＣＹＰ２７Ｂ１　ＤＡＰＫ１、ＤＡＰＫ３、ＥＤＮ１、ＥＰＲＳ、ＥＶＬ、ＦＣＧＲ１Ａ、ＦＣＧＲ１Ｂ、ＦＬＮＢ、ＧＡＰＤＨ、ＧＢＰ１、ＧＢＰ２、ＧＢＰ４、ＧＢＰ５、ＧＢＰ６、ＧＣＨ１、ＧＳＮ、ＨＣＫ、ＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－Ｂ、ＨＬＡ－Ｃ、ＨＬＡ－ＤＰＡ１、ＨＬＡ－ＤＰＢ１、ＨＬＡ－ＤＱＡ１、ＨＬＡ－ＤＱＡ２、ＨＬＡ－ＤＱＢ１、ＨＬＡ－ＤＱＢ２、ＨＬＡ－ＤＲＡ　ＨＬＡ－ＤＲＢ１、ＨＬＡ－ＤＲＢ３、ＨＬＡ－ＤＲＢ４、ＨＬＡ－ＤＲＢ５、ＨＬＡ－Ｅ、ＨＬＡ－Ｆ、ＨＬＡ－Ｇ、ＨＬＡ－Ｈ、ＩＣＡＭ１、ＩＦＩ３０、ＩＦＩＴＭ１、ＩＦＩＴＭ２、ＩＦＩＴＭ３、ＩＦＮＧ、ＩＦＮＧＲ１、ＩＦＮＧＲ２、ＩＬ１２Ｂ、ＩＬ１２ＲＢ１　ＩＬ２３Ｒ、ＩＲＦ１、ＩＲＦ２、ＩＲＦ３、ＩＲＦ４、ＩＲＦ５、ＩＲＦ６、ＩＲＦ７、ＩＲＦ８、ＩＲＦ９、ＪＡＫ１、ＪＡＫ２、ＫＩＦ１６Ｂ、ＫＩＦ５Ｂ、ＫＹＮＵ、ＬＧＡＬＳ９、ＭＥＦＶ、ＭＩＤ１、ＭＲＣ１、ＭＴ２Ａ、ＭＹＯ１Ｃ、ＮＣＡＭ１、ＮＭＩ、ＮＯＳ２、ＮＵＢ１、ＯＡＳ１、ＯＡＳ２、ＯＡＳ３、ＯＡＳＬ、ＰＤＥ１２、ＰＭＬ、ＰＲＫＣＤ、ＰＴＡＦＲ、ＲＡＢ１２、ＲＡＢ２０、ＲＡＢ４３、ＲＡＢ７Ｂ、ＲＰＬ１３Ａ、ＲＰＳ６ＫＢ１　ＲＹＤＥＮ、ＳＥＣ６１Ａ１　ＳＬＣ１１Ａ１　ＳＬＣ２６Ａ６　ＳＬＣ３０Ａ８　ＳＮＣＡ、ＳＰ１００、ＳＴＡＲ、ＳＴＡＴ１、ＳＴＸ４、ＳＴＸ８、ＳＴＸＢＰ１、ＳＴＸＢＰ２、ＳＴＸＢＰ３、ＳＴＸＢＰ４、ＳＹＮＣＲＩＰ　ＴＤＧＦ１、ＴＬＲ２、ＴＬＲ３、ＴＬＲ４、ＴＲＩＭ２１、ＴＲＩＭ２２、ＴＲＩＭ２５、ＴＲＩＭ２６、ＴＲＩＭ３１、ＴＲＩＭ３４、ＴＲＩＭ３８、ＴＲＩＭ５、ＴＲＩＭ６２、ＴＲＩＭ６８、ＴＲＩＭ８、ＵＢＤ、ＶＡＭＰ３、ＶＣＡＭ１、ＶＩＭ、ＶＰＳ２６Ｂ、ＷＡＳ、ＷＮＴ５Ａ、ＸＣＬ１、ＸＣＬ２、ＺＹＸが挙げられる。

【０７４７】

［実施例］

［実施例１］

アラインメントＣＣケモカイン受容体及びＣＸＣケモカイン受容体

ヒトＣＣ及びＣＸＣケモカイン受容体配列をＵｎｉｐｒｏｔから回収し、Ｃｌｕｓｔａｌ　Ｏｍｅｇａとアラインメントした。結果を可視化のためにＪａｌｖｉｅｗにインポートした（図１）。陰性アミノ酸残基Ｅ及びＤ（灰色）並びにチロシン残基（Ｙ、濃い灰色）及びシステイン残基（Ｃ、薄い灰色）が強調されている。Ｎ末端ドメインは配列が異なるが、比較的多数の負に荷電したアミノ酸及びチロシン残基を特徴とする。

【０７４８】

［実施例２］

ヒト、カニクイザル及びマウスＣＣＲ８のアライメント

ヒトＣＣＲ８、カニクイザルＣＣＲ８及びマウスＣＣＲ８配列をＵｎｉｐｒｏｔから回収し、Ｃｌｕｓｔａｌ　Ｏｍｅｇａとアラインメントした。結果を、配列同一性の可視化及び計算のためにＪａｌｖｉｅｗにインポートした（図２ａを参照）。ヒトＣＣＲ８とカニクイザルＣＣＲ８のペアワイズアライメントは９４．３７％の配列同一性をもたらすが、パーセンテージはマウスＣＣＲ８とヒトＣＣＲ８との間（パーセンテージＩＤ＝７０．９９）、並びにマウスＣＣＲ８とカニクイザルＣＣＲ８との間（パーセンテージＩＤ＝７１．５５）でかなり低い。Ｎ末端（ＴＲＤ）領域及びＣ項領域において実質的な差異が観察され得る。

【０７４９】

カニクイザルＴＲＤとヒトＴＲＤとの間の配列相同性は６８％であるが、マウスＴＲＤとヒトＴＲＤとの間の配列相同性は５２％である。それにもかかわらず、酸性及びチロシン硫酸化ＴＲＤは、交差反応性抗体を生成するために首尾よく使用された負に荷電したクラスターを示す（実施例６を参照）。少なくともＭＤＹＴ及びＹＹＰＤモチーフは、種間で保存されていることが分かった。

【０７５０】

［実施例３］

ＣＣＲ８への特異的結合についての先行技術抗体の評価

ＣＣＲ８発現細胞株を使用してＦＡＣＳ実験を実施して、ＣＣＲ８への特異性及び染色についてＣＣＲ８結合として市販されている複数の先行技術抗体を評価した。マウスＴリンパ腫細胞株ＢＷ５１４７．４はマウスＣＣＲ８及びヒト皮膚Ｔリンパ腫を発現し、ＨｕＴ７８は低レベルのヒトＣＣＲ８を発現する。ケモカイン受容体、特にＣＣＲ８に対する先行技術抗体は、例えば、Ｘｉｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｐｐｌ　ＩＨＣ　Ｍｏｌ　Ｍｏｒｐｈｏｌ（２０１５）：「我々は、我々の経験において、及び他者によって以前に発表されたように、利用可能な抗体の特異性が欠如しているために、免疫組織化学によってＣＣＲ８発現を評価することができなかった。」、Ｃｈｅｎｉｖｅｓｓｅ　ｅｔ　ａｌ．，ＪＩ（２０１２）：「我々は、全ての市販の抗ＣＣＲ８　Ａｂの特異性が欠如しているため、ＣＣＬ１８によるＣＤ４$^{+}$ＣＣＲ８$^{+}$細胞の誘引を評価することができず、少なくとも我々の手では細胞選別できなかった。」、又はＰｅａｓｅ，Ｂｉｏｃｈｅｍ　Ｊ（２０１１）：「後者は、ヒトＣＣＲ８に対する一見信頼できる抗体がないために問題があった。

【０７５１】

例えば、ＣＤ４＋ＣＤ２５＋Ｔｒｅｇの集団上のＣＣＲ８発現を調べる１つの研究では、ＣＣＲ８表面染色は、市販の抗体を使用して検出不可能であったが、細胞は、ＣＣＬ１駆動アクチン重合によって評価されるように、機能的ＣＣＲ８を明らかに発現した。」（Ｘｉｎｇ，Ｘｉａｏｍｉｎｇ，ｅｔ　ａｌ．の「ケモカイン受容体遺伝子ＣＣＲ８の発現は、未分化大細胞リンパ腫におけるＤＵＳＰ　２２再編成に関連する。」Ａｐｐｌｉｅｄ　ｉｍｍｕｎｏｈｉｓｔｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ＆ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｍｏｒｐｈｏｌｏｇｙ：ＡＩＭＭ／ｏｆｆｉｃｉａｌ　ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｓｏｃｉｅｔｙ　ｆｏｒ　Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｉｍｍｕｎｏｈｉｓｔｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　２３．８（２０１５）：５８０；Ｃｈｅｎｉｖｅｓｓｅ，Ｃｅｃｉｌｅ，ｅｔ　ａｌ．「肺ＣＣＬ１８はヒト制御性Ｔ細胞を動員する。」Ｔｈｅ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１８９．１（２０１２）：１２８－１３７．：及びＰｅａｓｅ，Ｊａｍｅｓ　Ｅ

．「アレルギー性疾患におけるケモカイン受容体の標的化」Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ Ｊｏｕｒｎａｌ ４３４．１（２０１１）：１１－２４．を参照）に記載されるように、低い特異性に悩まされる。

【０７５２】

表３．１は、本発明者らの手でＣＣＲ８を特異的に染色しなかった３つの分析された市販の抗体を列挙している（図３を参照）。ラットＩｇＧ２Ｂクローン＃１９１７０４（ＭＡＢ１４２９、Ｒ＆Ｄ ｓｙｓｔｅｍｓ）はヒトＣＣＲ８の特異的結合を示さず、これも国際公開第２００７０４４７５６号の実施例６に記載されている観察結果と一致する。Ａｂｃａｍ Ｅ７７は、非常に弱いシグナル及び高いバックグラウンドを示した（データは示さず）。ＭＭ００６８－４Ｇ１９（Ａｂｃａｍ）、１９１７０４（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ）、４Ｇ１９（Ｂｉｏｚｏｌ（Ｇｅｎｅｔｅｘ））並びに１１ｎ２４及び１０ｋ３９（いずれもａｎｔｉｋｏｅｒｐｅｒ－ｏｎｌｉｎｅ．ｄｅ）は、本発明者らの手でヒトＣＣＲ８の特異的結合を示さなかった。

【０７５３】

【表３】

表 3.1:選択された先行技術抗体(図 3 を参照)。

販売業者	Angioproteomie	R&D	R&D
項目	ラット抗ヒト CCR8[MM0068-4G19]	モノクローナルラット抗ヒト CCR8 Ab	組換えモノクローナルウサギ IgG クローン#1055C
カタログ番号	hAP-0068	MAB1429-100	MAB8324
免疫原	ヒト CCR8 トランスフェクト 293 細胞	ヒト CCR8 をトランスフェクトした BaF3 マウス pro-B 細胞株 Met1-Leu355 アクセッション番号 P51685	マウス CCR8 でトランスフェクトした HEK293 ヒト胎児腎臓細胞株
反応性	ヒト	ヒト	マウス
抗原	CCR8	CCR8	CCR8
用途	FACS	CCL1 誘導性走化性 ND_{50} 0.01~0.05 μg/mL を中和する	FACS マウス CCR8 形質移入体による染色であるが、無関係な形質移入体による染色ではない
宿主	ラット	ラット	ウサギ
アイソタイプ	Rat IgG2	ラット IgG_{2B} クローン#191704	クローン#1055C

【０７５４】

本発明者らは、ヒトＣＣＲ８に特異的に結合した、先行技術において２つのみの信頼性の高いモノクローナル抗体（ＩＣＯＳによって開発され、最初に国際公開第２００７０４４７５６号に開示され、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄによって提供及び販売されるＬ２６３Ｇ８である、クローン４３３Ｈ）を見出した。両方の抗体を、免疫原としてヒトＣＣＲ８を過剰発現する細胞を使用して作製した。Ｌ２６３Ｇ８は、マウスＣＣＲ８に対して交差反応性ではなく、ＢＷ５１４７．３細胞又はｍＣＣＲ８でトランスフェクトされたＨＥＫ２９３Ｔ細胞においてマウスＣＣＲ８に結合しなかった。

【０７５５】

マウスＣＣＲ８発現ＢＷ５１４７．４細胞について陽性に染色されたモノクローナルラットＩｇＧ２ｂ、κ抗マウスＣＣＲ８クローンＳＡ２１４Ｇ２（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄカタログ番号１５０３０２）。この抗体は、マウスＣＣＲ８でトランスフェクトした細胞に基づいて生成した。

【０７５６】

要約すると、ヒトＣＣケモカイン受容体を特異的に認識する抗体は、この標的クラスの

一部のメンバーではまれである。この低い割合は、ヒトケモカイン受容体のために販売されている更に市販されている抗体の結果と一致している。

【０７５７】

［実施例４］

ＣＣ及びＣＸＣケモカイン受容体のための抗原

チロシン硫酸化に関する文献は不完全であり、例えば種間で部分的に矛盾するので、本発明者らは、硫酸化部位を予測するために様々な利用可能なツール、文献検索及び独自の経験を使用した。表４．１は、それぞれのケモカイン受容体に対する改善された抗体を得るための抗原として適した得られたポリペプチドをまとめたものである。これらの抗原は、抗体生成、例えば後続の実施例に示すように、抗原として、又はオフターゲットパニングのいずれかに首尾よく使用された。下線が引かれた硫酸化部位は、Ｍｏｎｉｇａｔｔｉ Ｆ．ｅｔ ａｌ．（Ｍｏｎｉｇａｔｔｉ，Ｆｌａｖｉｏ，ｅｔ ａｌ．“Ｔｈｅ Ｓｕｌｆｉｎａｔｏｒ：ｐｒｅｄｉｃｔｉｎｇ ｔｙｒｏｓｉｎｅ ｓｕｌｆａｔｉｏｎ ｓｉｔｅｓ ｉｎ ｐｒｏｔｅｉｎ ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ．”Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ １８．５（２００２）：７６９－７７０．）によるアルゴリズムを適用することによって、５５のＥカットオフ値で確認された。いずれの配列も、隠れマルコフモデルの訓練セットに以前は含まれていなかった。

【０７５８】

括弧内のチロシンの硫酸化は省略することができる。ヒトＣＣＲ３及びヒトＣＣＲ８について、追加の硫酸化部位をそれぞれＹ１７２及びＹ３５３について予測した。サルＣＣＲ３及びサルＣＣＲ２について、追加の硫酸化部位をそれぞれＹ１７２及びＹ１８８について予測した。太字で示された硫酸化部位は、文献に以前に記載されている（Ｌｉｕ，Ｊｕｓｔｉｎ，ｅｔ ａｌ．“Ｔｙｒｏｓｉｎｅ ｓｕｌｆａｔｉｏｎ ｉｓ ｐｒｅｖａｌｅｎｔ ｉｎ ｈｕｍａｎ ｃｈｅｍｏｋｉｎｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ ｉｍｐｏｒｔａｎｔ ｉｎ ｌｕｎｇ ｄｉｓｅａｓｅ．”Ａｍｅｒｉｃａｎ ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｃｅｌｌ ａｎｄ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｂｉｏｌｏｇｙ ３８．６（２００８）：７３８－７４３；Ｍｉｌｌａｒｄ；Ｃｈｒｉｓｔｏｐｈｅｒ Ｊ．，ｅｔ ａｌ．“Ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｂａｓｉｓ ｏｆ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｓｕｌｆｏｔｙｒｏｓｉｎｅ ｒｅｃｏｇｎｉｔｉｏｎ ｂｙ ａ ＣＣ ｃｈｅｍｏｋｉｎｅ：ｔｈｅ Ｎ－ｔｅｒｍｉｎａｌ ｒｅｇｉｏｎ ｏｆ ＣＣＲ３ ｂｏｕｎｄ ｔｏ ＣＣＬ１１／ｅｏｔａｘｉｎ－１．”Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ２２．１１（２０１４）：１５７１－１５８１を参照）。

【０７５９】

ペプチド設計

ＣＣＲ８のＮ末端は、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８全長タンパク質内のアミノ酸１～３５によって、及びマウスＣＣＲ８全長タンパク質のアミノ酸１～３３によって形成される。Ｎ末端は、システインによって連結されたＴＲＤ（ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８のアミノ酸１～２４及びマウスＣＣＲ８のアミノ酸１～２２）及びＬＩＤドメイン（ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８のアミノ酸２６～３５及びマウスＣＣＲ８のアミノ酸２４～３３）からなる。Ｎ末端を含むポリペプチドの合成のために、システインをセリンに置き換えてペプチドの凝集を回避した。表５．１は、実施例６に記載のファージディスプレイパニングによる抗ＣＣＲ８抗体の生成に使用したポリペプチドのそれぞれのＩＤを示す。タンパク質の翻訳後修飾が抗体生成の困難さを引き起こしているかどうかを試験するため、未修飾又は硫酸化のいずれかである、ＴＲＤ及び／又はＮ末端配列を含むペプチドを使用した。ＣＣＲ８のカニクイザル及びヒトＴＲＤ上の硫酸化を、チロシンの少なくとも５０％、例えばそれぞれのペプチドの３、１５及び１７の位置に導入した。マウスＴＲＤ及びＮ末端ペプチドの場合、それぞれのペプチドの３、１４及び１５の位置のチロシンに硫酸化を導入した（表６．１を参照）。さらに、ＬＩＤを含むペプチドを、ＴＴＤＳ（トリオキサトリデカン－スクシンアミド酸）リンカーを介して付着されたＣ末端ビオチン化の導入によって操作した。他のタグ及びリンカーも使用することができる。ＴＴＤＳ－リジンリ

ンカーを介して付着したＮ末端ビオチン化の導入によって、ＴＲＤ又はＮ末端のペプチドを修飾した。この場合も、更なる公知のリンカー及び／又はタグを同様に使用して、ペプチドの固定化を促進することができる。

【０７６０】

【表４】

表 **4.1:**ケモカイン受容体抗体の生成のための抗原又はオフターゲットパニングのためのポリペプチド本発明によれば、ポリペプチドの列挙されたチロシン位置のうちの **1** つにおける少なくとも **1** つの硫酸化が必要であるが、**2**、**3** 又はそれを超える部位における硫酸化も可能であり、有益であり得る。**X** は、任意のアミノ酸であってもアミノ酸なしであってもよく、好ましくは、セリン等のシステインとは異なるアミノ酸である。

配列番号	抗原	種	ドメイン	硫酸化部位	配列	長さ	追加の修飾(任意)
1	CCR1	ヒト	TRD	Y10,Y18	METPNTTEDYDTTTEFDYGDATP	23	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
2	CCR1	MACFA	TRD	Y10,Y18	METPDTTENYDMTTEFDYGDATP	23	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
3	CCR1	マウス	TRD	Y10,Y18	MEISDFTEAYPTTTEFDYGDSTP	23	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
4	CCR1	ヒト	N末端	Y10,Y18	METPNTTEDYDTTTEFDYGDATPXQKVNERAFGA	34	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C24S(凝集を避けるため)
5	CCR1	MACFA	N末端	Y10,Y18	METPDTTENYDMTTEFDYGDATPXHKVNERAILA	34	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C24S(凝集を避けるため)
6	CCR1	マウス	N末端	Y10,Y18	MEISDFTEAYPTTTEFDYGDSTPXQKTAVRAFGA	34	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C24S(凝集を避けるため)
7	CCR2	ヒト	TRD	Y26,Y28	MLSTSRSRFRNTNESGEEVTTFFDYDYGAP	31	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
8	CCR2	MACMU	TRD	Y26,Y28	MLSTSRSRFRNTNGSGEEVTTFFDYDYGAP	31	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
9	CCR2	マウス	TRD	Y37,Y39	MEDNNMLPQFHGILSTSHSLFTRSIQELDEGATTPYDYDDGEP	44	N末端ビオチン化 (例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
10	CCR2	ヒト	N末端	Y26,Y28	MLSTSRSRFRNTNESGEEVTTFFDYDYGAPXHKFDVKQIGA	42	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C32S(凝集を避けるため)
11	CCR2	MACMU	N末端	Y26,Y28	MLSTSRSRFRNTNGSGEEVTTFFDYDYGAPXHKFDVKQIGA	42	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C32S(凝集を避けるため)
12	CCR2	マウス	N末端	Y37,Y39	MEDNNMLPQFHGILSTSHSLFTRSIQELDEGATTPYDYDDGEPXHKTSVKQIGA	55	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C45S(凝集を避けるため)
13	CCR3	ヒト	TRD	Y16,Y17	MTTSLDTVETFGTTSYYDDVGLL	23	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
14	CCR3	MACFA	TRD	Y16	MTTSLDTVETFGPTSYDDDMGLL	23	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
15	CCR3	マウス	TRD	Y20,Y22	MAFNTDEIKTVVESFETTPYEYEWAPP	27	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
16	CCR3	ヒト	N末端	Y16,Y17	MTTSLDTVETFGTTSYYDDVGLLXEKADTRALMA	34	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C24S(凝集を避けるため)
17	CCR3	MACFA	N末端	Y16	MTTSLDTVETFGPTSYDDDMGLLXEKADVGALIA	34	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C24S(凝集を避けるため)
18	CCR3	マウス	N末端	Y20,Y22	MAFNTDEIKTVVESFETTPYEYEWAPPXEKVRIKELGS	38	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C28S(凝集を避けるため)

19	CCR4	ヒト	TRD	(Y16, Y19, Y20), Y22	MNPTDIADTTLDESIYSNYYLYESIPKP	28	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
20	CCR4	MACFA	TRD	(Y16, Y19, Y20), Y22	MNPTDIADTTLDESIYSNYYLYESIPKP	28	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
21	CCR4	マウス	TRD	(Y16, Y19, Y20), Y22	MNATEVTDTTQDETVYNSYYFYESIMPKP	28	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
22	CCR4	ヒト	N末端	(Y16, Y19, Y20), Y22	MNPTDIADTTLDESIYSNYYLYESIPKPXTKEGIKAFGE	39	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C29S(凝集を避けるため)
23	CCR4	MACFA	N末端	(Y16, Y19, Y20), Y22	MNPTDIADTTLDESIYSNYYLYESIPKPXTKEGIKAFGE	39	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C29S(凝集を避けるため)
24	CCR4	マウス	N末端	(Y16, Y19, Y20), Y22	MNATEVTDTTQDETVYNSYYFYESIMPKPXTKEGIKAFGE	39	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C29S(凝集を避けるため)
25	CCR5	ヒト	TRD	Y3, Y10, (Y14, Y15	MDYQVSSPIYDINYYTSEP	19	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
26	CCR5	MACFA	TRD	Y3, Y10, Y14, Y15	MDYQVSSPTYDIDYYTSEP	19	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
27	CCR5	マウス	TRD	Y10, Y12, Y16	MDFQGSVPTYSYDIDYGIMSAP	21	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
28	CCR5	ヒト	N末端	Y3, Y10, Y14, Y15	MDYQVSSPIYDINYYTSEPXQKINVKQIAA	30	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C20S(凝集を避けるため)
29	CCR5	MACFA	N末端	Y3, Y10, Y14, Y15	MDYQVSSPTYDIDYYTSEPXQKINVKQIAA	30	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C20S(凝集を避けるため)
30	CCR5	マウス	N末端	Y10, Y12, Y16	MDFQGSVPTYSYDIDYGIMSAPXQKINVKQIAA	32	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C22S(凝集を避けるため)
31	CCR6	ヒト	TRD	Y18, Y26, Y27	MSGESMNFSDVFDSSEDYFVSVNTSYYSVDSEIVILL	35	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
32	CCR6	MACFA	TRD	Y23, Y31, Y32	MFLPTIMSGESMNFSDVFDSSEDYFASVNTSYYTVDSEIVILL	40	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
33	CCR6	マウス	TRD	(Y7), Y13, Y18, Y19	MNSTESYFGTDDYDNTEYYSIPPDHGP	27	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
34	CCR6	ヒト	N末端	Y18, Y26, Y27	MSGESMNFSDVFDSSEDYFVSVNTSYYSVDSEIVILLXSLQEVRQFSRL	47	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C36S(凝集を避けるため)
35	CCR6	MACFA	N末端	Y23, Y31, Y32	MFLPTIMSGESMNFSDVFDSSEDYFASVNTSYYTVDSEIVILLXTLHEVRQFSRL	52	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C41S(凝集を避けるため)
36	CCR6	マウス	N末端	(Y7), Y13, Y18, Y19	MNSTESYFGTDDYDNTEYYSIPPDHGPXSLEEVRNFTKV	39	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C28S(凝集を避けるため)
37	CCR7	ヒト	TRD	Y8, Y17	QDEVTDDYIGDNTTVDYTLFESL	23	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
38	CCR7	MACFA	TRD	Y8, Y17	QDEVTDDYIGDNTTVDYTLFESL	23	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
39	CCR7	マウス	TRD	Y8, Y17, Y20	QDEVTDDYIGENTTVDYTLYESV	23	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
40	CCR7	ヒト	シグナルペプチドを伴わないN末端	Y8, Y17	QDEVTDDYIGDNTTVDYTLFESLXSKKDVRNFKAW	35	N末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C24S(凝集を避けるため)

41	CCR7	MACFA	シグナルペプチドを伴わないN末端	Y8, Y17	QDEVTDDYIGDNTTVDYTLFESLXSKKDVRNFKAW	35	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C24S(凝集を避けるため)
42	CCR7	マウス	シグナルペプチドを伴わないN末端	Y8, Y17, Y20	QDEVTDDYIGENTTVDYTLYESVXFKKDVRNFKAW	35	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C24S(凝集を避けるため)
43	CCR8	ヒト	TRD	Y3, Y15, (16), Y17	MDYTLDLSVTTVTDYYYPDIFSSP	24	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
44	CCR8	MACFA	TRD	Y3, Y15, (16), Y17	MDYTLDPSMTTMTDYYYPDSLSSP	24	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
45	CCR8	マウス	TRD	Y3, Y14, Y15	MDYTMEPNVTMTDYYPDFFTAP	22	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
46	CCR8	ヒト	N末端	Y3, Y15, (16), Y17	MDYTLDLSVTTVTDYYYPDIFSSPXDAELIQTNGK	35	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C25S(凝集を避けるため)
47	CCR8	MACFA	N末端	Y3, Y15, (16), Y17	MDYTLDPSMTTMTDYYYPDSLSSPXDGELIQRNDK	35	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C25S(凝集を避けるため)
48	CCR8	マウス	N末端	Y3, Y14, Y15	MDYTMEPNVTMTDYYPDFFTAPXDAEFLRGSM	33	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C23S(凝集を避けるため)
49	CCR8	ヒト	LID		DAELIQTNGK	10	NA
50	CCR8	MACFA	LID		DGELIQRNDK	10	NA
51	CCR8	マウス	LID		DAEFLRGSM	10	NA
52	CCR8	ヒト	EC1.1		YLLDQWVFGTVMCK	14	NA
53	CCR8	MACFA	EC1.1		YQLDQWVFGTVMCK	14	NA
54	CCR8	マウス	EC1.1		NLLDQWVFGTAMCK	14	NA
55	CCR8	ヒト	EC1.2		YQVASEDGVLQCYSFYNQQTLKWKIFTNFKM	31	NA
56	CCR8	MACFA	EC1.2		YQVASEDGVLQCYSFYNQQTLKWKIFTNFEM	31	NA
57	CCR8	マウス	EC1.2		YQVASEDGMLQCFQFYEEQSLRWKLFTHFEI	31	NA
58	CCR8	ヒト	EC1.3		HSMHILDGCSSQQLTY	17	NA
59	CCR8	MACFA	EC1.3		HSMHILDGCSSQQLNY	17	NA
60	CCR8	マウス	EC1.3		HDLHILDGCATRQRLAL	17	NA
61	CCR9	ヒト	TRD	Y17, Y28, Y37	MTPTDFTSPIPNMADDYGSESTSSMEDYVNFNFTDFY	37	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
62	CCR9	MACFA	TRD	Y17, Y28, Y37	MTPTEFTSPVPNMADDYGSESTSSMEDYVNFNFTDFY	37	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
63	CCR9	マウス	TRD	Y19, Y28	MTPTEFTSPVPNMADDYGSESTSSMEDYVNFNFTDFY	37	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
64	CCR9	ヒト	N末端	Y17, Y28, Y37	MTPTDFTSPIPNMADDYGSESTSSMEDYVNFNFTDFYXEKNNVRQFAS	48	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C38S(凝集を避けるため)
65	CCR9	MACFA	N末端	Y17, Y28, Y37	MTPTEFTSPVPNMADDYGSESTSSMEDYVNFNFTDFYXEKNNVRQFAS	48	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C38S(凝集を避けるため)
66	CCR9	マウス	N末端	Y19, Y28	MTPTEFTSPVPNMADDYGSESTSSMEDYVNFNFTDFYXEKNNVRQFAS	48	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C38S(凝集を避けるため)
67	CCR10	ヒト	TRD	Y14, Y22	MGTEATEQVSWGHYSGDEEDAYSAEPLPEL	30	N末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカ

							ーを介して)
68	CCR10	MACFA	TRD	Y14,Y22	MGTEATEQVSWGHYSGDEEEAYSAEPLPEL	30	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
69	CCR10	マウス	TRD	Y14,Y17,Y22	MGTKPTEQVSWGLYSGYDEEAYSVGPLPEL	30	N 末端ピオチン化 (例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
70	CCR10	ヒト	N 末端	Y14,Y22	MGTEATEQVSWGHYSGDEEDAYSAEPLPEL XYKADVQAFSRAFQPSVSLTVA	52	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C31S(凝集を避けるため)
71	CCR10	MACFA	N 末端	Y14,Y22	MGTEATEQVSWGHYSGDEEEAYSAEPLPELX YKADVQAFSRAFQPSVSLTVA	52	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C31S(凝集を避けるため)
72	CCR10	マウス	N 末端	Y14,Y17,Y22	MGTKPTEQVSWGLYSGYDEEAYSVGPLPELX YKADVQAFSRAFQPSVS	48	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C31S(凝集を避けるため)
73	CXCR1	ヒト	TRD	Y27	MSNITDPQMWDFDDLNFTGMPPADEDYS P	29	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
74	CXCR1	MACFA	TRD	Y14,Y28	MSNATDPQMGDDDYDLNFTGMPPTDEDY SP	30	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
75	CXCR1	マウス	TRD	Y6,Y32	MAEAEYFWTNPEGDFEKEFGNITGMLPTG DYFIP	35	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
76	CXCR1	ヒト	N 末端	Y27	MSNITDPQMWDFDDLNFTGMPPADEDYS PXMLETETLNK	39	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C30S(凝集を避けるため)
77	CXCR1	MACFA	N 末端	Y14,Y28	MSNATDPQMGDDDYDLNFTGMPPTDEDY SPXRLETQSLNK	40	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C31S(凝集を避けるため)
78	CXCR1	マウス	N 末端	Y6,Y32	MAEAEYFWTNPEGDFEKEFGNITGMLPTG DYFIPXKRVPITNR	44	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C36S(凝集を避けるため)
79	CXCR2	ヒト	TRD	Y23,Y25	MEDFNMESDSFEDFWKGEDLSNYSYSSTLPP FLLDAAP	38	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
80	CXCR2	MACMU	TRD	Y20,Y22	FNMESDSFEDLWKGEDFSNYSYSSDLPPSLP DVAP	35	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
81	CXCR2	マウス	TRD	Y24	MGEFKVDKFNIEDFFSGDLDIFNYSSGMPSILP DAVP	37	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
82	CXCR2	ヒト	N 末端	Y23,Y25	MEDFNMESDSFEDFWKGEDLSNYSYSSTLPP FLLDAAPXEPESLEINK	48	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C39S(凝集を避けるため)
83	CXCR2	MACMU	N 末端	Y20,Y22	FNMESDSFEDLWKGEDFSNYSYSSDLPPSLP DVAPXRPESLEINK	45	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C36S(凝集を避けるため)
84	CXCR2	マウス	N 末端	Y24	MGEFKVDKFNIEDFFSGDLDIFNYSSGMPSILP DAVPXHSENLEINS	47	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C38S(凝集を避けるため)
85	CXCR3	ヒト	TRD	Y27,Y29	MVLEVSDHQVLNDAEVAALENFSSSYDYGE NESDS	36	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
86	CXCR3	MACFA	TRD	Y27,Y29	MVLEVSDHQVLNDAEVAALENFSSSYDYGE NESDS	36	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
87	CXCR3	マウス	TRD	Y2,Y27,Y29	MYLEVSERQVLDASDFAFLLENSTSPYDYGEN ESDFSDSPP	41	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
88	CXCR3	ヒト	N 末端	Y27,Y29	MVLEVSDHQVLNDAEVAALENFSSSYDYGE NESDSXXTSPP	42	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C37S、C38S(凝集を避けるため)
89	CXCR3	MACFA	N 末端	Y27,Y29	MVLEVSDHQVLNDAEVAALENFSSSYDYGE NESDSXXTSPP	42	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C37S、C38S(凝集を避けるため)
90	CXCR3	マウス	N 末端	Y2,Y27,Y29	MYLEVSERQVLDASDFAFLLENSTSPYDYGEN	52	N 末端ピオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカ

					ESDFSDSPPXPQDFSLNFDR		ーを介して);C42S(凝集を避けるため)
91	CXCR4	ヒト	TRD	(Y7), Y12, Y21	MEGISIYTSDNYTEEMGSGDYDSMKEP	27	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
92	CXCR4	MACFA	TRD	(Y7), Y12, Y21	MEGISIYTSDNYTEEMGSGDYDSIKEP	27	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
93	CXCR4	マウス	TRD	Y9, Y14, Y23	MEPISVSIYTSDNYSEEVGSGDYDSNKEP	29	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
94	CXCR4	ヒト	N 末端	(Y7), Y12, Y21	MEGISIYTSDNYTEEMGSGDYDSMKEPXFREENANFNK	38	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C28S(凝集を避けるため)
95	CXCR4	MACFA	N 末端	(Y7), Y12, Y21	MEGISIYTSDNYTEEMGSGDYDSIKEPXFREENAHFNR	38	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C28S(凝集を避けるため)
96	CXCR4	マウス	N 末端	Y9, Y14, Y23	MEPISVSIYTSDNYSEEVGSGDYDSNKEPXFRDENVHFNR	40	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C30S(凝集を避けるため)
97	CXCR5	ヒト	TRD	Y3, Y27	MNYPLTLEMDLENLEDLFWELDRLDNYNDTSLVENHL	37	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
98	CXCR5	MACFA	TRD	Y3, Y27	MNYPLMLEMDLENLEDLFLEFDKFDNYNDTSLVENHL	37	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
99	CXCR5	マウス	TRD	Y3, Y14, Y20, Y26	MNYPLTLDMGSITYNMDDLYKELAFYSNSTEIPLQDSNF	39	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
100	CXCR5	ヒト	N 末端	Y3, Y27	MNYPLTLEMDLENLEDLFWELDRLDNYNDTSLVENHLXPATEGPLMASFKAVFVP	55	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C38S(凝集を避けるため)
101	CXCR5	MACFA	N 末端	Y3, Y27	MNYPLMLEMDLENLEDLFLEFDKFDNYNDTSLVENHLXPATEGPLMASFKAVFVP	55	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C38S(凝集を避けるため)
102	CXCR5	マウス	N 末端	Y3, Y14, Y20, Y26	MNYPLTLDMGSITYNMDDLYKELAFYSNSTEIPLQDSNFXSTVEGPLLTSFKAVFMP	57	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C40S(凝集を避けるため)
103	CXCR6	ヒト	TRD	Y6, Y10	MAEHDYHEDYGFSSFNDSSQEEHQDFLQFSKV	32	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
104	CXCR6	MACFA	TRD	Y4, Y7, Y39	MAEYDHYEDDGFLNSFNDSSQEEHQDFLQFRKV	33	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
105	CXCR6	マウス	TRD	Y11, (Y15)	MDDGHQESALYDGHYEGDFWLFNNSSDNSQENKRFLKFKEV	41	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
106	CXCR6	ヒト	N 末端	Y6, Y10	MAEHDYHEDYGFSSFNDSSQEEHQDFLQFSKVFLPXMYLVVFV	43	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C33S(凝集を避けるため)
107	CXCR6	MACFA	N 末端	Y4, Y7, Y39	MAEYDHYEDDGFLNSFNDSSQEEHQDFLQFRKVFLPXMYLVVFV	44	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C34S(凝集を避けるため)
108	CXCR6	マウス	N 末端	Y11, (Y15)	MDDGHQESALYDGHYEGDFWLFNNSSDNSQENKRFLKFKEVFLPX	45	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C42S(凝集を避けるため)
157	CX3CR1	ヒト	TRD	Y14	MDQFPESVTENFEYDDLAEA	20	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
158	CX3CR1	MACFA	TRD	Y20	LRNVEANFLGFLLPLLIMSY	20	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
159	CX3CR1	マウス	TRD	Y15	MSTSFPELDLENFEYDDSAEA	21	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
160	CX3CR1	ヒト	N 末端	Y14, Y22	MDQFPESVTENFEYDDLAEAXYGDMVVFGT	31	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C21S(凝集を避けるため)
161	CX3CR1	MACFA	N 末端	Y20, Y22	LRNVEANFLGFLLPLLIMSYXYFRIIQTLFS	31	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカ

							ーを介して);C21S(凝集を避けるため)
162	CX3CR1	マウス	N 末端	Y15, Y23	MSTSFPELDLENFEYDDSAEAXYLGDIVAFGT	32	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C22S(凝集を避けるため)
163	CXCR1	ヒト	TRD	Y27	MSNITDPQMWDFDDLNFTGMPPADEDYSP	29	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
164	CXCR1	MACMU	TRD	Y14, Y28	MSNATDPQMGDDDYDLNFTGMPPTDEDYSP	30	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
165	CXCR1	マウス	TRD	Y6, Y32	MAEAEYFWTNPEGDFEKEFGNITGMLPTGDYFIP	35	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
166	CXCR1	ヒト	N 末端	Y27	MSNITDPQMWDFDDLNFTGMPPADEDYSPXMLETETLNK	39	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C30S(凝集を避けるため)
167	CXCR1	MACMU	N 末端	Y14, Y28, Y41	MSNATDPQMGDDDYDLNFTGMPPTDEDYSPXRLETQSLNKYVVIVT	46	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C31S(凝集を避けるため)
168	CXCR1	マウス	N 末端	Y6, Y32	MAEAEYFWTNPEGDFEKEFGNITGMLPTGDYFIPXKRVPITNR	44	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して);C36S(凝集を避けるため)

【０７６１】

【表５】

表 5.1:標的としての CCR8 に対して合成されたポリペプチド

ID	抗原	種	ドメイン	硫酸化	追加の修飾
TPP-13798	CCR8	カニクイザル	Lid	---	C 末端ビオチン化(例えば TTDS リンカーを介して)
TPP-13796	CCR8	ヒト	Lid	---	C 末端ビオチン化(例えば TTDS リンカーを介して)
TPP-13797	CCR8	マウス	Lid	---	C 末端ビオチン化(例えば TTDS リンカーを介して)
TPP-13794	CCR8	カニクイザル	TRD	---	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
TPP-13795	CCR8	カニクイザル	TRD	Y3, Y15, Y17	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
TPP-13791	CCR8	ヒト	TRD	---	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
TPP-13792	CCR8	マウス	TRD	---	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
TPP-13793	CCR8	マウス	TRD	Y3, Y14, Y15	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して)
TPP-13965	CCR8	カニクイザル	N 末端	---	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して); C25S(凝集を避けるため)
TPP-14828	CCR8	カニクイザル	N 末端	Y3, Y15, Y17	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して); C25S(凝集を避けるため)
TPP-13963	CCR8	ヒト	N 末端	---	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して); C25S(凝集を避けるため)
TPP-14827	CCR8	ヒト	N 末端	Y3, Y15, Y17	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して); C25S(凝集を避けるため)
TPP-13964	CCR8	マウス	N 末端	---	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して); C23S(凝集を避けるため)
TPP-14830	CCR8	マウス	N 末端	Y3, Y14, Y15	N 末端ビオチン化(例えば、TTDS_リシンリンカーを介して); C23S(凝集を避けるため)

【０７６２】

タンパク質の翻訳後修飾が抗体生成の困難さを引き起こしているかどうかを試験するため、未修飾又は硫酸化のいずれかである、ＴＲＤ及び／又はＮ末端配列を含むペプチドを使用した。ＣＣＲ８のカニクイザル及びヒトＴＲＤ上の硫酸化を、チロシンの少なくとも５０％、例えばそれぞれのペプチドの３、１５及び１７の位置に導入した。マウスＴＲＤ及びＮ末端ペプチドの場合、それぞれのペプチドの３、１４及び１５の位置のチロシンに硫酸化を導入した（表６．１を参照）。さらに、ＬＩＤを含むペプチドを、ＴＴＤＳ（トリオキサトリデカン－スクシンアミド酸）リンカーを介して付着されたＣ末端ビオチン化の導入によって操作した。他のタグ及びリンカーも使用することができる。ＴＴＤＳ－リ

ジンリンカーを介して付着したＮ末端ビオチン化の導入によって、ＴＲＤ又はＮ末端のペプチドを修飾した。この場合も、更なる公知のリンカー及び／又はタグを同様に使用して、ペプチドの固定化を促進することができる。

【０７６３】

ペプチド合成

ペプチドは、異なる商業的供給源から得ることができ、例えば標準的なＦｍｏｃ固相ペプチド合成（ＳＰＰＳ）化学を用いて、当技術分野で公知のように調製することができる。チロシン硫酸化ペプチドは塩基性条件下で安定であるが、スルホチロシンは酸性条件下で脱硫酸を受けるため、硫酸化ペプチドの効率的な合成は技術的に困難であり、成長するペプチドへのＦｍｏｃＴｙｒ（ＳＯ３Ｎａ）ＯＨの単純な段階的取り込みは不適切である。ペプチドの全体的な硫酸化は、例えば三酸化硫黄－ピリジンを使用して可能であるが、選択されたチロシンの特定の硫酸化を可能にしない。しかしながら、ＦｍｏｃベースのＳＳＰＳは、それにもかかわらず、硫酸化ペプチドの合成に使用することができる。この目的のために、フルオロ硫酸化チロシン、アジドメチル保護チロシン又はネオペンチル保護チロシン等の直交保護チロシン誘導体を組み込みに使用することができる。その後、保護されたチロシンを選択的かつ定量的な方法で脱マスクすることができる。

【０７６４】

Ｃｈｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｇｅｗ Ｃｈｅｍ，２０１６は、Ｆｍｏｃ－フルオロ硫酸化チロシンの一段階合成を報告している。次いで、フルオロ硫酸化チロシン残基を目的のペプチドに組み込むための効率的なＦｍｏｃ固相ペプチド合成戦略を導入する。酸不安定性側鎖保護基の標準的な同時ペプチド－樹脂切断及び除去により、フルオロ硫酸化チロシンを含有する粗ペプチドが得られる。溶媒及び反応物質として働く塩基性エチレングリコールは、フルオロ硫酸化チロシンペプチドを高収率でスルホチロシンペプチドに変換する。

【０７６５】

得られたペプチドは、その後、当技術分野で公知のように、例えばＢＥＨ Ｃ－１８（Ｗａｔｅｒｓ）又はＫｉｎｅｔｅｘ Ｃ－１８（Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ）カラムでの例えばＨＰＬＣによって精製することができ、例えば品質管理のために、質量分析（ＩｏｎＳｐｒａｙ及びＰｏｓｉｔｉｖｅ Ｉｏｎ Ｄｅｔｅｃｔｏｒ）によって分析することができる。

【０７６６】

文献では、全長ヒトＣＣＲ８タンパク質内の２つのジスルフィド架橋が、位置１０６及び１８３のシステインを介して細胞外ループ１（ＥＣＬ１）及び細胞外ループ２（ＥＣＬ２）を接続することが記載されている。システイン２５と２７２との間の更なるジスルフィド架橋は、７回膜貫通ヘリックスをＮ末端と接続すると想定される。しかしながら、実施例によるペプチドは、システイン間にジスルフィド架橋を形成することは予想されない。

【０７６７】

［実施例６］

ファージディスプレイ及びヒト抗ＣＣＲ８抗体スクリーニング

完全ヒト抗体ファージディスプレイライブラリー（ＢｉｏＩｎｖｅｎｔ ｎ－ＣｏＤｅＲ Ｆａｂラムダライブラリー）を使用して、可溶性ビオチン化ペプチドに対する選択によってヒトモノクローナル抗体を単離した。ペプチドは、Ｐｅｐｓｃａｎによって提供された。ペプチドの合成を、実施例５に記載のように行った。パンニング手順については、以下のプロトコルを適用した。

【０７６８】

【表６】

表 6.1:ファージディスプレイ及び ELISA スクリーニングによる抗体選択に使用される修飾を含むペプチドのリスト。

ID	抗原	種	ドメイン	硫酸化	追加の修飾
TPP-14828	CCR8	カニクイザル	N 末端	Y3, Y15, Y17	TTDS_リシンリンカーを介して N 末端ビオチン化;C25S(凝集を避けるため)
TPP-14827	CCR8	ヒト	N 末端	Y3, Y15, Y17	TTDS_リシンリンカーを介して N 末端ビオチン化;C25S(凝集を避けるため)
TPP-14829(オフターゲット)	CCR4	ヒト	N 末端	Y22	TTDS_リシンリンカーを介して N 末端ビオチン化;C29S(凝集を避けるため)

【０７６９】

ストレプトアビジン結合Ｄｙｎａｂｅａｄｓ　Ｍ－２８０（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（商標））を室温（ＲＴ）で１時間、ビオチン化ペプチド（１チューブ）及びビオチン化オフターゲットペプチド（３チューブ）でそれぞれコーティングした。Ｄｙｎａｂｅａｄｓを洗浄し、その後、エンドオーバーエンド回転（ｅｎｄ－ｏｖｅｒ－ｅｎｄ　ｒｏｔａｔｉｏｎ）で室温で１時間ブロッキングした。

【０７７０】

標的外結合剤を枯渇させるために、ブロックされたファージライブラリーを、遮断されたオフターゲットロードＤｙｎａｂｅａｄｓに添加し、室温で１０分間、エンドオーバーエンド回転でインキュベートした。この枯渇工程を２回繰り返した。枯渇したファージライブラリーを、遮断された標的ロードＤｙｎａｂｅａｄｓに加え、ＲＴで６０分間、エンドオーバーエンド回転でインキュベートした。

【０７７１】

ストリンジェントな洗浄（ブロッキング緩衝液（ＰＢＳ－Ｔ、３％粉乳）中で３回及びＰＢＳ（１５０ｍＭ　ＮａＣｌ；８ｍＭ　Ｎａ２ＨＰＯ４；１．５ｍＭ　ＫＨ２ＰＯ４；ｐＨ＝７．４～７．６に調整、０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０）中で９回））の後、コーティングされた標的に特異的に結合するＦａｂファージを有するＤｙｎａｂｅａｄｓを直接使用して、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）ＨＢ１０１株に感染させた。続いて、Ｍ１３ＫＯ７　Ｈｅｌｐｅｒ　Ｐｈａｇｅ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用して大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）ＨＢ１０１株でファージを増幅した。

【０７７２】

以下の選択ラウンドにおいて、標的濃度を減少させて、高親和性結合剤の選択圧を増大させた。ライブラリーのパニング中に、２つの異なる選択戦略を行った（図４）。これらの戦略は、ＴＲＤを含むヒトＣＣＲ８　Ｎ末端領域及び／又はＴＲＤを含むカニクイザルＣＣＲ８　Ｎ末端領域に対する結合活性を示す抗体を同定するように設計された。抗原として又はオフターゲットパンニングのために使用された全てのペプチドは、少なくとも１つの位置で硫酸化された（表４．１及び表６．１を参照）。

【０７７３】

両方の戦略について、オフターゲットペプチドとしてＴＲＤ（ＴＰＰ－１４８２９、配列番号２２、Ｙ２２は硫酸化されている）を含むビオチン化ヒトＣＣＲ４　Ｎ末端領域を使用して、枯渇工程を含めた。

【０７７４】

戦略Ｉは、ヒトＣＣＲ８のＮ末端の硫酸化ペプチド（ＴＰＰ－１４８２７、配列番号４６、Ｙ３、Ｙ１５、Ｙ１７は硫酸化されている）に対する１回目のパンニングラウンド、続いて同じペプチド（ＴＰＰ－１４８２７、配列番号４６、Ｙ３、Ｙ１５、Ｙ１７は硫酸化されている）又はカニクイザルＣＣＲ８のＮ末端の硫酸化ペプチド（ＴＰＰ－１４８２８、配列番号４７、Ｙ３、Ｙ１５、Ｙ１７は硫酸化されている）に対する３ラウンドのいずれかを含んでいた。

【０７７５】
　戦略ＩＩは、図４に示すように、カニクイザルＣＣＲ８のＮ末端の硫酸化ペプチド（ＴＰＰ－１４８２８、配列番号４７、Ｙ３、Ｙ１５、Ｙ１７は硫酸化されている）に対する１回目のパンニングラウンド、続いて同じペプチド（ＴＰＰ－１４８２８、配列番号４７、Ｙ３、Ｙ１５、Ｙ１７は硫酸化されている）に対する３ラウンド又はヒトＣＣＲ８のＮ末端の硫酸化ペプチド（ＴＰＰ－１４８２７、配列番号４６、Ｙ３、Ｙ１５、Ｙ１７は硫酸化されている）に対する３ラウンドのいずれかを含んでいた。
【０７７６】
　最初の定性的評価のため、各クローンプールについて、モノクローナル培養及びランダムに選んだ８８個のＦａｂ－ｏｎ－ファージクローンの発現を行い、続いて、パニングに以前に使用されたそれぞれの標的への結合についてクローンを試験した。さらに、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８発現細胞への結合をフローサイトメトリー（ＦＡＣＳ）によって決定した。
【０７７７】
　特定の結合剤は、特定の文脈において、
　（ｉ）ＥＬＩＳＡアッセイにおいて、オフターゲットに対するシグナル強度よりも少なくとも１０倍高い標的に対するシグナル強度、
　（ｉｉ）ＦＡＣＳアッセイにおいて、ＣＣＲ８を発現していない対照細胞株についてのシグナルよりも少なくとも２倍高いＣＣＲ８発現細胞株についてのシグナル、及び
　（ｉｉｉ）ＦＡＣＳアッセイでは、１００００より小さい対照細胞株上のシグナル、を示す分子として定義されている。
【０７７８】
　２つのアッセイの少なくとも一方において有意なヒット率を有する１２個のプールからのプラスミドＤＮＡを遺伝子ＩＩＩ除去に付し、得られた可溶性ＦａｂをハイスループットｅＬＩＳＡ及びＦＡＣＳスクリーニングでスクリーニングした。
【０７７９】
［実施例７］
　ヒト抗ヒトＣＣＲ８抗体のハイスループットスクリーニング
　ファージディスプレイ中に作製された１２クローンプールから、１７０００個の異なるｓＦａｂクローンをＥＬＩＳＡ（ＨＴＳ－ＥＬＩＳＡ）によるハイスループットスクリーニングでスクリーニングして、ファージディスプレイパニングに以前に使用されたペプチド、すなわち（ｉ）Ｙ３、Ｙ１５、Ｙ１７が硫酸化されているＴＰＰ－１４８２７、配列番号４６、（ｉｉ）Ｙ３、Ｙ１５、Ｙ１７が硫酸化されているＴＰＰ－１４８２８、配列番号４７、及び（ｉｉｉ）Ｙ２２が硫酸化されているそれぞれのオフターゲットペプチドＴＰＰ－１４８２９、配列番号２２に対するそれらの結合を決定した。ＥＬＩＳＡスクリーニングのために、ペプチドを、コーティング緩衝液（Ｃａｒｂｏｎａｔ－Ｂａｓｉｓ、Ｃａｎｄｏｒ　１２１１２５）中、４℃で０．１μｇ／ｍｌの濃度でストレプトアビジン被覆プレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ　ｂｉｏ－ｏｎｅ　７８１９９７）に固定化した。プレートを６０μｌのＰＢＳ　０．０５％Ｔｗｅｅｎで３回洗浄し、５０μｌのＳｍａｒｔ　Ｂｌｏｃｋ（登録商標）（Ｃａｎｄｏｒ　１１３５００）で２０℃で１時間ブロッキングした後、１０μｌのｓＦａｂ試料をプレートに添加し、２０℃で１時間インキュベートした。その後、６０μｌのＰＢＳ　０．０５％　Ｔｗｅｅｎで３回洗浄した後、２０μｌの抗ｃ－Ｍｙｃ　ＨＲＰ抗体を添加し、２０℃で１時間インキュベートし、その後、６０μｌのＰＢＳ　０．０５％Ｔｗｅｅｎで３回洗浄し、２０μｌのＡｍｐｌｅｘ　Ｒｅｄ溶液（１：１０００の３０％　Ｈ２Ｏ２を含む５０ｍＭ　ｐＨ７．６のＮａＰ緩衝液中のＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　Ａ１２２２２、１：１００００）を添加した。２０℃で２０分間の最終インキュベーション後、５９５ｎｍの発光波長及び５３０ｎｍの励起波長を用いてシグナルを決定した。分析のために、単一のｓＦａｂクローンのシグナル対バックグラウンド比を使用したが、バックグラウンドは、ｓＦａｂ培養物を含まず、それぞれのサンプル培地を含む各プレート上の４８ウェルの平均値によって定義される。

【０７８０】
　合計で２１９３個の異なるｓＦａｂクローンが、５より大きいシグナル対バックグラウンド比によって示されるように、ヒト及びカニクイザルのＮ末端の硫酸化ペプチドＴＰＰ－１４８２７（配列番号４６、Ｙ３、Ｙ１５、Ｙ１７は硫酸化されている）及びＴＰＰ－１４８２８（配列番号４７、Ｙ３、Ｙ１５、Ｙ１７が硫酸化されている）の両方に対する有意な結合を示したが、オフターゲットＴＰＰ－１４８２９（配列番号２２、Ｙ２２が硫酸化されている）に対する有意な結合は実証されなかった。これらのｓＦａｂクローンを完全長ヒトＩｇＧ１抗体に再フォーマットし、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８発現細胞株に対するＦＡＣＳスクリーニングに適用した。
【０７８１】
　カニクイザル及びヒトＣＣＲ８発現細胞の両方への結合、並びにＣＣＲ８を発現しない親細胞株への有意な非特異的結合を実証しないことに基づいて、１０個の抗体クローンを産生及び更なる特徴付けのために選択した。これらの初期ヒットはＴＰＰ－１７５７５～ＴＰＰ－１７５８１及びＴＰＰ－１８２０５～ＴＰＰ－１８２０７であり、ＣＤＲを表７．１に示す。抗体を治療における適用性について更に手作業で最適化して、表７．２ａ及び表７．２ｂに示される抗体のセットを得た（配列表も参照）。
【０７８２】
　さらに、抗体ＴＰＰ－２７４９５を得るために、ＴＰＰ－２３４１１の配列を、ＹＴＥ変異Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ及びＴ２５６Ｅを含むように操作した。ＴＰＰ－２７４９５は７０％アフコシル化されている。
【０７８３】
　さらに、抗体ＴＰＰ－２７４９６を得るために、ＴＰＰ－２３４１１の配列を、ＬＳ変異Ｍ４２８Ｌ及びＮ４３４Ｓを含むように操作した。ＴＰＰ－２７４９６は７０％アフコシル化されている。
【０７８４】
［実施例８］
　抗マウスＣＣＲ８抗体の作製
　ファージディスプレイ及び抗体スクリーニング
　完全ヒト抗体ファージディスプレイライブラリー（ＢｉｏＩｎｖｅｎｔ　ｎ－ＣｏＤｅＲ　Ｆａｂラムダライブラリー）を使用して、可溶性ビオチン化ペプチドに対する選択によってマウスＣＣＲ８を認識するヒトモノクローナル抗体を単離した。ペプチドは、Ｐｅｐｓｃａｎによって提供された。ペプチドの合成は、本明細書の他の箇所に記載されているように行った。パンニング手順については、以下のプロトコルを適用した。
【０７８５】
　ストレプトアビジン結合Ｄｙｎａｂｅａｄｓ　Ｍ－２８０（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（商標））を室温（ＲＴ）で１時間、ビオチン化ペプチド（１チューブ）及びビオチン化オフターゲットペプチド（３チューブ）でそれぞれコーティングした。Ｄｙｎａｂｅａｄｓを洗浄し、その後、エンドオーバーエンド回転（ｅｎｄ－ｏｖｅｒ－ｅｎｄ　ｒｏｔａｔｉｏｎ）で室温で１時間ブロッキングした。標的外結合剤を枯渇させるために、ブロックされたファージライブラリーを、遮断されたオフターゲットロードＤｙｎａｂｅａｄｓに添加し、室温で１０分間、エンドオーバーエンド回転でインキュベートした。この枯渇工程を２回繰り返した。枯渇したファージライブラリーを、遮断された標的ロードＤｙｎａｂｅａｄｓに加え、ＲＴで６０分間、エンドオーバーエンド回転でインキュベートした。
【０７８６】
　ストリンジェントな洗浄（ブロッキング緩衝液（ＰＢＳ－Ｔ、３％粉乳）中で３回及び０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０を含むＰＢＳ（１５０ｍＭ　ＮａＣｌ；８ｍＭ　Ｎａ２ＨＰＯ４；１．５ｍＭ　ＫＨ２ＰＯ４；ｐＨ＝７．４～７．６に調整）中で９回））の後、コーティングされた標的に特異的に結合するＦａｂファージを有するＤｙｎａｂｅａｄｓを直接使用して、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）ＨＢ１０１株に感染させた。続いて、Ｍ１３ＫＯ７　Ｈｅｌｐｅｒ　Ｐｈａｇｅ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（商標））を使用して大腸菌（Ｅ

．ｃｏｌｉ）ＨＢ１０１株でファージを増幅した。

【０７８７】

以下の選択ラウンドにおいて、標的濃度を減少させて、高親和性結合剤の選択圧を増大させた。

【０７８８】

【表７】

表 7.1:本発明による方法で得られた特異的ヒト抗ヒト CCR8 候補抗体の CDR

識別子	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
TPP-17575	SGSSSNIGNNYVS	GNSNRPS	QTWGTGIRV	SYAMH	LISWDGGSTYYADSVKG	GGIGRRPGLEY
TPP-17576	SGSSSNIGNNAVN	RNNQRSS	QSYDNSLSASV	SYAMS	RIRSKANSYATAYAASVKG	PLDS
TPP-17577	SGSSSNIGSNTVN	RNNQRPS	AAWDDSLKALV	NAWMS	VISYDGRNKYSADSVKG	GLPYGY
TPP-17578	SGSSSNIGSHTVN	RNNQRPS	AAWDDSLNGWV	NAWMS	GINWNGGSTGYADSVKG	TYSGHYGPYFDN
TPP-17579	SGSWSNIGNDNVY	RNNQRPS	QSYDRSLSGSV	TYWMT	GVSWNGSRTHYVDSVKR	YSGYPDYYGMDV
TPP-17580	SGSSSNIGSYPVN	RNNQRPS	SSYSVTDNLI	SYGMH	GVSWNGSRTRYADSVKG	GSYNSGWYAVS
TPP-17581	TGSSSNIGAGYDVH	SHNQRPS	SAWDSSLSAWV	NYRMT	GINWNGGSTGYADSVKG	GRFDTRGFYGFDY
TPP-18205	SGGNSNIGTYFVS	TNNQRPS	ETWDSNTRV	SYAMS	GIRWNSGSKGYAGSVKG	SGNYYVGYHGMDV
TPP-18206	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	HYGMH	GINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-18207	TGSSSNIGAGYDVH	KNNQRPS	AAWDDSLRGWV	NAWMS	GINWNGGSTGYADSVKG	TYTGNYGPYFDY

【０７８９】

【表８】

表 7.2a:優れた治療プロファイルを有する本発明による特異的ヒト抗ヒト CCR8 候補抗体の CDR

識別子	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
TPP-16966	SGSSSNIGSHIVN	GNTNRPS	SSYTSISTLV	SYSMN	GVSWAGSRTHYADSVKG	AAAGTRGFDY
TPP-17546	SGSSSNIGSHTVN	RNNQRPS	AAWDDSLNGWV	SAWMS	GISWSGGSTGYADSVKG	TYSGHYGPYFDY
TPP-17578	SGSSSNIGSHTVN	RNNQRPS	AAWDDSLNGWV	NAWMS	GINWNGGSTGYADSVKG	TYSGHYGPYFDN
TPP-18205	SGGNSNIGTYFVS	TNNQRPS	ETWDSNTRV	SYAMS	GIRWNSGSKGYAGSVKG	SGNYYVGYHGMDV
TPP-18206	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	HYGMH	GINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-19546	SGSSSNIGSHTVN	RNNQRPS	AAWDDSLNGWV	SAWMS	GISWSGGSTGYADSVKG	TYSGHYGPYFDY
TPP-20950	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	SYGMH	AIKWGGGSHGYADSVKG	GHHSGKDGRFFDY
TPP-20955	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	SYGMH	AIKWGGGSHGYADSVKG	GHHKGYDGRFFDY
TPP-20965	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	SYGMH	AIKWGGGSTGYADSVKG	GHHSGKDGRFFDY
TPP-21045	SGSSSNIGSHTVN	RNNQRPS	AAWDDSLNGWV	SAWMS	GISWSGGSTGYALSVKG	TYSGHYGPFFDY
TPP-21047	SGSSSNIGSHTVN	RNNQRPS	AAWDDSLNGWV	SAWMS	GISWSGGRTGYALSVKG	TYSGHYGPYFDY
TPP-21181	SGGNSNIGTYFVS	TNNQRPS	ETWDSNTRV	SYAMS	GIRWNNGSKGYAGSVKG	SGNYYYGYHGMDV
TPP-21183	SGGNSNIGTYFVS	TNNQRPS	ETWDSNTRV	SYAMS	GIRWNNGSKGYAGSVKG	SGNEYYGYHGMDV
TPP-23411	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	SYGMH	AINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY

【０７９０】

【表９】

表 7.2b:TPP-23411 に由来する抗ヒト CCR8 候補抗体の CDR

識別子	変異	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
TPP-29596	VL:A10V, T13A; VH:H31S; C 端子 K	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	SYGMH	GINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-29597	VL:T13; VH:H31S, G50A; C 端子 K	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	SYGMH	AINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-18429	VL:A10V	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	HYGMH	GINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-18430	VL:T13A	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	HYGMH	GINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-18432	VL:A10V, T13A	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	HYGMH	GINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-18433	VH:H31S	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	SYGMH	GINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-18436	VH:G50A	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	HYGMH	AINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-19571	VH:H31S, G50A	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	SYGMH	AINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-27477	VL:A10V; VH:H31S, G50A	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	SYGMH	AINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-27478	VL:T13A; VH:H31S, G50A	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	SYGMH	AINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-27479	VL:A10V, T13A; VH:H31S	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	SYGMH	GINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-27480	VL:A10V, T13A; VH:G50A	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	HYGMH	AINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-29367	C 端子 K	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	HYGMH	GINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-29368	VL:A10V, T13A; C 端子 K	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	HYGMH	GINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY
TPP-29369	VH:H31S, G50A; C 端子 K	TGSSSNIGAGYNVH	TNNRRPS	AAWDASLSGWV	SYGMH	AINWNGGSTGYADSVKG	GHHSGYDGRFFDY

【０７９１】

【表１０】

表 7.3:混合アプローチで誘導された特異的抗マウス CCR8 候補抗体の CDR

識別子	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
TPP-14099	SGSSFNIGSHFVY	KNNQRPS	AAWDDSLNGPV	DYGVH	GVSWNGSRTHYADSVKG	RGA
TPP-14095	SGSSSNIGSNYVY	GNNNRPS	AAWDDSLNGWV	SYGMH	AISGSGGSTYYADSVKG	GRQLGS
TPP-15285	SGSSFNIGSHFVY	KNNQRPS	AAWDDSLNGPV	DYGVH	GVSWNGSRTHYADSVKG	RGA
TPP-15286	SGSSSNIGSNYVY	GNNNRPS	AAWDDSLNGWV	SYGMH	AISGSGGSTYYADSVKG	GRQLGS

【０７９２】
【表１１】

表 8.1:ファージディスプレイ及び ELISA スクリーニングによる抗体選択に使用されるペプチドのリスト

ID	抗原	種	ドメイン	硫酸化	追加の修飾
TPP-13792	CCR8	マウス	TRD	なし	TTDS_リシンリンカーを介した N 末端ビオチン化
TPP-13793	CCR8	マウス	TRD	Y3, Y14, Y15	TTDS_リシンリンカーを介した N 末端ビオチン化
TPP-13799(オフターゲット)	CCR4	ヒト	TRD	なし	TTDS_リシンリンカーを介した N 末端ビオチン化
TPP-13800	CCR4	ヒト	TRD	Y19, Y22	TTDS_リシンリンカーを介した N 末端ビオチン化

【０７９３】
【表１２】

表 9.1:本発明による方法によって得られた特定のヒト抗ヒト CCR8 候補抗体についての HCDR3 の構造解析。

識別子	HCDR3	H	K	R	Y	D	E	% H	% K	% R	% Y	% D	% E	% (H+Y)	% 陽性	% 陰性	% 荷電	長さ
TPP-17575	GGIGRRPGLEY	0,0	0,0	2,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,0	18,2	9,1	0,0	9,1	9,1	18,2	9,1	27,3	11,0
TPP-17576	PLDS	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	25,0	0,0	0,0	0,0	25,0	25,0	4,0
TPP-17577	GLPYGY	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	33,3	0,0	0,0	33,3	0,0	0,0	0,0	6,0
TPP-17578	TYSGHYGPYFDN	1,0	0,0	0,0	3,0	1,0	0,0	8,3	0,0	0,0	25,0	8,3	0,0	33,3	8,3	8,3	16,7	12,0
TPP-17579	YSGYPDYYGMDV	0,0	0,0	0,0	4,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	33,3	16,7	0,0	33,3	0,0	16,7	16,7	12,0
TPP-17580	GSYNSGWYAVS	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	18,2	0,0	0,0	18,2	0,0	0,0	0,0	11,0
TPP-17581	GRFDTRGFYGFDY	0,0	0,0	2,0	2,0	2,0	0,0	0,0	0,0	15,4	15,4	15,4	0,0	15,4	15,4	15,4	30,8	13,0
TPP-18205	SGNYYVGYHGMDV	1,0	0,0	0,0	3,0	1,0	0,0	7,7	0,0	0,0	23,1	7,7	0,0	30,8	7,7	7,7	15,4	13,0
TPP-18206	GHHSGYDGRFFDY	2,0	0,0	1,0	2,0	2,0	0,0	15,4	0,0	7,7	15,4	15,4	0,0	30,8	23,1	15,4	38,5	13,0
TPP-18207	TYTGNYGPYFDY	0,0	0,0	0,0	4,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	33,3	8,3	0,0	33,3	0,0	8,3	8,3	12,0
平均		0,4	0,0	0,5	2,3	1,0	0,1	3,1	0,0	4,1	20,6	9,7	0,9	23,8	7,3	10,6	17,9	10,7

【０７９４】

【表１３】

表 9.2:優れた治療プロファイル、例えば低い内在化を有する特異的ヒト抗ヒト CCR8 候補抗体についての HCDR3 の構造解析。

識別子	HCDR3	H	K	R	Y	D	E	% H	% K	% R	% Y	% D	% E	% (H+Y)	% 陽性	% 陰性	% 荷電	長さ
TPP-16966	AAAGTRGFDY	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	10,0	10,0	10,0	0,0	10,0	10,0	10,0	20,0	10,0
TPP-17546	TYSGHYGPYFDY	1,0	0,0	0,0	4,0	1,0	0,0	8,3	0,0	0,0	33,3	8,3	0,0	41,7	8,3	8,3	16,7	12,0
TPP-17578	TYSGHYGPYFDN	1,0	0,0	0,0	3,0	1,0	0,0	8,3	0,0	0,0	25,0	8,3	0,0	33,3	8,3	8,3	16,7	12,0
TPP-18205	SGNYYVGYHGMDV	1,0	0,0	0,0	3,0	1,0	0,0	7,7	0,0	0,0	23,1	7,7	0,0	30,8	7,7	7,7	15,4	13,0
TPP-18206	GHHSGYDGRFFDY	2,0	0,0	1,0	2,0	2,0	0,0	15,4	0,0	7,7	15,4	15,4	0,0	30,8	23,1	15,4	38,5	13,0
TPP-19546	TYSGHYGPYFDY	1,0	0,0	0,0	4,0	1,0	0,0	8,3	0,0	0,0	33,3	8,3	0,0	41,7	8,3	8,3	16,7	12,0
TPP-20950	GHHSGKDGRFFDY	2,0	1,0	1,0	1,0	2,0	0,0	15,4	7,7	7,7	7,7	15,4	0,0	23,1	30,8	15,4	46,2	13,0
TPP-20955	GHHKGYDGRFFDY	2,0	1,0	1,0	2,0	2,0	0,0	15,4	7,7	7,7	15,4	15,4	0,0	30,8	30,8	15,4	46,2	13,0
TPP-20965	GHHSGKDGRFFDY	2,0	1,0	1,0	1,0	2,0	0,0	15,4	7,7	7,7	7,7	15,4	0,0	23,1	30,8	15,4	46,2	13,0
TPP-21045	TYSGHYGPFFDY	1,0	0,0	0,0	3,0	1,0	0,0	8,3	0,0	0,0	25,0	8,3	0,0	33,3	8,3	8,3	16,7	12,0
TPP-21047	TYSGHYGPYFDY	1,0	0,0	0,0	4,0	1,0	0,0	8,3	0,0	0,0	33,3	8,3	0,0	41,7	8,3	8,3	16,7	12,0
TPP-21181	SGNYYYGYHGMDV	1,0	0,0	0,0	4,0	1,0	0,0	7,7	0,0	0,0	30,8	7,7	0,0	38,5	7,7	7,7	15,4	13,0
TPP-21183	SGNEYYGYHGMDV	1,0	0,0	0,0	3,0	1,0	1,0	7,7	0,0	0,0	23,1	7,7	7,7	30,8	7,7	15,4	23,1	13,0
TPP-23411	GHHSGYDGRFFDY	2,0	0,0	1,0	2,0	2,0	0,0	15,4	0,0	7,7	15,4	15,4	0,0	30,8	23,1	15,4	38,5	13,0
平均		1,3	0,2	0,4	2,6	1,4	0,1	10,1	1,6	3,5	21,3	10,8	0,5	31,4	15,2	11,4	26,6	12,4

【０７９５】

マウスＣＣＲ８に結合する抗体を生成するために、Ｎ末端領域内でマウスＣＣＲ８チロシンリッチドメイン（ＴＲＤ）に対する結合活性を示す抗体を同定するための選択戦略を設計した。マウスＣＣＲ８　ＴＲＤペプチドの陽性選択のために、５０％の正常ペプチド及び５０％の硫酸化ペプチドを含有する混合物を使用した（配列番号４５非硫酸化（ＴＰＰ－１３７９２）又はＹ３、Ｙ１４、Ｙ１５が硫酸化されている（ＴＰＰ－１３７９３））。Ｎ末端領域内のヒトＣＣＲ４　ＴＲＤであるビオチン化オフターゲットペプチドを使用して、枯渇工程を含めた。また、ヒトＣＣＲ４の枯渇工程は、硫酸化ペプチドと非硫酸化ペプチドの混合物（配列番号１９非硫酸化（ＴＰＰ－１３７９９）又はＹ１９及びＹ２２が硫酸化されている（ＴＰＰ－１３８００））に対して行った。

【０７９６】

パンニング戦略は、それぞれが硫酸化ペプチドと非硫酸化ペプチドの特定の混合物に対して、合計４回のパンニングラウンドを行うことであった（図５を参照）。

【０７９７】

各クローンプールについて、モノクローナル培養及びランダムに選んだ８８個のＦａｂファージクローンの発現を行い、続いて、パニングの前に使用したそれぞれの標的への結合についてクローンを試験した。しかしながら、硫酸化ペプチド及び非硫酸化ペプチドについて別々のＥＬＩＳＡ測定を行った。

【０７９８】

さらに、ヒト、マウス及びカニクイザルＣＣＲ８を発現する細胞への結合をフローサイトメトリー（ＦＡＣＳ）によって決定した。

【０７９９】
特定の結合剤は、特定の文脈において、
（ｉ）ＥＬＩＳＡアッセイにおいて、オフターゲットに対するシグナル強度よりも少なくとも１０倍高い標的に対するシグナル強度、及び
（ｉｉ）ＦＡＣＳアッセイにおいて、ＣＣＲ８を発現していない対照細胞株についてのシグナルよりも少なくとも１０倍高いＣＣＲ８発現細胞株についてのシグナル、を示す分子として定義される。
【０８００】
これらの測定において、抗体ＴＰＰ－１４０９５及びＴＰＰ－１４０９９を同定し、マウスＣＣＲ８発現細胞への結合を実証したが、対照細胞、ヒトＣＣＲ８を発現する対照細胞、又はカニクイザルＣＣＲ８を発現する対照細胞への結合は実証しなかった。さらに、抗体は、硫酸化ＴＲＤペプチドに結合するが、非硫酸化ペプチドには結合しないことが分かった。
【０８０１】
［実施例９］
ＣＣＲ８抗体の構造的特徴付け
６つのＣＤＲループのうち、Ｈ３ループは最大の構造多様性を示し、結合部位の中心に位置する。それはまた、親和性成熟を通じて最も多くの突然変異を獲得し、平均して抗原との接触数が最も多い。したがって、それは抗原結合において重要な役割を果たす。
【０８０２】
先の実施例で得られた抗体の特異的構造を分析すると、驚くべきことに、ＨＣＤＲ３の組成が通常のヒトＨＣＤＲ３ドメインと構造的に異なることが見出された。より詳細には、ヒト抗ヒトＣＣＲ８抗体のＨＣＤＲ３ドメインは、一致した長さを有するランダムな完全ヒトＨＣＤＲ３について予想されるよりも実質的に高い数のチロシン残基（特異的ヒトＣＣＲ８結合剤の初期セットでは約２０％、最適化候補体では約２１％）を有していた（約１０％、Ｚｅｍｌｉｎ，Ｍｉｃｈａｅｌ，ｅｔ ａｌ．“Ｅｘｐｒｅｓｓｅｄ ｍｕｒｉｎｅ ａｎｄ ｈｕｍａｎ ＨＣＤＲ３ ｉｎｔｅｒｖａｌｓ ｏｆ ｅｑｕａｌ ｌｅｎｇｔｈ ｅｘｈｉｂｉｔ ｄｉｓｔｉｎｃｔ ｒｅｐｅｒｔｏｉｒｅｓ ｔｈａｔ ｄｉｆｆｅｒ ｉｎ ｔｈｅｉｒ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄ ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎ ａｎｄ ｐｒｅｄｉｃｔｅｄ ｒａｎｇｅ ｏｆ ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ．”Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｂｉｏｌｏｇｙ ３３４．４（２００３）：７３３－７４９．を参照）。
【０８０３】
これらのデータは、硫酸化抗原への特異的結合に対するチロシンの存在の有益な影響を示唆している。最適化された抗体は、ヒスチジン頻度の実質的な増加を更に特徴とした。
【０８０４】
これらの抗体について、ヒスチジン含有量は平均１０％であった。一致した長さのＨＣＤＲ３におけるヒスチジンの平均存在は、マウスＨＣＤＲ３ではおよそ２％であり、ヒトＨＣＤＲ３では更に低い（Ｚｅｍｌｉｎ，Ｍｉｃｈａｅｌ，ｅｔ ａｌ．（２００３）を参照）。
【０８０５】
選択に使用される抗原は、硫酸化チロシン及び負に荷電したアミノ酸の形態で提供される負電荷を特徴とするため、本発明者らは、ＨＣＤＲ３における正電荷の発生が硫酸化抗原への結合を改善するが、非硫酸化抗原への結合にはそれほど必須ではないと仮定した。
【０８０６】
最初に得られた抗体セットのＨＣＤＲ３の正に荷電した残基（Ｈ、Ｋ、Ｒ）の頻度はおよそ７％であったが、改善された抗体はＨＣＤＲ３当たり平均１５％の正アミノ酸を有していた（例えば、最大約３１％）。
【０８０７】
本発明による抗体は、通常の完全ヒトＨＣＤＲ３よりも高いチロシン頻度を特徴とする

。これらの高いチロシン頻度はマウスＣＤＲでより容易に得られるが、これは、ＣＣＲ８等のＣＣケモカイン受容体を特異的に認識するヒト抗ヒト抗体を得るための以前の試みが成功しなかった理由を説明し得る。

【０８０８】

［実施例１０］

抗ＣＣＲ８抗体の機能的特徴付け

細胞株

ヒトＣＣＲ８、カニクイザルＣＣＲ８又はマウスＣＣＲ８を発現する安定なＨＥＫ２９３及びＣＨＯ細胞株を、当技術分野で知られているように、Ｉｎｓｃｒｅｅｎｅｘを使用して作製した。胸腺腫細胞株Ｈｕｔ－７８及びリンパ腫細胞株ＴＡＬＬ－１をＡＴＣＣから入手し、内因性ＣＣＲ８発現を示すことを確認した。ＣＣＲ８発現は変動し得るため、発現レベルをモニターした。

【０８０９】

ヒトＴ制御性細胞

健常ドナーのＰＢＭＣからのＦＡＣＳ選別されたＣＤ４＋及びＣＤ２５＋細胞は、ＢｉｏＩＶＴ、ＡｌｌＣｅｌｌｓ、又はＳｔｅｍＣｅｌｌ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓのいずれかから購入した。細胞を解凍し、培養物中で一晩回収した後、細胞を、ＭｉｌｔｅｎｙｉからのＴｒｅｇ増殖用に設計され、Ｔｒｅｇ拡張キットプロトコルによって指示されるようにＩＬ－２（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）が補充された抗ＣＤ３及び抗ＣＤ２８ビーズで活性化した。典型的には、ナイーブＰＢＭＣの活性化後、ＣＣＲ８発現は５～７日目の間で最も高く、一次活性化の７～９日後に細胞を再刺激することができる。再刺激すると、ＣＣＲ８発現は２～４日目に最も高かった。

【０８１０】

［実施例１０．１．１］

異なる種由来のＣＣＲ８に結合する親和性の評価

ＦＡＣＳ実験

ヒト、カニクイザル及びマウスＣＣＲ８並びに更なるケモカイン受容体に対する抗体の親和性を、当技術分野で公知のようにＦＡＣＳによって決定した。簡単に記載すると、ＣＨＯ細胞を、それぞれの種からＣＣＲ８を発現するように操作した。あるいは、ヒトドナー由来の活性化ヒトＴｒｅｇを使用して、活性化Ｔｒｅｇに対する抗体の親和性を決定した。ＥＣ５０値をＦＡＣＳによって決定した。全ての候補体は、ヒトＣＣＲ８に対する優れた親和性を有し、ＥＣ５０が下位の桁のナノモル範囲であるだけでなく、カニクイザルＣＣＲ８に対する優れた親和性も同程度の大きさであった。これらの種における類似の親和性は、ヒトにおける後の安全性問題の予測のための研究を容易にするために重要である。マウスモデルはヒトにおける免疫学的副作用の予測に大きな制限があるため、これは免疫腫瘍学における治療抗体の探索における大きな問題である。ヒトＴｒｅｇとの結合について決定されたＥＣ５０は、表１０．１．１．１に示される本発明の抗体について１０ｎＭ～２５ｎＭの間であった。

【０８１１】

ヒトＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞、カニクイザルＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞、又は活性化ヒトＴｒｅｇ（ドナー１）における本発明の抗体の親和性を、それぞれ図６、７及び８に示す。

【０８１２】

【表１４】

表 10.1.1.1:本発明の抗体の EC50 値(nM)FACS 染色を、ヒト CCR8 若しくはカニクイザル CCR8 のいずれかを安定に発現する CHO 細胞、又はヒト活性化 CD4+CD25+T 細胞に対して行った。これらの細胞を Miltenyi の Treg 拡張キットで活性化した。

	TPP-17578	TPP-19546	TPP-18206	TPP-21360
hCCR8 を有する CHO:EC50(nM)	1.66	0.78	0.64	0.40
cynoCCR8 を有する CHO:EC50(nM)	1.04	0.52	0.67	0.34
ヒト Treg:EC50(nM)	25.12	15.25	23.1	10.35

【０８１３】

抗体ＴＰＰ－２３４１１及びＴＰＰ－２１３６０は、重鎖のＣ末端に付加された１つのリジン残基によって互いに逸脱しており、すなわちＴＰＰ－２３４１１はリジンを含む。

【０８１４】

ＴＰＰ－２３４１１及びＴＰＰ－２１３６０を、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８への結合について別々のＦＡＣＳ実験で試験した。ヒトＣＣＲ８並びにカニクイザルＣＣＲ８の結合についてのＥＣ５０曲線は、２つの抗体間で完全に整列していた（データは示さず、ＩＣ５０値については表１０．１．１．２を参照）。

【０８１５】

【表１５】

表 10.1.1.2:nM で測定した候補体の EC50 値。染色を、ヒト CCR8 又はカニクイザル CCR8 のいずれかを安定に発現する CHO 細胞に対して行った。

	TPP-21360	TPP-23411
hCCR8 を有する CHO:EC50(nM)	1.4	1.7
cynoCCR8 を有する CHO:EC50(nM)	0.8	0.9

【０８１６】

ＴＰＰ－２１１８１及びＴＰＰ－２３４１１を、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８への結合について別々のＦＡＣＳ実験で試験した（図９、１０を参照）。それぞれのＥＣ５０値を表１０．１．１．３に列挙する。

【０８１７】

【表１６】

表 10.1.1.3:nM で測定した抗体の EC50 値。染色を、ヒト CCR8 又はカニクイザル CCR8 のいずれかを安定に発現する CHO 細胞に対して行った。

	TPP-21181	TPP-23411
hCCR8 を有する CHO:EC50(nM)	4.8	4.4
cynoCCR8 を有する CHO:EC50(nM)	1.8	1.3

【０８１８】

更なるＦＡＣＳ実験では、先行技術抗体Ｌ２６３Ｇ８（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）及び４３３Ｈ（ＩＣＯＳ、ＢＤ）を、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８への結合に関してＴＰＰ－２１３６０と比較した（図１１、１２及び表１０．１．１．４を参照）。先行技術抗体は、カニクイザルＣＣＲ８に対する全体的な結合が低いか、又は実質的に全くなかった（低飽和、ここではＭＦＩ＜＜１０００）。本発明による抗体のみが、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８を同じ程度の親和性で、すなわち場合によってはサブナノモル濃度範囲でさえも特異的に認識した。

【０８１９】

【表１７】

表 10.1.1.4:L263G8 及び 433H と比較した TPP-21360 の EC50 値。染色を、ヒト CCR8 又はカニクイザル CCR8 のいずれかを安定に発現する CHO 細胞に対して行った。

	TPP-21360	L263G8	433H
hCCR8 を有する CHO:EC50(nM)	0.58	0.31	2.8
cynoCCR8 を有する CHO:EC50(nM)	0.51	132	12.1

【０８２０】

これらの結果は、硫酸化抗原の使用が、それらの意図された標的に特異的なＣＣＲ８等の困難な標的に対するカニクイザル／ヒト等の交差反応性抗体の生成を促進することを示す。概念実証として、図１３に示すように、活性化ヒトＴｒｅｇを本発明の抗体ＴＰＰ－２３４１１又は先行技術抗体Ｌ２６３Ｇ８で染色した。マウスＣＣＲ８を認識する本発明の抗体は、表１０．１．１．５に示すように、それらの標的に対して同様に優れた親和性を有する。

【０８２１】

【表１８】

表 10.1.1.5:TPP-14095 及び TPP-14099 の EC50 値。FACS 染色を、マウス CCR8 を発現する CHO 細胞に対して行った。

	TPP-14095	TPP-14099
EC50(nM)	0.7	3

【０８２２】

表１０．１．１．６は、ヒトＣＣＲ８若しくはカニクイザルＣＣＲ８でトランスフェクトしたＣＨＯ細胞、又は内因性ヒトＣＣＲ８を発現するＨｕｔ７８細胞への様々な本発明の更なる抗ヒトＣＣＲ８抗体の結合についてのＥＣ５０値を示す。興味深いことに、Ｇ５０Ａ変異を有する抗体は、カニクイザルＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞に対してより高い結合親和性を有していた。したがって、このフレームワーク変異を含む抗ＣＣＲ８抗体が好ましい。

【０８２３】

【表１９】

表 10.1.1.6 本明細書の他の箇所に記載されるヒト CCR8 若しくはカニクイザル CCR8 でトランスフェクトした CHO 細胞、又はヒト CCR8 を内因的に発現する細胞株 HuT78 への本発明の抗ヒト CCR8 抗体の結合を特徴付ける M の EC50 値。

抗体	hCCR8:CHO EC50 [M]	cynoCCR8:CHO EC50 [M]	HuT78 EC50[M]
TPP-17577	1.11E-08	9.81E-09	
TPP-17578	1.15E-08	2.72E-09	1.78E-07
TPP-18205	8.33E-09	8.59E-08	1.41E-07
TPP-18206	2.63E-09	2.23E-09	4.70E-08
TPP-20955	4.69E-10	4.75E-10	4.56E-10
TPP-21047	2.56E-09	3.77E-10	5.02E-09
TPP-23411	1.38E-09	7.76E-10	2.78E-09
TPP-27495	1.32E-09	5.35E-10	3.25E-09
TPP-27496	1.51E-09	4.55E-10	3.68E-09
TPP-18429	1.48E-09	2.25E-09	2.93E-08
TPP-18430	1.69E-09	1.37E-09	5.24E-08
TPP-18432	2.21E-09	3.33E-09	1.91E-08
TPP-18433	1.48E-09	1.92E-09	3.30E-08
TPP-18436	1.12E-09	4.42E-10	3.76E-09
TPP-19571	1.48E-09	8.79E-10	1.49E-09
TPP-27478	2.74E-09	1.02E-09	
TPP-27477	1.01E-09	4.18E-10	2.10E-09
TPP-27479	2.22E-09	5.88E-09	1.31E-08
TPP-27480	1.14E-09	7.70E-10	4.71E-09

【０８２４】

［実施例１０．１．２］

異なる種の未修飾ＴＲＤドメインに対する抗体の結合親和性の特性評価のためのＳＰＲ実験

修飾されていない（すなわち、非硫酸化）抗原に対する抗体の親和性を分析するために、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）結合アッセイを、アッセイ緩衝液ＨＢＳ－ＥＰ＋１ｘ、１ｍｇ／ｍｌ　ＢＳＡ、３００ｍＭ　ＮａＣｌを用いて、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ２００装置において２５℃で行った。ＣＭ５センサーチップに結合した抗ヒトＦｃ　ＩｇＧ共有結合アミンを使用して、ＩｇＧを捕捉した。Ｎ末端Ｈｉｓ６タグ化ヒトＣＣＲ８　ＴＲＤ（ＴＰＰ－１９９５０：ＭＤＹＴＬＤＬＳＶＴＴＶＴＤＹＹＹＰＤＩＦＳＳＰ、配列番号４３）、カニクイザルＣＣＲ８　ＴＲＤ（ＴＰＰ－１９９５２：ＭＤＹＴＬＤＰＳＭＴＴＭＴＤＹＹＹＰＤＳＬＳＳＰ、配列番号４４）又はマウスＣＣＲ８　ＴＲＤ（ＴＰＰ－１９９５１：ＭＤＹＴＭＥＰＮＶＴＭＴＤＹＹＰＤＦＦＴＡＰ、配列番号４５）をヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）とＣ末端融合させて、ＣＣＲ８－ＨＳＡ融合タンパク質を生成した。それぞれのＣＣＲ８－ＨＳＡ融合タンパク質を、多環反応速度モードで１．５６～２００ｎＭの濃度範囲を有する分析物として使用した。得られたセンサーグラムを１：１ラングミュア結合モデルに当てはめた。ヒト抗ヒトＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－２３４１１及びＴＰＰ－２１３６０については、結合が低く（１６０ｎＭ）、カニクイザルＣＣＲ８　ＴＲＤへの結合は更に低く、例えばμＭ範囲であり、本発明の抗体の抗体認識のための硫酸化の重要性を裏付けている。

【０８２５】

【表２０】

表 10.1.2.1:SPR によって決定されたヒト、カニクイザル又はマウス CCR8 の His6 タグ付き HSA 融合 TRD に対する本発明の抗体の結合親和性。カニクイザル CCR8 ペプチドへの結合はμM 範囲内であり、試験した最高濃度が 200nM であったため近似値である。HSA 単独及びアイソタイプ対照は結合を示さなかった(データは示さず)。

リガンド	分析物	k_a[1/Ms]	k_d[1/s]	K_D[M]
TPP-21360	カニクイザル	3.5E+04	1.3E-01	3.8E-06
	ヒト	1.2E+05	1.8E-02	1.6E-07
	マウス	結合なし		
TPP-14099	カニクイザル	結合なし		
	ヒト	結合なし		
	マウス	2.2E+03	1.1E-03	5.2E-07
TPP-23411	カニクイザル	6.2E+03	1.2E-01	2.0E-05
	ヒト	1.1E+05	1.7E-02	1.6E-07
	マウス	結合なし		

【０８２６】

［実施例１０．１．３］

結合親和性の体系的特性評価のためのＳＰＲ実験

ＳＰＲ結合アッセイを行って、ａ）非硫酸化抗原対硫酸化抗原、ｂ）ＴＲＤ対Ｎ末端、及びｃ）ヒト対カニクイザルＣＣＲ８に対する抗体結合を体系的に評価した。アッセイ緩衝液１×ＨＢＳ－ＥＰ＋（注文番号ＢＲ１００８２６、Ｃｙｔｉｖａ）を用いて、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ２００装置（Ｃｙｔｉｖａ）で２５℃でＳＰＲ結合アッセイを行った。ペプチドをリガンドとして使用し、ストレプトアビジンコーティングセンサーチップ（「センサーチップＳＡ」、注文番号ＢＲ１００３９８、Ｃｙｔｉｖａ）上のそれらのＣ末端ビオチン標識を使用して捕捉した。この目的のため、ビオチン化のための各ペプチドのＣ末端に末端リジン（Ｋ）を付加した。ＣＣＲ８のＮ末端については、ＴＲＤドメインとＬＩＤドメインとの間の天然に存在するシステインをセリンで置き換えた。抗体を分析物として使用した（ＴＰＰ－１９５４６、ＴＰＰ－２１１８１、ＴＰＰ－２３４１１、ｈＩｇＧ１アイソタイプ対照ＴＰＰ－９８０９及びｍＩｇＧ２ａアイソタイプ対照ＴＰＰ－１０７４８）。アッセイ緩衝液中の分析物の濃度は０．０５～１０ｎＭであり、測定は多サイクル速度モードで行った。各サイクル後にセンサ表面をグリシンｐＨ２．０で再生した。得られたセンサーグラムを二重参照（参照フローセルシグナルと緩衝液注入の減算）し、１：１ラングミュア結合モデルに当てはめて、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ２００評価ソフトウェアを使用して速度論データを導出した。

【０８２７】

【表２１】

表 **10.1.3.1:**抗体のエピトープを特徴付けるために使用されるペプチドのリスト。カニクイザル**(#1**、**2**、**5**、**6)**又はヒト**(#3**、**4**、**7**、**8)CCR8** に由来する **CCR8** の **TRD** 配列**(#1~4)**又は **N** 末端**(#5~8)**を含むペプチドであって、硫酸化**(#2**、**4**、**6**、**8)**又は非硫酸化**(#1**、**3**、**5**、**7)**のいずれかであるペプチド。**SO3:**硫酸残基。**Biot:**固定化のためのビオチン修飾。

#	種類	ペプチド配列
1	**Cyno_TRD**	H-CMD**Y**TLDPSMTTMTD**YYY**PDSLSSPK(Biot)-OH
2	**Cyno_TRD_Ys**	H-CMD**Y(SO3)** TLDPSMTTMTD**Y(SO3) YY(SO3)** PDSLSSPK(Biot)-OH
3	**HUMAN_TRD**	H-CMD**Y**TLDLSVTTVTD**YYY**PDIFSSPK(Biot)-OH
4	**HUMAN_TRD_Ys**	H-CMD**Y(SO3)** TLDLSVTTVTD**Y(SO3) YY(SO3)** PDIFSSPK(Biot)-OH
5	**Cyno_NTerm**	H-CMD**Y**TLDPSMTTMTD**YYY**PDSLSSPSDGELIQRNDKK(Biot)-OH
6	**Cyno_NTerm_Ys**	H-CMD**Y(SO3)** TLDPSMTTMTD**Y(SO3) YY(SO3)** PDSLSSPSDGELIQRNDKK(Biot)-OH
7	**HUMAN_NTerm**	H-CMD**Y**TLDLSVTTVTD**YYY**PDIFSSPSDAELIQTNGKK(Biot)-OH
8	**HUMAN_NTerm_Ys**	H-CMD**Y(SO3)** TLDLSVTTVTD**Y(SO3) YY(SO3)** PDIFSSPSDAELIQTNGKK(Biot)-OH

【０８２８】

分析された本発明の抗体ＴＰＰ－１９５４６、ＴＰＰ－２１１８１及びＴＰＰ－２３４１１については、種とは無関係に、ＣＣＲ８の非硫酸化ＴＲＤ又は非硫酸化Ｎ末端への結合は検出されなかった。対照的に、ｐＭ範囲のK_D値による優れた親和性を、例えばカニクイザル及び／又はヒトＣＣＲ８の硫酸化ＴＲＤ及び硫酸化Ｎ末端について決定した。場合によっては、ＴＲＤ及びヒトＣＣＲ８のＮ末端に結合するためのK_D値は実質的に同じであり、すなわち誤差範囲内であった。他の場合では、Ｎ末端への結合がわずかに改善された。

【０８２９】

要約すると、これらの結果は、硫酸化チロシンが結合の原因であることを実証している。それらは更に、硫酸化ＴＲＤが結合に必要かつ十分であるが、エピトープとしての完全Ｎ末端の存在が場合によっては結合を更に改善し得ることを示唆している。最後に、これらの結果は、ヒト及びカニクイザルＣＣＲ８の交差反応性も実証している。

【０８３０】

【表２２】

表 10.1.2.3:カニクイザル又はヒト CCR8 の TRD 又は N 末端に対する本発明の抗体の SPR 結合親和性。奇数のペプチドは未修飾チロシンを特徴とし、偶数のペプチドは硫酸化チロシン(Y)を特徴とする。アイソタイプ対照は、いずれのペプチドへの結合も示さなかった(データは示さず)。1)mp=多相:近似値。

ペプチド	#	抗体	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	R_{Max}(RU)	リガンドレベル(RU)	%単位の活性	1)
Cyno_TRD	1	IgG01_TPP-19546		結合なし			12		
Cyno_TRD_Ys	2		4.92E+06	8.44E-04	1.71E-10	46	12.4	81.8	mp
HUMAN_TRD	3			結合なし			17		
HUMAN_TRD_Ys	4		6.69E+06	1.62E-03	2.42E-10	36	14.5	54.8	mp
Cyno_NTerm	5			結合なし			27		
Cyno_NTerm_Ys	6		1.67E+07	1.54E-03	9.22E-11	58	12	106.9	mp
HUMAN_NTerm	7			結合なし			14		
HUMAN_NTerm_Ys	8		2.61E+07	4.19E-03	1.60E-10	24	21	25.2	mp
Cyno_TRD	1	IgG02_TPP-21181		結合なし			12		
Cyno_TRD_Ys	2		4.23E+09	5.87E+00	1.39E-09	30	12.4	52.9	mp
HUMAN_TRD	3			結合なし			17		
HUMAN_TRD_Ys	4		5.56E+09	1.60E+01	2.87E-09	16	14.5	23.8	mp
Cyno_NTerm	5			結合なし			27		
Cyno_NTerm_Ys	6		1.23E+10	1.07E+01	8.68E-10	43	12	78.5	mp
HUMAN_NTerm	7			結合なし			14		
HUMAN_NTerm_Ys	8		7.69E+06	2.22E-02	2.88E-09	16	21	17.0	mp
Cyno_TRD	1	IgG03_TPP-23411		結合なし			12		
Cyno_TRD_Ys	2		4.38E+06	4.54E-04	1.04E-10	46	12.4	82.1	mp
HUMAN_TRD	3			結合なし			17		
HUMAN_TRD_Ys	4		2.86E+06	4.40E-04	1.54E-10	47	14.5	71.0	mp
Cyno_NTerm	5			結合なし			27		
Cyno_NTerm_Ys	6		8.21E+06	4.64E-04	5.65E-11	62	12	112.9	mp
HUMAN_NTerm	7			結合なし			14		
HUMAN_NTerm_Ys	8		9.19E+06	8.05E-04	8.76E-11	32	21	33.6	mp

【０８３１】

［実施例１０．２］

結合の特異性

標的陰性ヒト細胞株への非特異的結合を決定するために、本明細書の他の箇所に記載されるようにＦＡＣＳ分析を行った。擬似トランスフェクタントを含むＣＨＯ細胞では、抗ヒトＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－２３１６０の非特異的結合は観察されなかった（図１４）。

【０８３２】

さらに、ＨＥＫ細胞をヒトＣＣＲ１又はヒトＣＣＲ４で一過性にトランスフェクトした。オフターゲット結合は、ほとんどの本発明の抗体について低かった（図１５、１６）。

【０８３３】

異なる腫瘍組織由来の細胞株を有する細胞パネルを使用して、これらの組織における非特異的結合を特徴付けた（表１０．２．１）。全体的なプロファイルは、ほとんどの抗体について好都合であったが、いくつかの抗体についてはある程度の多反応性を観察するこ

とができた。全体として、多反応性の程度は、全ての本発明の抗体についての治療適用について許容され得る範囲であった。しかしながら、ＴＰＰ－２０９５０、ＴＰＰ－１８２０６、ＴＰＰ－１８４２９、ＴＰＰ－１８４３０及びＴＰＰ－１８４３３は、より高い程度の多反応性を示し、以下に示す７つの細胞株のうち少なくとも２つ又は３つである程度の結合を示した。

【０８３４】

【表２３】

表 10.2.1:細胞パネルにおける本発明の抗体の多反応性。該当する場合、EC50 を M で示す。

	肝臓	肝臓	腎臓	腎臓	肺	結腸	バーキットリンパ腫
抗体	HepG2	SKHep1	786-O	A498	H292	HT29	Raji
TPP-19546	なし	なし	なし	なし	なし	なし	
TPP-20950	なし	なし	なし	8,35E-07	7,59E-07	なし	
TPP-20955	なし	なし	なし	なし	なし	なし	
TPP-21045	1,48E-07	なし	なし	なし	なし	なし	
TPP-21360	なし	なし	なし	なし	なし	なし	
TPP-5657(アイソタイプ)	なし	なし	なし	なし	なし	なし	
TPP-17577	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-17578	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-18205	なし	なし	なし	なし	結合	なし	なし
TPP-18206	結合	結合	結合	なし	なし	なし	なし
TPP-20955	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-21047	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-23411	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-27478	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-27479	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-27480	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-27477	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-27477	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-27460	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-27461	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-27496	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-27495	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-18429	結合	結合	結合	なし	なし	なし	なし
TPP-18430	結合	結合	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-18432	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-18433	結合	結合	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-18436	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
TPP-23411(afuco)	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし

【０８３５】

第１のＥＬＩＳＡベースの実験を実施して、抗体ＴＰＰ－１８２０６、ＴＰＰ－１７５７８、ＴＰＰ－１９５４６及びＴＰＰ－２３４１１並びに２つの参照抗体について、ＢＶＰ、インスリン又はＤＮＡへの非特異的結合を分析した。インスリン、ＤＮＡ及び／又はＢＶＰに対する本発明の抗体の非特異的結合は、これらの抗原に対する第１の参照抗体（ガンテネルマブ、Ｒｏｃｈｅ）の非特異的結合よりも低く、これらの抗原に対する第２の参照抗体（レミケード、Ｊａｎｓｓｅｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）の非特異的結合よりも低かっ

た。試験した本発明の抗体の中で、ＴＰＰ－２３４１１は、ＤＮＡ、ＢＶＰ及びインスリンのそれぞれについて最も低い多反応性を示した。

【０８３６】

第２のＥＬＩＳＡベースの実験を行って、ＴＰＰ－１８２０６（ｗｔ又はａｆｕｃｏ）、ＴＰＰ－２１３６０　ａｆｕｃｏ、ＴＰＰ－２３４１１（ｗｔ又はａｆｕｃｏ）、ＴＰＰ－２０９５５、ＴＰＰ－２１０４７及び参考文献ＴＰＰ－９８０９（アイソタイプ対照）、ガンテネルマブ（ＴＰＰ－１２１５１）、レンジルマブ（ＴＰＰ－１２１６６）、レミケード（ＴＰＰ－１２１６０）及びアバスチン（ＴＰＰ－１７５８６）の抗体について、ＢＶＰ、インスリン又はＤＮＡへの非特異的結合を分析した。インスリン、ＤＮＡ及びＢＶＰに対する試験した本発明の抗体の非特異的結合は、第１の参照抗体（ガンテネルマブ、Ｒｏｃｈｅ）の非特異的結合よりも低かった。ＴＰＰ－２０９５５及びＴＰＰ－２１０４７は、他の本発明の抗体よりも全体的に非特異的な結合を示した（データは示さず）。全体として、多反応性の程度は、それらのアフコシル化状態とは無関係に、全ての本発明の抗体の治療用途にとって許容範囲内であった。

【０８３７】

第３のＥＬＩＳＡに基づく実験を行って、ＴＰＰ－２７４９５（ＹＴＥ）、ＴＰＰ－２７４９６（ＬＳ）、ＴＰＰ－１８４２９、ＴＰＰ－１８４３０、ＴＰＰ－１８４３２、ＴＰＰ－１８４３３、ＴＰＰ－１８４３６、ＴＰＰ－２７４７９、ＴＰＰ－２７４８０及び対照抗体のＢＶＰ、インスリン又はＤＮＡへの非特異的結合を分析した。全体として、多反応性の程度は、ＹＴＥ又はＬＳ変異とは無関係に、全ての本発明の抗体の治療用途にとって許容範囲内であった。

【０８３８】

ヒトＴｒｅｇとは異なる免疫細胞集団に対する本発明のＣＣＲ８抗体の望ましくない結合を、これらの細胞集団の染色によって分析した（図１７参照）。

【０８３９】

図１８は、活性化後のヒトＴｒｅｇ上のＣＣＲ８の上方制御を示す。

【０８４０】

［実施例１０．３］

ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰ誘導の評価

［実施例１０．３．１］

抗体のアフコシル化

本発明による抗体を、抗体ＦＣ領域とエフェクター細胞によって発現されるＦＣ受容体との間の相互作用を改善するために、ＧｌｙｍａｘＸ技術（米国特許第８６４２２９２号を参照）を使用して糖鎖工学的に操作した。簡単に記載すると、この技術は、デノボフコース合成経路を真核細胞によって代謝され得ない糖ヌクレオチドＧＤＰ－ラムノースに向け直す細菌酵素ＧＤＰ－６－デオキシ－Ｄ－リキソ－４－ヘキシロースレダクターゼの異種細胞質共発現に基づく。これは、フコースプールを枯渇させ、Ｎ－グリカンのコア部分（コアフコースなし）及び可変部分（分岐型（ａｎｔｅｎｎａｒｙ）フコースなし）の両方で、アフコシル化抗体の産生をもたらす。それはまた、Ｏ－グリカンのフコシル化及びタンパク質－Ｏ－フコシル化を阻害する。実施例１０．３．２に示すように、Ｎ２９７上のＮ－グリカンからフコースを除去すると、ＦｃγＲに対する親和性が増加した。

【０８４１】

［実施例１０．３．２］

ＳＰＲに基づくヒトＦｃ受容体結合分析

ＡＤＣＣ又はＡＤＣＰに関与するヒトエフェクター細胞上に発現されるそれぞれのＦＣ受容体に結合する本発明の抗体及びそれらのアフコシル化バージョンの能力を決定するために、ＣＭ５センサーチップ及びアッセイ緩衝液ＨＢＳ－ＥＰ＋５００ｍＭ　ＮａＣｌを用いて２５℃でＴ２００機器でＳＰＲ結合アッセイを実施した。ＦｃγＲ変異体をアミンカップリング抗Ｈｉｓ捕捉抗体（ａｂ）によって捕捉し、ＩｇＧを２５μＭまでの濃度で分析物として使用した。ＫＤ値は、定常状態親和性分析から、又は１：１ラングミュア等

温線に適合した速度データから導出した。抗体のアフコシル化バージョンは、ヒトＦｃｇＲＩＩＩａとカニクイザルＦｃｇＲＩＩＩａの両方に対する結合の増加を示し、ＡＤＣＣ誘導の改善、したがって両種の本発明の抗体のアフコシル化形態でのＴｒｅｇ枯渇を示唆した（表１０．３．２．１）。

【０８４２】

さらに、カニクイザル及びヒトＦｃγＲＩＩＩの両方に対する同等の親和性は、カニクイザル動物モデルにおいてＡＤＣＣ有効性をモデル化するために重要である。げっ歯類モデルはしばしば治療用抗体の免疫学的副作用を反映するのに適していないので、これらのモデル系は腫瘍免疫学において特に重要である。本発明によるアフコシル化抗体は、カニクイザル及びヒトにおけるそれぞれのＦＣ受容体について非常に匹敵する親和性を示した。

【０８４３】

【表２４】

表 10.3.2.1:異なる FC 受容体に対する本発明の抗体の親和性の SPR 分析。イタリック体:最高濃度が 25μM であり、飽和に達しなかった場合のみ近似;n.e.評価不可;n.b.結合なし;res.bdg:残留結合、定量的に評価できない;KD>25μM:飽和曲線外の適合値。TPP-9809:アイソタイプ対照。

KD [M]	操作	ヒト Fc ガンマ RI/CD64	ヒト Fc ガンマ RIIA/CD32a (R167)	ヒト Fc ガンマ RIIIB/CD16b	ヒト Fc ガンマ RIIB/C(CD32b/c)	ヒト Fc ガンマ RIIIA/CD16a (V176)	ヒト Fc ガンマ RIIIA/CD16a (F176)(Acro)	カニクイザル Fc ガンマ RIII/CD16	カニクイザル Fc ガンマ RIIA/CD32a	カニクイザル Fc ガンマ RIIB/CD32b
TPP-19546	Afuco	1,10E-08	2,20E-05	4,30E-06	n.b.	3,40E-07	4,20E-07	1,40E-07	KD>25 μM	KD>25 μM
TPP-19546		1,80E-07	n.b.	n.b.	n.b.	4,80E-06	KD>10 μM	3,10E-06	n.b.	n.b.
TPP-20950	Afuco	1,10E-07	1,70E-05	4,60E-06	KD>25 μM	2,80E-07	3,70E-07	1,70E-07	KD>25 μM	KD>25 μM
TPP-20950		1,80E-07	n.b.	n.b.	n.b.	7,60E-06	KD>20 μM	5,80E-06	n.b.	n.b.
TPP-20955	Afuco	1,40E-07	6,20E-06	3,10E-06	9,80E-06	3,40E-07	4,20E-07	1,80E-07	KD>25 μM	KD>25 μM
TPP-20955		2,80E-07	n.b.	n.b.	n.b.	8,90E-06	KD>25 μM	5,60E-06	n.b.	n.b.
TPP-20965	Afuco	1,10E-07	1,60E-05	4,60E-06	n.b.	4,30E-07	5,20E-07	1,90E-07	KD>25 μM	KD>25 μM
TPP-20965		2,00E-07	KD>25 μM	n.b.	n.b.	3,10E-06	7,60E-06	2,30E-05	n.b.	n.b.
TPP-21045	Afuco	7,95E-09	1,06E-05	3,31E-06	n.b.	2,88E-07	3,16E-07	1,17E-07	KD>25 μM	KD>25 μM
TPP-21045		7,62E-08	KD>25 μM	n.b.	n.b.	3,84E-06	KD>25 μM	2,23E-06	n.b.	n.b.
TPP-21047	Afuco	7,73E-08	9,00E-06	2,97E-06	KD>25 μM	2,44E-07	2,68E-07	9,39E-08	KD>25 μM	KD>25 μM
TPP-21047		7,26E-08	1,51E-05	n.b.	KD>25 μM	2,79E-06	1,01E-05	1,46E-06	KD>25 μM	KD>25 μM
TPP-21360	Afuco	1,32E-07	1,22E-05	4,63E-06	KD>25 μM	4,01E-07	4,78E-07	1,74E-07	KD>25 μM	KD>25 μM
TPP-21360		2,72E-07	n.b.	n.b.	n.b.	5,76E-06	KD>25 μM	3,39E-06	n.b.	n.b.
TPP-9809	Afuco	1,32E-07	1,29E-05	5,03E-06	KD>25 μM	4,59E-07	5,68E-07	2,13E-07	KD>25 μM	KD>25 μM
TPP-9809		1,69E-07	1,74E-05	KD>25 μM	KD>25 μM	5,43E-06	1,38E-05	4,28E-06	KD>25 μM	KD>25 μM
TPP-9809	野生型	2,30E-07	1,77E-05	1,96E-05	KD>25 μM	5,57E-06	1,32E-05	2,26E-06	KD>25 μM	1,84E-05

【０８４４】

［実施例１０．３．３］

ＣＣＲ８抗体によって媒介されるＡＤＣＣ誘導

［実施例１０．３．３．１］

抗ヒトＣＣＲ８抗体によって媒介されるＡＤＣＣ誘導

機能的ＡＤＣＣアッセイのために、ヒトＣＣＲ８を発現するＨＥＫ細胞又は活性化ヒトＴｒｅｇのいずれかを標的細胞として使用し、ＮＫ９２ｖ－ＧＰＦ－ＣＤ１６　１７６Ｖ（ＮａｎｔＫｗｅｓｔ）をエフェクター細胞として使用した。９６ウェル組織培養処理プレートにおいて、ＣＣＲ８を発現するそれぞれの標的細胞とエフェクター細胞との４：１

の比の共培養物を、様々な濃度の治療用抗体の存在下で、１％熱不活性化ＦＢＳ、１００Ｕ／ｍｌ　Ｐｅｎ／Ｓｔｒｅｐ、１ｍＮピルビン酸Ｎａ、及び１×ＮＥＡＡを含むＲＰＭＩ１６４０中でインキュベートした。ジギトニンを最大溶解のために使用し、ＣｙｔｏＴｏｘ－Ｇｌｏ（Ｐｒｏｍｅｇａ）を２時間のインキュベーションの最後にアッセイに添加した。ＣｙｔｏＴｏｘ－ｇｌｏ　Ｐｒｏｍｅｇａプログラムを使用して、未処理の発光値を決定した。平均最大バックグラウンド、ＭＭＢ＝（標的最大）－（標的自発的）を使用して溶解％を計算する。％Ｌｙｓｉｓ＝（未処理の発光－ａｂなし）／ＭＭＢ×１００。

【０８４５】

抗体候補体ＴＰＰ－１９５４６（上のパネル）及びＴＰＰ－２１３６０（下のパネル）について、アフコシル化は、ＡＤＣＣ誘導細胞傷害性をヒトＣＣＲ８を発現するＨＥＫ細胞でそれぞれ約５０及び約７０％に増加させた（図１９を参照）。約８５％のＣＣＲ８発現を有する活性化ヒトＴｒｅｇでは、アフコシル化ＴＰＰ－２１３６０又はＴＰＰ－２３４１１に起因するＡＤＣＣ由来細胞傷害性は５９％又は５２％と高かった（図２０、表１０．３．３．１．３を参照）。アフコシル化ＴＰＰ－２１３６０について、エフェクター細胞としてＮＫ９２ｖを使用した約８５％のＣＣＲ８発現を有する活性化ヒトＴｒｅｇについての％細胞傷害性の平均ＥＣ５０は約２０ｐＭであった。表１０．３．３．１．１～１０．３．３．１．６は、異なる本発明の抗体及び／又は異なるドナーについての結果を示す。

【０８４６】

【表２５】

表 10.3.3.1.1:ADCC アッセイのまとめ:標的細胞として活性化 Treg を使用し、エフェクター細胞として NK92v 細胞株を使用した EC50 及び最大応答。

ADCC 効力					
抗体	アイソタイプ	ドナー1730		ドナー1213	
		EC_{50} (nM)	最大応答 (%)	EC_{50} (nM)	最大応答(%)
TPP-17577	WT	5.76E+11	13	~7.98e+014	10
	Afuco	4.57	40	1.85	41
TPP-18342	WT	1.50	15	0.37	25
	Afuco	0.28	40	0.295	62
TPP-17578	WT	1.97E+05	8		5
	Afuco	19.0	38	9.2	25
TPP-18205	WT	~1.8e-2	24	~5.58e-3	20
	Afuco	1.05	58	0.23	52
TPP-18206	WT	4.68	12	8.59E+15	4
	Afuco	1.68	51	0.23	47
TPP-9809	Afuco		6		4
モガムリズマブ		1.09	65	0.31	58

【０８４７】

【表２６】

表 10.3.3.1.2:ADCC アッセイのまとめ:標的細胞として活性化 Treg を使用し、エフェクター細胞として NK92v 細胞株を使用した EC50 及び最大応答。このアッセイで使用した全ての TPP をアフコシル化した。

ADCC 効力(ドナー1100)							
	TPP-19546	TPP-21360	TPP-20945	TPP-20950	TPP-20955	Iso afuco	Moga
hTreg EC_{50}(pM)	8840	4.41	3.2	9.51	5.82	NA	35.2
最大応答(%)	54	98	96	97	91	36	96
R^2	0.75	0.80	0.61	0.89	0.50	NA	0.94

【０８４８】
【表２７】
表 10.3.3.1.3:ADCC アッセイのまとめ:標的細胞として活性化 Treg を使用し、エフェクター細胞として NK92v 細胞株を使用した EC50 及び最大応答。この研究で使用した活性化ヒト Treg は、約 85% の CCR8 発現を有していた。

ADCC 効力(ドナー1100)							
	TPP-21360		TPP-23411		TPP-9809		Moga
	WT	Afuco	WT	Afuco	WT	Afuco	
hTreg EC_{50}(pM)	271	18.5	10763	22.1	NA	NA	193.4
最大応答(%)	26	59	27	52	8	8	74
R2	0.97	0.98	0.61	0.96	NA	NA	0.89

【０８４９】
【表２８】
表 10.3.3.1.4:ADCC アッセイのまとめ:標的細胞として活性化 Treg を使用し、エフェクター細胞として NK92v 細胞株を使用した EC50 及び最大応答。この研究で使用した活性化ヒト Treg は、約 31% の CCR8 発現しか有していなかった。

ADCC 効力(ドナー1261)							
	TPP-21360		TPP-23411		TPP-9809		Moga
	WT	Afuco	WT	Afuco	WT	Afuco	
hTreg EC_{50}(pM)	81.3	65.6	~157	55.9	NA	NA	86.4
最大応答(%)	13	25	8	24	2	3	71
R^2	0.27	0.90	0.30	0.64	NA	NA	0.97

【０８５０】
【表２９】
表 10.3.3.1.5:ADCC アッセイ:標的細胞としてヒト CCR8(>95%CCR8)を発現する HEK 細胞及びエフェクター細胞として NK92v 細胞株を使用した EC50 及び Max 応答。

ADCC 効力:HEK-hCCR8+NK92v				
アフコシル化	TPP-27479	TPP-27478	TPP-23411	TPP-9809
EC50 (pM)	363	110	141	N/A
最大応答(%)	32	35	35	17
R^2	0.94	0.82	0.85	N/A
ADCC 効力:HEK-hCCR8+NK92v				
アフコシル化	TPP-29369	TPP-29367	TPP-23411	TPP-9809
EC50 (pM)	26.3	137	68.7	N/A
最大応答(%)	38	22	34	7
R^2	0.65	0.36	0.71	N/A

【０８５１】

【表３０】

表 10.3.3.1.6:ADCC アッセイ:標的細胞としてヒト CCR8(>95%CCR8)を発現する HEK 細胞及びエフェクター細胞として NK92v 細胞株を使用した EC50 及び Max 応答。

ADCC 効力:HEK-hCCR8+NK92v					
アフコシル化	TPP-29369	TPP-29367	TPP-23411	TPP-29368	TPP-9809
EC50 (pM)	99	460	167	2892	N/A
最大応答(%)	36	31	41	25	20
R^2	0,91	0,83	0,89	0,72	N/A
ADCC 効力:HEK-hCCR8+NK92v					
n=2	TPP-27479	TPP-27478	TPP-23411	TPP-29368	TPP-9809
EC50 (pM)	823	11	182	2292	N/A
最大応答(%)	25	32	25	26	8
R^2	0,67	0,57	0,66	0,36	N/A

【０８５２】

［実施例１０．３．３．２］

抗マウスＣＣＲ８抗体（代用抗体）によって媒介されるＡＤＣＣ誘導

本発明のヒト抗ヒト／カニクイザルＣＣＲ８抗体の挙動を本発明のヒト抗マウスＣＣＲ８代用抗体と比較するために、後者を同様にＡＤＣＣ誘導について特徴付けた。代理抗体の機能的ＡＤＣＣアッセイを、エフェクター細胞として初代マウスＮＫ細胞を使用し、標的細胞としてＨＥＫ２９３細胞及びＢＷ　５４１７．３（データは示さず）を発現するマウスＣＣＲ８を使用して行った。血清ＩｇＧへのＣＣＲ８抗体の非特異的結合を回避するために、共培養中に超低ＩｇＧ含有培地を使用した。さらに、ｉｎ　ｖｉｖｏ状況をより密接に反映するために、エフェクター細胞を添加する前に、標的細胞を最初に代理ＣＣＲ８抗体とプレインキュベートし、エフェクター細胞上のより良好なＦｃγＲＩＩＩクラスター形成、すなわちＡＤＣＣ作用様式の初期段階を可能にした。エフェクター細胞及び標的細胞を、Ｕ底９６ウェルプレートを使用して２０時間、１％超低ＩｇＧ　ＦＢＳ　Ｏｎｅ　Ｓｈｏｔ培地を含むＲＰＭＩ１６４０中で１０：１の比で共培養した。代理抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５及びアイソタイプ対照抗体ＴＰＰ－１０７４８を様々な濃度段階で使用した。細胞傷害性は、ＣｙｔｏＴｏｘ－Ｇｌｏ（商標）細胞傷害性アッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ）を使用して決定した（％細胞傷害性＝［（実験値－抗体なしの対照／（標的細胞の最大溶解－標的細胞の自発溶解）］×１００％）。代用ＣＣＲ８抗体の添加後に標的細胞とエフェクター細胞との共培養によって実験値を決定した。対照値は、本発明の抗体を添加せずに標的細胞をエフェクター細胞と共培養することによって決定した。アッセイの開始時にジギトニンを添加した標的細胞について、最大溶解値を決定した。

【０８５３】

自発的溶解値は、更なる試薬を添加せずにアッセイ培地中で標的細胞の自発的溶解を測定することによって決定した。標的細胞の９２％～９７％がマウスＣＣＲ８の発現を示した（ＦＡＣＳによって測定）。ＴＰＰ－１５２８５のＡＤＣＣ関連細胞傷害性は約３９％であり、平均ＥＣ５０は約１１１ｐＭであった（表１０．３．３．２．１）。最も高い本発明の抗体濃度はフック効果をもたらし、提案されたＡＤＣＣベースの作用様式を更に支持した。したがって、最適化された機能的ＡＤＣＣアッセイにより、ＡＤＣＣが本発明の代用ＣＣＲ８抗体のｉｎ　ｖｉｖｏ有効性のための関連する作用様式であることが確認され、したがって、抗ヒトＣＣＲ８抗体のための代用抗体としての抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５の適合性が確認された。

【０８５４】

【表３１】

表 10.3.3.2.1:フコシル化(野生型)代用 CCR8 抗体を使用した ADCC アッセイの概要。

ADCC 効力(野生型)		
	TPP-15285	TPP-10748
EC_{50} (pM)	111	NA
最大応答(%)	39	7
R^2	0.89	NA

【０８５５】

【表３２】

表 10.3.3.2.2:野生型代用 CCR8 抗体 TPP-15285 によって誘導された細胞傷害性を%で示す ADCC アッセイ(4 複製)。

ng/ml	TPP-15285				TPP-10748			
10000	15.02	36.48	33.42	20.33	-1.62	5.23	6.95	-8.48
1000	15.04	38.89	39.03	35.56	-0.77	-2.64	3.93	-0.76
100	22.44	29.84	28.11	43.39	3.27	3.99	-0.64	-1.41
10	-2.14	8.68	3.88	35.69	11.76	-1.64	-7.4	1.79
1	-8.82	-7.13	5.02	11.33	5.46	-3.06	-5.7	-0.72
0,1	-8.4	-2.87	5.78	9.85	10.44	-8.69	4.64	-0.8
0,01	-12.68	-2.77	10.75		3.8	1	5.51	

【０８５６】

［実施例１０．３．４］

抗ＣＣＲ８抗体によって媒介されるＡＤＣＰ誘導

［実施例１０．３．４．１］

抗ヒトＣＣＲ８抗体によって媒介されるＡＤＣＰ誘導

マクロファージ（Ｍ２ｃ）エフェクター細胞を生成するために、健常ドナー（ＡｌｌＣｅｌｌｓ）のＰＢＭＣからＣＤ１４＋細胞を負に選択した（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ）。Ｍ２ｃマクロファージの分化を、ＳｔｅｍＣｅｌｌ　Ｔｅｃｈ（図２１参照）によって提供される８日間の分化プロトコルに従って行った。アッセイ日に、ＦＡＣＳを使用して、ＣＤ１６、ＣＤ３２、ＣＤ６４、ＣＤ１６３、ＣＤ２０６、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ８０及びＣＤ１４の発現についてＭ２ｃを染色した。標的細胞は、ヒトＣＣＲ８を発現するＨＥＫ細胞又は活性化ヒトＴｒｅｇ細胞のいずれかであった。簡潔には、製造業者の指示に従って、標的細胞をカルボキシフルオレセインスクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ）（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）で標識した。標的細胞を、４：１の標的対エフェクター比で異なる濃度の抗体及びエフェクター細胞を含む９６ウェルプレート中の共培養物中でインキュベートした。これらのアッセイでは、抗ＣＤ４７（陽性対照）を１μｇ／ｍｌで添加した。これにより、信号をブロックしないため、応答が向上する。３～４時間のインキュベーション後、試料をＭＡＣＳＱｕａｎｔ又はＡｔｔｕｎｅフローサイトメーターで実行した。食作用％をＣＤ２０６＋ＣＦＳＥ＋二重陽性細胞によって決定した。ＣＤ２０６は、マクロファージ上に発現されるマーカーである。

【０８５７】

Ｍ１マクロファージは、同じ供給源材料（新鮮なＰＢＭＣ）から同様に生成された。簡単に記載すると、ＣＤ１４＋細胞を陰性選択によって単離し、５０ｎｇ／ｍＬのＭ－ＣＳＦを含む無血清培地（ＳｔｅｍＣｅｌｌ　Ｔｅｃｈ　Ｉｍｍｎｏｃｕｌｔ）中で４日間培養した。しかしながら、５日目に、Ｍ１マクロファージは１０ｎｇ／ｍＬ　ＬＰＳ＋５０ｎｇ／ｍＬ　ＩＦＮ－ｇの添加によって極性化したのに対して、Ｍ２ｃマクロファージは

１０ｎｇ／ｍＬ　ＩＬ－１０の添加によって極性化した。

【０８５８】

図２２は、エフェクター細胞としてのｉｎ　ｖｉｔｒｏ分化マクロファージＭ２ｃを有する標的細胞としてのヒトＣＣＲ８を発現するＨＥＫ細胞における食作用の誘導を示す。

【０８５９】

本発明の抗体ＴＰＰ－１９５４６、ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１の野生型及びアフコシル化バージョンの両方がＡＤＣＰを誘導した。図２３及び２４並びに表１０．３．４．１．１～１０．３．４．１．７は、複数の本発明の抗体、複数のドナー及び異なるマクロファージ集団についてのＥＣ５０及び最大応答によって特徴付けられるＡＤＣＰ誘導を示す。全ての抗体について、かなりの程度のＡＤＣＰが観察された。

【０８６０】

【表３３】

表 **10.3.4.1.1:ADCP** アッセイのまとめ**:**標的細胞として活性化 **Treg** を使用し、エフェクター細胞として **M2c** マクロファージを使用した **EC50** 及び **Max** 応答。このアッセイで使用した全ての **TPP** をアフコシル化した。**TPP-9809** はアイソタイプ対照である。ヒト **Treg** ドナーについては、**1212 CCR8** が **40%**の細胞によって発現された。

ADCP 効力(hTreg ドナー1212+M2c ドナー)						
	TPP-19546	TPP-21045	TPP-21360	TPP-20950	TPP-20955	TPP-9809
EC50 (pM)	NA	1220	577	128	408	NA
最大応答(%)	20	30	39	32	29	15
R^2	NA	0.49	0.88	0.71	0.83	NA

【０８６１】

【表３４】

表 **10.3.4.1.2:ADCP** アッセイのまとめ**:**標的細胞として活性化 **Treg** を使用し、エフェクター細胞として **M2c** マクロファージを使用した **EC50** 及び **Max** 応答。**TPP-9809** はアイソタイプ対照である。ヒト **Treg** ドナーについては、**1163 CCR8** が **67%**の細胞によって発現された。

ADCP 効力(hTreg ドナー1163+M2c ドナー1)								
	TPP-19546		TPP-21045		TPP-21360	TPP-20965	TPP-9809	
	WT	Afuco	WT	Afuco	Afuco	Afuco	WT	Afuco
EC50 (pM)	NA	NA	130	30.1	205	766	NA	NA
最大応答(%)	14	15	27	28	39	44	11	10
R^2	NA	NA	0.95	0.88	0.96	1.0	NA	NA

【０８６２】

【表３５】

表 **10.3.4.1.3:ADCP** アッセイのまとめ**:**標的細胞として活性化 **Treg** を使用し、エフェクター細胞として **M2c** マクロファージを使用した **EC50** 及び **Max** 応答。**TPP-9809** はアイソタイプ対照である。ヒト **Treg** ドナーについては、**1163 CCR8** が **67%**の細胞によって発現された。

ADCP 効力(hTreg ドナー1163+M2c ドナー2)								
	TPP-19546		TPP-21045		TPP-21360	TPP-20965	TPP-9809	
	WT	Afuco	WT	Afuco	Afuco	Afuco	WT	Afuco
EC50 (pM)	~ 1.688e+007	404.4	162	52.9	105	300	NA	NA
最大応答(%)	18	18	27	28	37	36	11	14
R^2	0.94	0.87	0.98	0.95	0.97	0.98	NA	NA

【０８６３】

【表３６】

表 10.3.4.1.4:ADCP アッセイのまとめ:標的細胞として活性化 Treg を使用し、エフェクター細胞として M2c マクロファージを使用した EC50 及び Max 応答。TPP-9809 はアイソタイプ対照である。ヒト Treg ドナーについては、1212 CCR8 が 40%の細胞によって発現された。

ADCP 効力(ヒト Treg ドナー1212+M2c ドナー3)						
アフコシル化	TPP-20965	TPP-21360	TPP-21045	TPP-20950	TPP-20955	TPP-9809
EC50 (pM)	163	51	9.2	23	14	NA
最大応答(%)	14	14	13	14	13	7
R^2	0.99	0.96	0.79	0.93	0.96	NA

【０８６４】
【表３７】

表 10.3.4.1.5:ADCP アッセイのまとめ:標的細胞として活性化 Treg を使用し、エフェクター細胞として M2c マクロファージを使用した EC50 及び Max 応答。TPP-9809 はアイソタイプ対照である。ヒト Treg ドナーについては、1212 CCR8 が 40%の細胞によって発現された。

ADCP 効力(ヒト Treg ドナー1212+M2c ドナー4)						
アフコシル化	TPP-20965	TPP-21360	TPP-21045	TPP-20950	TPP-20955	TPP-9809
EC50 (pM)	563	27.5	17.1	10.7	13.2	NA
最大応答(%)	23	23	23	24	23	14
R^2	0.93	0.99	0.99	0.97	0.98	NA

【０８６５】
【表３８】

表 10.3.4.1.6:ADCP アッセイのまとめ:標的細胞として活性化 Treg を使用し、エフェクター細胞として M2c マクロファージを使用した EC50 及び Max 応答。TPP-9809 はアイソタイプ対照である。

ADCP 効力(ヒト Treg ドナー1100+M2c ドナー5)						
	TPP-21360		TPP-23411		TPP-9809	
	WT	Afuco	WT	Afuco	WT	Afuco
EC50 (pM)	1855	2003	1607	2188	NA	NA
最大応答(%)	25	25	26	26	19	21
R^2	0.94	0.90	0.87	0.90	NA	NA

【０８６６】
【表３９】

表 10.3.4.1.7:ADCP アッセイのまとめ:標的細胞として活性化 Treg を使用し、エフェクター細胞として M2c マクロファージを使用した EC50 及び Max 応答。TPP-9809 はアイソタイプ対照である。

ADCP 効力(ヒト Treg ドナー1261+M2c ドナー6)						
	TPP-21360		TPP-23411		TPP-9809	
	WT	Afuco	WT	Afuco	WT	Afuco
EC50 (pM)	870	664	1257	613	NA	NA
最大応答(%)	24	23	23	23	17	18
R^2	0.99	0.97	0.95	0.97	NA	NA

【０８６７】

【表４０】

表 10.3.4.1.7:Incucyte ライブイメージングを用いた ADCP アッセイの概要:エフェクター細胞としてマクロファージ及び標的細胞としてヒト CCR8 発現 HEK 細胞を 4:1 の比で使用した EC50 及び最大応答。ヒト CCR8 発現は 80%であった。TPP-9809 はアイソタイプ対照である。M2c マクロファージを超低接着 96 ウェルプレートにプレーティングした。様々な濃度の治療用抗体を添加した後、pHrodo red dye(Sartorius#4649)標識標的細胞を添加し、プレートを 37℃及び 5%CO_2 でインキュベートした。位相差画像及び赤色蛍光画像を自動的に取得し、Incucyte S3 の 20 倍対物レンズを使用して 12 時間 30 分ごとに分析した(4 つの写真/ウェル、三連)。ADCP 誘導は、試験した治療用野生型抗体について様々であった。

ADCP 効力(ヒト CCR8-HEK+M2c ドナー)						
	TPP-23411	TPP-29368	TPP-29369	TPP-27478	TPP-27479	TPP-9809
EC50 (pM)	227	326	102	151	79.5	NA
最大応答(%)	13.7	15.0	13.3	10.9	9.8	6.7
R^2	0.97	0.97	0.96	0.93	0.95	NA

【０８６８】

［実施例１０．３．４．２］

抗マウスＣＣＲ８抗体（代用抗体）によって媒介されるＡＤＣＰ誘導

本発明のヒト抗ヒト／カニクイザルＣＣＲ８抗体の挙動を本発明のヒト抗マウスＣＣＲ８代用抗体と比較するために、後者を同様にＡＤＣＰ誘導について特徴付けた。機能的ＡＤＣＰアッセイのために、初代マウス骨髄由来Ｍ２マクロファージをエフェクター細胞として使用し、マウスＣＣＲ８発現ＨＥＫ２９３細胞及びＢＷ　５４１７．３細胞（データは示さず）を標的細胞として使用した。エフェクター細胞を生成するために、マウス骨髄由来マクロファージを２４ウェルプレートに播種し、２０ｎｇ／ｍｌのＭ－ＣＳＦ、０．０５μｇ／ｍｌのＩＬ－４及び０．０５μｇ／ｍｌのＩＬ－１３を添加することによってＭ２マクロファージに極性化した。標的細胞をカルボキシフルオレセインスクシンイミジルエステル色素（ＣＦＳＥ、ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）で標識し、２：１のエフェクター対標的比でエフェクター細胞に添加した。最後に、代用抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５及びアイソタイプ対照ＴＰＰ－１０７４８を様々な濃度で添加した。２時間の共培養後、細胞をマウスＭ２マクロファージマーカーＦ４／８０について染色し、Ｆ４／８０＋及びＣＦＳＥ＋二重陽性マクロファージの割合を測定するフローサイトメトリーを使用して食作用の％を決定した。標的細胞の９２％～９７％がマウスＣＣＲ８の発現を示した（ＦＡＣＳによって測定）。ＴＰＰ－１５２８５によって誘導された食作用は約１１％であり、平均ＥＣ５０は約４０２ｐＭであった（表１０．３．４．２．１）。最も高い抗体濃度はフック効果をもたらし、示唆された作用様式を更に裏付けた。さらに、最適化された機能的ＡＤＣＰアッセイにより、ＡＤＣＰが本発明の代用ＣＣＲ８抗体のｉｎ　ｖｉｖｏ有効性のための関連する作用様式であることが確認され、したがって、抗ヒトＣＣＲ８抗体のための代用抗体としての抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５の適合性が確認された。

【０８６９】

【表４１】

表 10.3.4.2.1:フコシル化(野生型)代用 CCR8 抗体を使用した ADCP アッセイの概要。

	TPP-15285	TPP-10748
EC50 (pM)	402	NA
最大応答(%)	11	5
R^2	0.93	NA

【０８７０】
【表４２】
表 10.3.4.2.2:代用 CCR8 抗体を使用した ADCP アッセイ。

ng/ml	TPP-15285		TPP-10748	
10000	9	9.28	4.26	4.47
1000	10.33	11.61	4.96	4.12
100	8.3	8.79	4.93	5.61
10	4.99	4.49	3.6	4.12
1	4.34	4.28	3.59	4.54

【０８７１】
［実施例１０．４］
ＣＣＲ８抗体によるＣＣＲ８シグナル伝達の調節
ＣＣＬ１はＣＣＲ８の特異的リガンドである。ＣＣＲ８に結合すると、ＣＣＬ１はカルシウム（Ｃａ）フラックス、走化性、及びβ－アレスチンシグナル伝達を介した受容体内在化を誘導することができ、後者はおそらくＧタンパク質シグナル伝達とは無関係である。抗体がＧＰＣＲを調節することができる少なくとも６つの異なる方法がある。
【０８７２】
１．インバースアゴニストは、結合すると、ＧＰＣＲの潜在的な内因性活性化を止める。ＣＣＲ８の場合、内因性活性化は例えば約１０％であり得る。
【０８７３】
２．β－アレスチン又はＧタンパク質に偏ったアンタゴニストは、Ｇタンパク質依存性シグナル伝達又はβ－アレスチンシグナル伝達のいずれかを遮断し、それぞれの他の経路に影響を及ぼさない。
【０８７４】
３．中性アンタゴニストは、Ｇタンパク質及びβ－アレスチンシグナル伝達経路の両方を遮断することができる。
【０８７５】
４．完全アゴニストは、Ｇタンパク質及びβ－アレスチンシグナル伝達経路の両方を活性化する。
【０８７６】
５．β－アレスチン又はＧタンパク質に偏ったアゴニストは、Ｇタンパク質シグナル伝達経路又はβ－アレスチンシグナル伝達経路のいずれかを活性化するが、両方を活性化するわけではない。
【０８７７】
６．二量体化促進アゴニストは、２つのＧＰＣＲを、例えば抗体の異なるアームと架橋し、様々なシグナル伝達活性をもたらす。
【０８７８】
腫瘍内Ｔｒｅｇを枯渇させるためのＡＤＣＣ及びＡＤＣＰに基づくアプローチの場合、抗体がＣＣＲ８に対して有し得る潜在的なシグナル伝達効果を排除することが理想的であろう。これを評価するために、本発明者らは、Ｇタンパク質依存性シグナル伝達の読み出しとしてＣａフラックスアッセイを使用し、Ｇタンパク質非依存性シグナル伝達経路の読み出しとしてβ－アレスチン活性化及びホスホシグナル伝達を使用した。ホスホＥｒｋ１／２はＭＡＰキナーゼ経路に関与し、様々な細胞応答を調節するが、ホスホＡＫＴはＰＩ３キナーゼ経路に関連することが周知であり、ＣＣＲ８では走化性の促進に関与することが示されている。ＡＫＴ経路は細胞の生存及び成長の促進にも関与しており、最近、ＣＣＬ１はＣＣＲ８発現細胞の生存を促進することが示されている（Ｂａｒｓｈｅｓｈｅｔ，Ｙｉｆｔａｈ，ｅｔ ａｌ．“ＣＣＲ８＋ＦＯＸｐ３＋Ｔｒｅｇ ｃｅｌｌｓ ａｓ ｍａｓｔｅｒ ｄｒｉｖｅｒｓ ｏｆ ｉｍｍｕｎｅ ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎ．”Ｐｒｏｃｅｅ

dings of the National Academy of Sciences 114.23(2017):6086−6091.)。

【0879】

[実施例10.4.1]

β−アレスチンシグナル伝達をモニタリングするためのDiscoverXアッセイ

刺激、すなわちCCR8に対するCCL1等のリガンドの結合に応答して、GPCRは、β−アレスチンシグナル伝達等のGタンパク質非依存性シグナル伝達を活性化することができる。これは、ケモカイン受容体の内在化をもたらし得る(Fox, James M., et al."Structure/Function Relationships of CCR8 Agonists and Antagonists. Amino-terminal extension of CCL1 by a single amino acid generates a partial agonist."Journal of Biological Chemistry 281.48(2006):36652−36661)。β−アレスチンアッセイは、DiscoverXから購入した。簡単に記載すると、CCR8は、小さい酵素ドナー断片ProLink(商標)(PK)とインフレームで融合され、β−アレスチンの融合タンパク質及びβ−ガラクトシダーゼのより大きなN末端欠失変異体(酵素アクセプター又はEAと呼ばれる)を安定に発現する細胞において共発現される。CCR8の活性化は、PKタグ化CCR8へのβ−アレスチンの結合を刺激し、2つの酵素断片の相補を強制し、活性β−ガラクトシダーゼ酵素の形成をもたらす。この相互作用は、化学発光PathHunter検出試薬を用いて測定することができる酵素活性の増加をもたらす。

【0880】

第1の実験では、抗体又はCCL1を、ProLink及びEAでタグ化されたヒトCCR8を共発現するCHO細胞と90分間インキュベートした後、検出剤を添加した。先行技術抗体も本発明の抗体もβ−アレスチンシグナル伝達を誘導しなかった(図25)。

【0881】

次の実験では、細胞をEC80のCCL1で刺激してβ−アレスチンシグナル伝達を活性化し、本発明の抗体又は先行技術抗体を添加して、活性化されたβ−アレスチンシグナル伝達を遮断する能力を評価した。驚くべきことに、β−アレスチンシグナル伝達は、先行技術抗体L263G8及び433Hの両方によって遮断されたが、本発明の抗体TP−23411は、少なくとも100nMの濃度まで、β−アレスチンシグナル伝達に対して有意な効果を示さなかった(図26)。

【0882】

【表43】

表 10.4.1.1:nM で測定された TPP-23411 並びに先行技術抗体 L263G8 及び 433H の CCL1 誘導性β-アレスチンシグナル伝達の阻害についての IC50 値。染色を、ProLink によりタグ化されるヒト CCR8 を安定に発現する CHO 細胞に対して行った。本発明の抗体について IC50 を決定することができず、TPP-23411 が CCL1 誘導性β-アレスチンシグナル伝達を遮断しないことを示唆した。

	TPP-23411	L263G8	433H
hCCR8 を有する CHO:nM での IC50	N/A	13.84	0.78

【0883】

[実施例10.4.2]

ホスホELISA

ホスホAKTシグナル伝達は生存及び成長を促進するが、ホスホErk1/2シグナル伝達は様々な細胞応答を調節する。ホスホErk1/2及びホスホAKT抗体をCell Signalingから購入し、ELISAアッセイを製造業者のプロトコルに従って実施した。ヒトCCR8又は活性化ヒトTregを発現するCHO細胞を、CCL1、TPP−23411、Biolegend L263G8又はBD抗体433Hで処理した、

又は陰性対照については未処理のままにした。ＣＣＬ１は陽性対照としての役割を果たした。興味深いことに、先行技術抗体Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ　Ｌ２６３Ｇ８及びＢＤ抗体４３３Ｈは両方とも、例えば活性化ヒトＴｒｅｇにおいて１５分後に、リン酸化Ｅｒｋ１／２レベル（図２７、２８）並びにリン酸化ＡＫＴレベル（図２９、３０）の有意な増加を誘導したが、これは本発明の抗体には当てはまらなかった。

【０８８４】

要約すると、両方の先行技術抗体は、ＡＫＴリン酸化又はＥＲＫ１／２リン酸化等のＧタンパク質非依存性経路に対してアゴニスト的である。

【０８８５】

［実施例１０．４．３］

カルシウムフラックスアッセイ

細胞内カルシウム動員の測定は、ＣＣＲ８等の潜在的な薬物標的に対する化合物又は抗体の効果を研究するためにハイスループット様式で行うことができるロバストなアッセイである。この目的のために、蛍光ベースのＦＬＩＰＲカルシウムアッセイ（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ、カリフォルニア州サニーベール）を使用して、Ｃａ２＋の放出を介してシグナル伝達する受容体の活性をモニターすることができる。簡単に記載すると、ヒトＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞をアッセイプレートに播種し、一晩インキュベートした。次いで、細胞にＣａ＋感受性色素ＢＵＶ３９６／４９６を負荷した。

【０８８６】

拮抗機能の測定のために、ＦＬＩＰＲ　Ｔｅｒａを介したＣａフラックスシグナルのモニタリングを、異なる濃度の抗体又は参照化合物（ＭＣ１４８）の細胞への添加と並行して開始した。細胞と抗体又は参照化合物との１分間のインキュベーション後、ＣＣＬ１アゴニストを添加し、カルシウムフラックスシグナルをＦＬＩＰＲ　Ｔｅｔｒａによって更に３分間記録した。アゴニスト機能を測定するために、抗体／参照化合物を、ＦＬＩＰＲによるＣａフラックスシグナルの３分間のモニタリングと並行して添加した。

【０８８７】

表１０．４．３．１～１０．４．３．４は、抗マウス又は抗ヒトＣＣＲ８抗体のカルシウムフラックスアッセイの結果を示す。ＴＰＰ－１４０９９及びＴＰＰ－２１０４７についてはＩＣ５０を決定することができなかった。更なる本発明の抗体のＩＣ５０は変動した。一般に、本発明の抗体の大部分及び先行技術抗体は、ＣＣＬ１誘導性Ｇタンパク質依存性シグナル伝達を効率的に遮断した。

【０８８８】

【表４４】

表 **10.4.3.1:Ca** フラックスアッセイ。マウス **CCR8** を発現する **CHO** 細胞を使用して、**CCL1** 誘導 **G** タンパク質依存性 **Ca** シグナル伝達を遮断する抗体の能力を試験した。**40ng/ml** の **CCL1** を誘導に使用した。**TPP-14095** 及び **TPP-14099** の両方がマウス **CCR8** に結合する。本発明の抗体又は先行技術抗体については、**G** タンパク質依存性 **Ca** シグナル伝達に対するアゴニスト効果は観察されなかった **(**データは示さず**)**。

マウス **CCR8** を発現する **CHO** 細胞を用いた **Ca** フラックスアッセイ		
	TPP-14095	**TPP-14099**
IC50(nM)	**1.65**	**N/A**

【０８８９】

【表４５】

表 **10.4.3.2:Ca** フラックスアッセイ。ヒト **CCR8** を発現する **CHO** 細胞を使用して、**CCL1** 誘導 **G** タンパク質依存性 **Ca** シグナル伝達を遮断する抗体の能力を試験した。**CCL1** は **80ng/ml** の濃度で使用した。

	TPP-9809	TPP-18205	TPP-18206	TPP-17577	TPP-17578
IC50(nM)	N/A	1.6	3	93.8	4.53

【０８９０】
【表４６】

表 **10.4.3.3:Ca** フラックスアッセイヒト **CCR8** を発現する **CHO** 細胞を使用して、**CCL1** 誘導 **G** タンパク質依存性 **Ca** シグナル伝達を遮断する抗体の能力を試験した。**CCL1** を **60ng/ml** の濃度で使用した。

	TPP-9809	TPP-20955	TPP-21045	TPP-21047	TPP-21360
IC50(nM)	N/A	0.52	0.29	N/A	0.50

【０８９１】
【表４７】

表 **10.4.3.4:Ca** フラックスアッセイヒト **CCR8** を発現する **CHO** 細胞を使用して、**CCL1** 誘導 **G** タンパク質依存性 **Ca** シグナル伝達を遮断する抗体の能力を試験した。**CCL1** を **60ng/ml** の濃度で使用した。

	TPP-9809	TPP-20955	TPP-21360	TPP-23411	443H	L263G8
ヒルスロープ	~-1.815e+046	~-0.03928	-2.208	-0.8122	-1.048	-0.6795
IC50(nM)	N/A	~1.02e-025	0.417	1.22	1.3	1.26
スパン比(最大から最小まで)	~93.49	~11357	433.9	400.1	995.9	921.2

【０８９２】
［実施例１０．５］
本発明の抗体の内在化
ＣＣＲ８の内在化を評価するために、イメージング技術を使用してこのプロセスを可視化した。特異的抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１並びに対応するアイソタイプ対照抗体ＴＰＰ－５６５７を蛍光色素で標識した。さらに、市販の抗体Ｌ２６３Ｇ８及び４３３Ｈ並びにマウス抗体ＳＡ２１４Ｇ２も永久色素ＢＯＤＩＰＹにコンジュゲートした。これらの抗体を、ｐＨ８．３において２～６モル過剰のＢＯＤＩＰＹ（登録商標）ＦＬ色素（エステル、Ｄ２１８４、ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）とリシンコンジュゲート化した。コンジュゲーション後、反応混合物をクロマトグラフィー（ＰＤ１０脱塩カラム１～２．５ｍｌ；ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）によって精製して過剰の色素を除去し、ｐＨ値を調整した。その後、タンパク質溶液を濃縮した（ＶＩＶＡＳＰＩＮ５００、Ｆａ．Ｓａｒｔｏｒｉｕｓ ｓｔｅｄｉｍ ｂｉｏｔｅｃ）。抗体の色素負荷の決定は、分光光度計（ＮａｎｏＤｒｏｐ）を用いて行い、式Ｄ：Ｐ＝$A_{色素}$ $ε_{タンパク質}$：（A_{280}－０，１６$A_{色素}$）$ε_{色素}$を用いて計算した。標的特異的抗体ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１並びにアイソタイプ対照抗体の色素負荷は、同様の範囲にあることが示された（染料負荷／ａｂ：４．０及び４．１）。市販の抗体は、３．８及び３．９の色素負荷／抗体を誘発する。コンジュゲーションは、抗体親和性に対する負の影響を誘発し得るので、細胞結合アッセイ（ＦＡＣＳ）におけるコンジュゲート化抗体の試験は、標識化がＣＣＲ８（ＣＤ１９８）への結合を変化させないことを確実にするために

不可欠である（図３１ａ、図３２ａ、図３４ａ、ｂを参照）。次いで、コンジュゲート抗体を、ヒトＣＣＲ８陽性細胞株ＨｕＴ７８及びマウスＣＣＲ８陽性細胞株ＢＷ５１４７．３を用いて行った内在化アッセイにすぐに使用することができた。処理の前に、ＣＣＲ８発現細胞株（２×１０^{4}／ウェル）を９６－ＭＴＰ（ＣｅｌｌＣａｒｒｉｅｒ Ｕｌｔｒａ、ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）中の１００μｌ培地に播種した。３７℃／５％ＣＯ$_{2}$で１８時間インキュベートした後、培地を交換し、標識抗体を様々な濃度（２．５、１μｇ／ｍｌ；３連）で添加した。標識アイソタイプ対照抗体（陰性対照）について同じ処置プロトコルを適用した。さらに、親ＣＨＯ－Ｋ１細胞株（ＣＣＲ８陰性細胞）を、対スクリーニングとして同様に処理した（特異性対照）。標的特異的抗体を用いた内在化研究を速度論的様式で行った。異なる時点（０時間、０．５時間、２時間、６時間及び２４時間）の後に画像を撮影し、内在化有効性を、全内在化蛍光強度／細胞を測定することによって決定した。測定はＯｐｅｒｅｔｔａ ＣＬＳ（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を用いて行い、画像のデータ解析はＨａｒｍｏｎｙハイコンテント分析ソフトウェア（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を用いて行った。

【０８９３】

図３１ｂ及び図３２ｂは、ＨｕＴ７８細胞における市販の抗ヒトＣＣＲ８抗体４３３Ｈ及びＬ２６３Ｇ８、並びにＢＷ５１４７．３細胞における市販の抗マウスＣＣＲ８抗体ＳＡ２１４Ｇ２の実質的な内在化を示すが、図３３は、アイソタイプ対照に実質的に匹敵する、本発明の抗体ＴＰＰ－２１３６０及びＴＰＰ－２３４１１の低い又は内在化がないことを実証する。

【０８９４】

【表４８】

表 10.5.1:本発明の抗体及び先行技術抗体についての内在化データのまとめ。n.a:試験せず。

抗体	FACS HuT78 [MFI]	内在化 [倍率アイソタイプ]	FACS mBW5147.3 [MFI]	内在化 [倍率アイソタイプ]
TPP-23411	600	0	n.a.	n.a.
TPP-21360	600	0	n.a.	n.a.
433H	50	22	n.a.	n.a.
L263G8	40	22	n.a.	n.a.
SA214G2(マウス)	n.a.	n.a.	48	11

【０８９５】

低い内在化が実際に、本明細書中に記載されるような硫酸化ペプチド抗原を用いて得られる全ての本発明の抗ＣＣＲ８抗体を特徴付ける特徴であることを確認するために、表１０．５．２に列挙される本発明の抗体（図８９も参照）を、小胞領域／細胞を読み出しとして用いたそれらの内在化挙動に関して分析した。実質的な内在化が知られている抗ＣＤ７１抗体を陽性対照として使用した。実際、試験した全ての本発明の抗ヒトＣＣＲ８抗体は、非内在化抗体、すなわち実質的な程度の内在化を示さない抗体であった。興味深いことに、ＴＰＰ－１７５７７は、ＨＣＤＲ３内にヒスチジンを含まない唯一の試験されたヒト抗ヒト抗ＣＣＲ８抗体は、ＨＣＤＲ３内にヒスチジンを含む全ての試験されたヒト抗ヒト抗ＣＣＲ８抗体よりも幾分高い内在化を示した。

【０８９６】

【表４９】

表 10.5.2:本発明の抗体の内在化データのまとめ。n.a:試験せず。

	内在化 HuT78	内在化 HUVEC
TPP-17577	n.a.	なし
TPP-17578	n.a.	なし
TPP-18205	n.a.	なし
TPP-18206	n.a.	なし
TPP-20955	なし	なし
TPP-21047	なし	なし
TPP-23411	なし	なし
TPP-27495	なし	なし
TPP-27496	なし	なし
TPP-18429	なし	なし
TPP-18430	なし	なし
TPP-18432	n.a.	なし
TPP-18433	n.a.	なし
TPP-18436	なし	なし
TPP-19571	n.a.	なし
TPP-27478	なし	なし
TPP-27477	なし	n.a.
TPP-27479	なし	なし
TPP-27480	なし	なし

【０８９７】

［実施例１０．６．１］

抗ＣＣＲ８抗体のＦｃＲｎアフィニティークロマトグラフィー

新生児型Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）は、ｉｎ　ｖｉｖｏでのＩｇＧ抗体の代謝プロセシングの調節に関連している。血管内皮細胞のエンドソームの酸性環境におけるＦｃＲｎへの結合は、ＩｇＧをリソソーム分解から保護する。ＦｃＲｎから血流へのＩｇＧの放出は、生理学的ｐＨ７．４で起こる。したがって、ＦｃＲｎはｐＨ＜６．５でＩｇＧに結合し、生理学的ｐＨ７．４では結合しない。ＩｇＧとＦｃＲｎとの間の相互作用は、ｉｎ　ｖｉｖｏでのＩｇＧの薬物動態に影響を及ぼす。固定化ＦｃＲｎを介した抗体リサイクル相互作用を模倣することによるＦｃＲｎへのｐＨ依存性ＩｇＧ結合の特性評価は、それらの薬物動態に寄与するＩｇＧ特性を明らかにすることができる。

【０８９８】

ＦｃＲｎアフィニティーランを２５℃でＡｋｔａ　Ｐｕｒｅ　２５クロマトグラフィーシステムで行った。ＦｃＲｎカラム（Ｒｏｃｈｅ、注文番号８１２８０５７００１；およそ１ｍＬの樹脂が予め充填されている；結合容量：１００μｇ以上のＩｇＧ）をランニング緩衝液Ａ：２０ｍＭ　ＭＥＳ／ＨＣｌ　ｐＨ５．５　１４０ｍＭ　ＮａＣｌで平衡化した。３０μＬの各抗体（平衡緩衝液中１ｍｇ／ｍＬ）をカラムに適用した。ランニング緩衝液Ｂの２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ／ＨＣｌ　ｐＨ８．８　１４０ｍＭ　ＮａＣｌのパーセントを以下のように増加させることによって線形ｐＨ勾配を生成した：０分－２０％Ｂ、１０分－２０％Ｂ、８０分－１００％Ｂ、９０分－１００％Ｂ、９３分－２０％Ｂ、１０３分－２０％Ｂ。流速は０．５ｍＬ／分であった。溶出点のｐＨ値をモニターし、Ｕｎｉｃｏｒｎ　７．１で生成したクロマトグラムから読み取った。

【０８９９】

表１０．６．１．１から分かるように、先行技術抗体ウステキヌマブは標準的な薬物動態の対照として機能し、先行技術の抗体ブリアキヌマブは迅速な薬物動態の対照として機

能した（Ｓｃｈｏｃｈ，Ａｎｇｅｌａ，ｅｔ ａｌ．“Ｃｈａｒｇｅ－ｍｅｄｉａｔｅｄ ｉｎｆｌｕｅｎｃｅ ｏｆ ｔｈｅ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｖａｒｉａｂｌｅ ｄｏｍａｉｎ ｏｎ ＦｃＲｎ－ｄｅｐｅｎｄｅｎｔ ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ．”Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １１２．１９（２０１５）：５９９７－６００２を参照）。ＴＰＰ－１７５７７、ＴＰＰ－１８２０５、ＴＰＰ－２７４９５、ＴＰＰ－２１０４７及びＴＰＰ－２７４９６はｐＨ７．５を超える溶出ｐＨを示し、ｐＨ７．４～ｐＨ７．５でもＦｃＲｎへの結合を示すと見なすことができる。測定されたｐＨは、抗体のクリアランス及び半減期を予測するために使用され得る。

【０９００】

【表５０】

表 10.6.1.1:様々な抗体の FcRn アフィニティークロマトグラフィー:溶出時の pH。2 つの pH 値は二重ピークを示す。

TPP Nr.	溶出時の pH
ウステキヌマブ	7.22
27478	7.25
27477	7.25
19571	7.25
23411	7.38
20955	7.38
18436	7.38
18432	7.38
27479	7.43
23480	7.5
18433	7.5
18430	7.5
18429	7.5
18206	7.5
17578	7.5
17577	7.50/7.69
18205	7.50/7.77
ブリアキヌマブ	7.85
27495	7.88
21047	8
27496	8.13

【０９０１】

［実施例１０．６．２］

ＳＰＲに基づくＦｃＲｎ結合分析

ＦｃＲｎに対する抗ＣＣＲ８抗体の結合親和性を評価するために、ｐＨ６．０及びｐＨ７．４でＳＰＲを使用して結合を調べた。結合アッセイを、ＣＭ５センサーチップ及びアッセイ緩衝液ＰＢＳＴを用いてＢｉａｃｏｒｅ Ｔ２００装置で２５℃で行った。ＦｃＲｎ結合アッセイのために、ヒト、マウス又はカニクイザルＦｃＲｎをＣＭ５センサーチップ表面（約３００ＲＵ）にアミンカップリングさせ、ＰＢＳＴ（ｐＨ６）に１５．６～２．０００ｎＭの範囲の濃度でＩｇＧを注入した。ＰＢＳＴ ｐＨ７．４で再生を行った。

【０９０２】

ｐＨ７．４のみの別の実験では、ＩｇＧを２μＭの１つの濃度で試験したため、結合が起こるかどうかを定性的にのみ評価した。ＫＤ値は、定常状態の親和性分析並びに１：１結合等温線へのフィッティングによる動力学的分析から導出した。

【０９０３】

表１０．６．２．１から分かるように、また先に論じたように、Ｓｃｈｏｃｈら、２０

１５で公表されているように、ウステキヌマブを陽性対照として用い、ブリキヌマブを陰性対照として用いた。これらの２つの抗体は、ＦｃＲｎに対するそれらの親和性において有意に異ならないが、ｐＨ７．４でのＦｃＲｎに対するそれらの結合応答において有意に異ならない。したがって、ｐＨ７．４で結合応答を示す抗体は、ｉｎ　ｖｉｖｏで加速された半減期を有し得ると仮定することができる。

【０９０４】

［実施例１０．７］

抗ＣＣＲ８抗体のヘパリン親和性クロマトグラフィー

ヒトＣＣＲ８を認識する本発明の抗体では、荷電抗原チロシンモチーフを認識し、例えばそれらのＨＣＤＲ３に関して特定の構造組成を有するので、電荷媒介性相互作用の可能性が高い。しかしながら、電荷媒介性相互作用は、ｐＨ７．４でのＦｃＲｎ結合の他に、ＩｇＧの分解に対する推進力である。単球又はマクロファージの負に荷電した糖鎖触媒への結合は、飲作用及びその後のタンパク質分解をもたらし得る。Ｋｒａｆｔ　ｅｔ　ａｌ．は、ＦｃＲｎクロマトグラフィーと共にヘパリンアフィニティークロマトグラフィーを行うと、ｉｎ　ｖｉｖｏでの抗体の挙動をより効率的かつ正確に予測できることを示した（Ｋｒａｆｔ，Ｔｈｏｍａｓ　Ｅ．，ｅｔ　ａｌ．“Ｈｅｐａｒｉｎ　ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒａｐｈｙ　ａｓ　ａｎ　ｉｎ　ｖｉｔｒｏ　ｐｒｅｄｉｃｔｏｒ　ｆｏｒ　ａｎｔｉｂｏｄｙ　ｃｌｅａｒａｎｃｅ　ｒａｔｅ　ｔｈｒｏｕｇｈ　ｐｉｎｏｃｙｔｏｓｉｓ．”ＭＡｂｓ．Ｖｏｌ．１２．Ｎｏ．１．Ｔａｙｌｏｒ＆Ｆｒａｎｃｉｓ，２０２０．。

【０９０５】

【表５１】

表 10.6.2.1:異なる FCRN 受容体に対する本発明の抗体の親和性の SPR 分析。小さな結合応答は、応答<30 RU、結合応答>30 RU と定義される。

抗体	Ligand:FcRn	pH6.0 で結合 [M 単位の KD]	pH7.4 で結合 [M 単位の KD]	Ligand:FcRn	pH6.0 で結合 [M 単位の KD]	pH7.4 で結合 [M 単位の KD]	Ligand:FcRn	pH6.0 で結合 [M 単位の KD]	pH7.4 で結合 [M 単位の KD]
TPP-27496	ヒト	1.4E-08	結合応答	カニクイザル	8.9E-09	結合応答	マウス	1.6E-08	結合応答
TPP-27495	ヒト	2.9E-08	結合応答	カニクイザル	3.0E-08	結合応答	マウス	3.3E-08	結合応答
TPP-27480	ヒト	6.1E-08	結合応答	カニクイザル	6.2E-08	結合応答	マウス	1.2E-07	結合応答
TPP-27479	ヒト	8.3E-08	結合応答	カニクイザル	9.0E-08	結合応答	マウス	5.0E-08	結合応答
TPP-27478	ヒト	9.7E07	応答なし	カニクイザル	8.5E-07	応答なし	マウス	1.3E-07	応答なし
TPP-27477	ヒト	1.1E-06	結合応答が少ない/結合応答がない	カニクイザル	1.0E-06	結合応答が少ない/結合応答がない	マウス	1.7E-07	結合応答が少ない/結合応答がない
ウステキヌマブ	ヒト	2.0E-07	応答なし	カニクイザル	2.6E-07	応答なし	マウス	7.1E-08	小さな結合応答
ブリアキヌマブ	ヒト	2.3E-07	結合応答	カニクイザル	1.6E-07	結合応答	マウス	5.6E-07	結合応答
TPP-21047	ヒト	6.5E-08	小さな結合応答	カニクイザル	4.0E-08	小さな結合応答	マウス	1.7E-07	小さな結合応答
TPP-18436	ヒト	5.7E-08	結合応答	カニクイザル	5.3E-08	結合応答	マウス	3.3E-08	結合応答
TPP-18433	ヒト	5.8E-08	結合応答	カニクイザル	5.4E-08	結合応答	マウス	4.2E-08	結合応答
TPP-18432	ヒト	8.0E-08	結合応答	カニクイザル	8.5E-08	結合応答	マウス	2.7E-08	結合応答
TPP-18430	ヒト	7.4E-08	結合応答	カニクイザル	6.9E-08	結合応答	マウス	5.2E-08	結合応答
TPP-18429	ヒト	8.1E-08	結合応答	カニクイザル	7.6E-08	結合応答	マウス	6.1E-08	結合応答
TPP-18205	ヒト	9.6E-08	応答なし	カニクイザル	7.9E-08	応答なし	マウス	1.0E-07	応答なし
TPP-17577	ヒト	5.5E-08	結合応答	カニクイザル	6.6E-08	結合応答	マウス	4.3E-08	結合応答
TPP-18206	ヒト	1.4E-07	結合応答	カニクイザル	2.7E-07	結合応答	マウス	2.1E-07	結合応答

TPP-17578	ヒト	1.0E-07	小さな結合応答	カニクイザル	1.3E-07	小さな結合応答	マウス	3.8E-08	小さな結合応答
TPP-20955	ヒト	5.4E-08	小さな結合応答	カニクイザル	4.0E-08	小さな結合応答	マウス	5.8E-08	小さな結合応答
TPP-23411	ヒト	5.1E-08	小さな結合応答	カニクイザル	7.0E-08	小さな結合応答	マウス		
TPP-9809	ヒト	1.4E-07	応答なし	カニクイザル	4.0E-07	応答なし	マウス	2.8E-08	応答なし
TPP-9809	ヒト	1.6E-07	応答なし	カニクイザル	4.1E-07	応答なし	マウス	3.9E-08	応答なし
TPP-19571	ヒト	1.3E-06	小さな結合応答	カニクイザル	1.2E-06	小さな結合応答	マウス	1.9E-07	結合応答

【０９０６】
高い親和性、高いレベルの相互作用、したがって高い保持時間は、試験された抗体のより短い半減期を予測し得る。ヘパリンアフィニティーランを２５℃でＡｋｔａ　Ｐｕｒｅ２５クロマトグラフィーシステムで行った。ヘパランカラム（Ｔｏｓｏｈ）をランニング緩衝液Ａ：５０ｍＭ　ＴＲＩＳ、ｐＨ７．４で平衡化した。５０μＬの各抗体（２０ｍＭヒスチジンｐＨ５．５中１ｍｇ／ｍＬ）をカラムに適用した。ランニング緩衝液Ｂの２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ　ｐＨ７．４　１Ｍ　ＮａＣｌのパーセントを以下のように増加させることによって線形塩勾配を生成した：注射２分後－０％Ｂ、１６．５分にわたって０～５５％Ｂ、０．５分にわたって１００％、４分間にわたって１００％Ｂ。流速は０．８ｍＬ／分であった。溶出時間をモニターし、Ｕｎｉｃｏｒｎ　７．１で生成されたクロマトグラムから読み取った。
【０９０７】
表１０．７．１から分かるように、また先に論じたように、ウステキヌマブが陽性対照として機能し、ブリアキヌマブが陰性対照として機能した。ほとんどの試験された本発明の抗体は、１５～１８分の保持時間を中心とする。したがって、静電相互作用がｉｎ　ｖｉｖｏで寄与する場合、これらの抗体は半減期の減少を示す可能性がある。
【０９０８】

【表５２】

表 10.7.1:様々な抗体のためのヘパリンアフィニティークロマトグラフィー:溶出時の pH。

TPP-Nr.	保持時間(分)
ウステキヌマブ	11.95
TPP-17578	13.53
TPP-23411(afuco)	15.02
TPP-27478	15.05
TPP-27495	15.29
TPP-19571	15.29
TPP-27496	15.34
TPP-27477	15.35
ブリアキヌマブ	15.78
TPP-23411 (wt)	15.86
TPP-18205	16.02
TPP-21047	16.06
TPP-27480	16.09
TPP-18436	16.21
TPP-20955	16.73
TPP-18432	17.01
TPP-18206	17.24
TPP-18206	17.51
TPP-18430	17.54
TPP-18429	17.54
TPP-18433	17.56
TPP-17577	18.06

【０９０９】

［実施例１０．８］

カニクイザルにおける毒性研究及びＣＣＲ８枯渇

カニクイザルを５０ｍｇ／ｋｇのＴＰＰ－２３４１１で４週間処置した。動物は毒性の徴候を示さなかった。最後の処置の１週間後に、（健康な組織の中で最高レベルのＣＣＲ８を有する）胸腺組織を、ＲＮＡ－ｓｅｑを用いて分析した。ＣＣＲ８　ｍＲＮＡレベルは、抗ＣＣＲ８抗体で処置した動物において有意に低下することが分かった。より低用量のＴＰＰ－２３４１１ではＣＣＲ８レベルの有意な低下は見られなかった。

【０９１０】

【表５３】

	N	平均 log2 CCR8 発現	SD log2 CCR8 発現	アイソタイプと比較した T 検定 p 値
アイソタイプ	2	7.386	0.128	-
TPP-23411	2	5.459	0.346	0.0537

【０９１１】

［実施例１１］

標的の治療適用性

免疫腫瘍学における特定の標的の治療的使用のために、標的の特異的発現は、全身性副作用を最小限に抑えるために最も重要である。標的は、標的組織又は細胞、例えば腫瘍内Ｔｒｅｇに特異的でなければならず、健康な組織上に発現されてはならない。さらに、特定の腫瘍組織における標的の発現の増加は、その適応症に対する医学的使用を指し得る。

【０９１２】

例えば、ＣＣＲ８は、Ｂ細胞リンパ腫及びＴ細胞リンパ腫腫瘍細胞株上にも発現される。

【０９１３】

Ｔｒｅｇ細胞の全身的な除去は、腫瘍免疫だけでなく、免疫調節不全－多腺性内分泌不全症－腸疾患－Ｘ連鎖（ＩＰＥＸ）症候群に罹患している患者によって証明されるような自己免疫も誘発及び増強し得る。この疾患では、患者は、遺伝子変化のためＴｒｅｇを欠き、適切な免疫抑制で処置されない場合、全身性自己免疫のために生後２年以内に死亡する。したがって、腫瘍内Ｔｒｅｇの除去又は抑制を目的とする標的の高い特異性は、ＣＣＲ４標的化抗体について観察される副作用等の治療用抗体の副作用を回避するために非常に重要であると考えられる。

【０９１４】

［実施例１１．１］

標的ＣＣＲ８の特異性

第１の分析では、本発明者らは、異なるヒト組織及び細胞型におけるＣＣＲ８　ｍＲＮＡの発現を評価した。ＣＣＲ８　ｍＲＮＡの有意な発現は、活性化制御性Ｔ細胞並びに腫瘍浸潤リンパ球においてのみ観察された（図３５）。

【０９１５】

第２の分析では、本発明者らは、５０の異なる腫瘍適応症におけるＣＣＲ８　ｍＲＮＡ発現を評価した。ＣＣＲ８発現が最も高い適応症は、例えば、乳癌、肺腺癌（ＡＤＣ）、精巣癌、胃癌及び扁平上皮癌（ＳＣＣ）、頭頸部悪性腫瘍並びに食道腫瘍であるが、結腸直腸癌、卵巣癌及び子宮頸癌でも高い発現が見られた。膵臓腺癌及び黒色腫を除く全ての適応症において、発現は、対応する正常組織と比較して腫瘍においてより高いことが見出された（図３６）。

【０９１６】

第３の分析では、本発明者らは、様々な腫瘍適応症におけるＣＣＲ８　ｍＲＮＡとＦＯＸＰ　３　ｍＲＮＡとの共発現を評価した。Ｔｒｅｇマーカー ＦＯＸＰ３との同時発現は、ＣＣＲ８が実際にＴｒｅｇ上で主に発現されることを実証するために重要である（表１１．１．１参照）。ＩＨＣ染色によりこれらの知見が確認された（図３７を参照）。

【０９１７】

【表５４】

表 11.1.1:CCR8 及び制御性 T 細胞を規定するマーカーFOXP3 は、9588 個全ての TCGA 腫瘍サンプル(適応症としての胸腺腫を除く)にわたって最も密接に相関する遺伝子であり、これらの遺伝子が同じ細胞型で共発現されていることを指し示している。表は、CCR8 及び FOXP3 mRNA 発現レベル及びそれらのそれぞれのピアソン相関係数 r と最も強く相関する 25 個の遺伝子(35021 個の遺伝子のうち)を示す。

CCR8		FOXP3	
CCR8	1.000	FOXP3	1.000
FOXP3	0.828	CCR8	0.828
ICOS	0.814	ICOS	0.821
CCR4	0.813	TIGIT	0.804
TIGIT	0.762	CTLA4	0.766
P2RY10	0.760	SIRPG	0.747
CD80	0.748	SLAMF1	0.741
TNFRSF9	0.746	CCR4	0.737
CD3G	0.741	IL2RB	0.737
SLAMF1	0.726	CD5	0.733
IL7R	0.724	P2RY10	0.727
IL2RB	0.716	CD3G	0.724
CTLA4	0.715	TNFRSF9	0.723
CD5	0.713	CXCL9	0.721
ITK	0.713	CD2	0.720
IL2RA	0.711	GBP5	0.718
LAX1	0.707	UBASH3A	0.714
IKZF3	0.699	CD3E	0.713
GBP5	0.699	CXCR6	0.713
CXCR6	0.693	CXCR3	0.712
SIRPG	0.690	LTA	0.712
CD2	0.689	CD80	0.710
CSF2RB	0.688	CD6	0.708
SLAMF7	0.683	ITK	0.706
CXCL9	0.681	CXCL13	0.704

【０９１８】

さらに、ＣＣＲ８　ｍＲＮＡと、ｐａｎ－Ｔ細胞マーカーＣＤ３、細胞傷害性Ｔ細胞マーカーＣＤ８、マクロファージマーカーＭＳ４Ａ７、一般炎症マーカーＩＦＮｇ及びＢ細胞マーカーＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２２との相関を、５０の腫瘍適応症について評価した（表１１．１．２を参照）。興味深いことに、ほぼ全ての適応症について、相関は非常に有意であり、腫瘍自体への免疫細胞浸潤及び特にＴｒｅｇ浸潤時のＣＣＲ８の発現増加を示唆した。このことから、免疫細胞浸潤及び特にＴ細胞浸潤が、同様に、抗ＣＣＲ８療法から利益を得る可能性がより高い患者を特定するための患者層別化のための有益なバイオマーカーであることが予想され得る。

【０９１９】

【表５５】

表 11.1.2:CCR8 及び Treg マーカーFOXP3、pan-T 細胞マーカーCD3、細胞傷害性 T 細胞マーカーCD8、マクロファージマーカーMS4A7、一般炎症マーカーIFNg、又は B 細胞マーカーCD19、CD20、CD22 の log2 mRNA レベル間のピアソン相関係数 r。結果は、CCR8 と免疫細胞との非常に有意な共発現、特に TCGA からの 50 の適応症のうち 48 にわたる腫瘍への Treg 浸潤を示唆する。したがって、例えば、T 細胞浸潤が、抗 CCR8 療法から利益を得る可能性が高い患者を同定するための貴重な層別化バイオマーカーを構成することが予想され得る。

表示	N	制御性 T 細胞(FOXP3)		pan T 細胞 (CD3E+CD3D+CD3G)		細胞傷害性 T 細胞 (CD8A+CD8B)	
		r	pv	r	pv	r	pv
頭頸部癌-口腔癌-SCC	79	0.916	1.87E-83	0.791	1.22E-45	0.661	2.51E-27
乳癌-ADC-乳管-TPBC	150	0.641	1.70E-09	0.584	8.82E-08	0.448	8.80E-05
頭頸部癌-喉頭癌-SCC	276	0.928	1.51E-36	0.717	2.42E-14	0.576	1.20E-08
肺癌-NSCLC-ADC 混合	132	0.901	3.77E-40	0.763	9.07E-22	0.580	4.79E-11
乳癌-ADC-乳管-TNBC	197	0.870	1.30E-31	0.729	1.13E-17	0.602	4.20E-11
胃癌-ADC	165	0.853	2.87E-45	0.747	4.64E-29	0.677	3.04E-22
肺癌-NSCLC-ADC	134	0.829	4.51E-82	0.689	2.92E-46	0.486	2.83E-20
胃癌-ADC-腸	198	0.726	1.65E-13	0.684	1.40E-11	0.596	1.70E-08
胃癌-ADC-びまん性	63	0.825	2.90E-18	0.665	4.52E-10	0.597	6.23E-08
精巣癌-生殖細胞腫瘍-セミノーマ	619	0.328	4.35E-03	0.367	1.32E-03	0.255	2.85E-02
肺癌-NSCLC-SCC	99	0.895	2.21E-168	0.775	1.43E-96	0.589	6.11E-46
胸腺腫	71	0.351	8.31E-05	0.372	2.81E-05	0.357	6.14E-05
食道癌-ADC	177	0.909	9.69E-35	0.780	2.17E-19	0.697	3.21E-14
乳癌-ADC-乳管	336	0.783	4.02E-129	0.675	1.58E-83	0.570	1.28E-54
胃癌-ADC-腸-管状	89	0.895	1.11E-27	0.812	5.44E-19	0.594	1.57E-08
乳癌-ADC-小葉	96	0.848	3.26E-50	0.730	9.15E-31	0.642	5.98E-22
膵癌-ADC-乳管	156	0.864	5.89E-45	0.697	1.14E-22	0.621	4.96E-17
結腸直腸癌-ADC	69	0.902	7.12E-124	0.703	2.54E-51	0.513	6.34E-24
食道癌-SCC	75	0.832	7.93E-26	0.653	5.31E-13	0.578	7.03E-10
頭頸部癌-SCC	76	0.836	7.80E-53	0.548	7.42E-17	0.435	1.68E-10
乳癌-ADC	83	0.781	4.14E-14	0.687	5.12E-10	0.549	3.20E-06
子宮癌-頸部 SCC 非角化	207	0.809	1.19E-27	0.536	7.66E-10	0.368	5.71E-05
子宮癌-頸部 SCC-角化	197	0.853	1.29E-16	0.637	1.75E-07	0.595	1.70E-06
膀胱癌-移行上皮癌	534	0.828	7.54E-71	0.680	7.75E-39	0.501	5.68E-19
卵巣癌-ADC-嚢胞腺癌-乳頭状漿液性	66	0.545	4.22E-25	0.491	4.53E-20	0.381	5.07E-12
子宮癌-子宮頸部 SCC	127	0.804	3.16E-20	0.681	1.02E-12	0.644	3.76E-11
腎臓癌-ccRCC	77	0.835	5.60E-140	0.655	8.13E-67	0.553	4.86E-44
皮膚癌-黒色腫	86	0.797	5.44E-105	0.798	1.66E-105	0.721	7.80E-77
甲状腺癌-乳頭癌-古典的変異体	356	0.829	3.81E-93	0.610	2.53E-38	0.365	7.48E-13
中皮腫-類上皮	319	0.843	1.98E-16	0.760	7.00E-12	0.691	2.65E-09
肉腫-悪性線維性組織球腫	108	0.828	6.76E-14	0.621	1.15E-06	0.569	1.31E-05
前立腺癌-ADC-腺房型	477	0.773	7.89E-97	0.708	1.88E-74	0.559	5.85E-41

膀胱癌-移行細胞癌-乳頭状	57	0.889	6.39E-46	0.743	1.97E-24	0.662	5.43E-18
子宮癌-子宮内膜 ADC-類子宮内膜	307	0.686	2.58E-16	0.498	4.11E-08	0.381	4.82E-05
子宮癌-子宮内膜 ADC-乳頭状漿液性	147	0.405	1.60E-03	0.381	3.15E-03	0.301	2.17E-02
肉腫-脂肪肉腫脱分化型	482	0.799	5.61E-14	0.649	3.66E-08	0.560	4.97E-06
肉腫-平滑筋肉腫	106	0.838	4.58E-29	0.754	1.04E-20	0.710	1.53E-17
肝臓癌-HCC	58	0.405	1.77E-15	0.674	1.52E-48	0.558	1.64E-30
甲状腺癌-濾胞癌	51	0.398	3.47E-05	0.251	1.08E-02	0.041	6.80E-01
脳癌-神経膠腫-星細胞腫-神経膠芽腫	472	0.616	1.34E-18	0.612	2.31E-18	0.492	1.86E-11
腎臓癌-乳頭状-II 型	74	0.755	4.86E-17	0.688	2.38E-13	0.648	1.54E-11
腎臓癌-乳頭状	120	0.858	4.77E-38	0.618	1.04E-14	0.618	9.58E-15
子宮癌-子宮内膜癌肉腫-悪性混合ミュラー管腫瘍	102	0.716	3.73E-10	0.573	3.20E-06	0.378	3.79E-03
腎臓癌-乳頭状-I 型	363	0.781	5.15E-17	0.460	2.58E-05	0.482	9.16E-06
腎臓癌-色素嫌性	84	0.227	6.63E-02	0.179	1.50E-01	0.177	1.55E-01
副腎癌-副腎皮質癌	55	0.176	1.21E-01	0.363	1.01E-03	0.333	2.72E-03
副腎癌-褐色細胞腫	114	0.455	4.92E-09	0.377	1.99E-06	0.340	2.09E-05
脳癌-神経膠腫-星状細胞腫	108	0.620	2.70E-22	0.541	2.29E-16	0.473	2.32E-12
脳癌-神経膠腫-乏突起星細胞腫	58	0.479	4.70E-09	0.553	4.19E-12	0.427	2.70E-07
脳癌-神経膠腫-乏突起膠腫	57	0.217	2.11E-03	0.295	2.46E-05	0.236	7.98E-04

【０９２０】

【表５６】

表示	N	マクロファージ(MS4A7)		M2 マクロファージ(MRC1)		炎症(IFNg)		B 細胞(CD19+MS4A1+CD22)	
		r	pv	r	pv	r	pv	r	pv
頭頸部癌-口腔癌-SCC	79	0.742	1.62E-37	0.578	7.11E-20	0.505	8.98E-15	0.610	1.82E-22
乳癌-ADC-乳管-TPBC	150	0.107	3.75E-01	0.371	1.44E-03	0.552	5.92E-07	0.404	4.78E-04
頭頸部癌-喉頭癌-SCC	276	0.740	1.40E-15	0.687	7.76E-13	0.317	3.52E-03	0.434	4.20E-05
肺癌-NSCLC-ADC 混合	132	0.534	2.74E-09	0.623	5.84E-13	0.464	4.25E-07	0.520	7.74E-09
乳癌-ADC-乳管-TNBC	197	0.622	6.43E-12	0.607	2.82E-11	0.446	3.70E-06	0.563	1.30E-09
胃癌-ADC	165	0.675	4.00E-22	0.704	1.26E-24	0.629	1.52E-18	0.435	1.42E-08
肺癌-NSCLC-ADC	134	0.594	7.28E-32	0.642	1.75E-38	0.415	1.03E-14	0.491	9.47E-21
胃癌-ADC-腸	198	0.531	9.78E-07	0.533	8.65E-07	0.436	9.37E-05	0.501	4.68E-06
胃癌-ADC-びまん性	63	0.684	9.45E-11	0.593	7.99E-08	0.403	5.93E-04	0.405	5.55E-04
精巣癌-生殖細胞腫瘍-セミノーマ	619	-0.040	7.37E-01	0.429	1.35E-04	0.203	8.20E-02	0.035	7.67E-01
肺癌-NSCLC-SCC	99	0.658	2.03E-60	0.633	8.10E-55	0.494	1.09E-30	0.574	4.27E-43
胸腺腫	71	0.147	1.09E-01	0.039	6.69E-01	-0.055	5.47E-01	0.228	1.23E-02
食道癌-ADC	177	0.713	4.46E-15	0.719	2.23E-15	0.598	5.98E-10	0.662	1.61E-12
乳癌-ADC-乳管	336	0.232	5.09E-09	0.538	9.58E-48	0.606	3.17E-63	0.465	1.62E-34
胃癌-ADC-腸-管状	89	0.703	1.44E-12	0.743	1.50E-14	0.603	7.94E-09	0.596	1.38E-08
乳癌-ADC-小葉	96	0.264	3.78E-04	0.483	9.41E-12	0.653	7.46E-23	0.495	2.60E-12
膵癌-ADC-乳管	156	0.757	1.55E-28	0.766	1.34E-29	0.389	1.13E-06	0.423	9.66E-08
結腸直腸癌-ADC	69	0.752	1.72E-62	0.770	2.78E-67	0.436	5.18E-17	0.479	1.09E-20
食道癌-SCC	75	0.678	3.14E-14	0.431	1.18E-05	0.550	6.51E-09	0.357	3.57E-04
頭頸部癌-SCC	76	0.594	3.86E-20	0.516	8.40E-15	0.424	5.27E-10	0.381	3.41E-08
乳癌-ADC	83	0.271	3.15E-02	0.505	2.41E-05	0.603	1.73E-07	0.468	1.11E-04
子宮癌-頸部 SCC 非角化	207	0.555	1.54E-10	0.527	1.71E-09	0.346	1.59E-04	0.559	9.91E-11
子宮癌-頸部 SCC-角化	197	0.730	2.64E-10	0.498	1.10E-04	0.456	4.65E-04	0.591	2.03E-06
膀胱癌-移行上皮癌	534	0.509	1.36E-19	0.590	2.75E-27	0.427	1.14E-13	0.409	1.53E-12
卵巣癌-ADC-嚢胞腺癌-乳頭状漿液性	66	0.309	3.22E-08	0.293	1.64E-07	0.410	7.12E-14	0.139	1.49E-02
子宮癌-子宮頸部 SCC	127	0.629	1.51E-10	0.577	9.49E-09	0.516	5.17E-07	0.645	3.57E-11
腎臓癌-ccRCC	77	0.520	2.71E-38	0.245	1.04E-08	0.577	8.41E-49	0.476	1.71E-31
皮膚癌-黒色腫	86	0.614	2.96E-50	0.639	1.74E-55	0.665	1.54E-61	0.653	9.36E-59
甲状腺癌-乳頭癌-古典的変異体	356	0.440	1.41E-18	0.649	7.94E-45	0.446	3.63E-19	0.365	7.05E-13
中皮腫-類上皮	319	0.465	2.68E-04	0.317	1.64E-02	0.596	9.94E-07	0.364	5.35E-03
肉腫-悪性線維性組織球腫	108	0.160	2.63E-01	0.125	3.84E-01	0.527	6.99E-05	0.524	8.03E-05
前立腺癌-ADC-腺房型	477	0.594	3.24E-47	0.596	1.25E-47	0.528	7.01E-36	0.595	1.78E-47
膀胱癌-移行細胞癌-乳頭状	57	0.607	1.14E-14	0.709	1.80E-21	0.586	1.57E-13	0.628	7.43E-16
子宮癌-子宮内膜 ADC-類子宮内膜	307	0.456	7.25E-07	0.422	5.28E-06	0.425	4.61E-06	0.402	1.59E-05
子宮癌-子宮内膜 ADC-乳	147	0.369	4.36E-03	0.347	7.66E-03	0.122	3.61E-01	0.044	7.43E-01

頭状漿液性									
肉腫-脂肪肉腫脱分化型	482	0.206	1.21E-01	0.118	3.79E-01	0.482	1.26E-04	0.526	2.25E-05
肉腫-平滑筋肉腫	106	0.569	1.97E-10	0.558	5.09E-10	0.674	2.30E-15	0.491	8.84E-08
肝臓癌-HCC	58	0.524	1.54E-26	0.263	5.06E-07	0.555	3.42E-30	0.575	1.09E-32
甲状腺癌-濾胞癌	51	0.243	1.39E-02	0.334	5.99E-04	0.110	2.69E-01	0.171	8.61E-02
脳癌-神経膠腫-星細胞腫-神経膠芽腫	472	0.418	2.23E-08	0.402	8.97E-08	0.365	1.44E-06	0.312	4.52E-05
腎臓癌-乳頭状-II 型	74	0.443	1.91E-05	0.510	5.24E-07	0.575	6.83E-09	0.451	1.33E-05
腎臓癌-乳頭状	120	0.457	6.48E-08	0.492	4.23E-09	0.651	1.13E-16	0.512	7.97E-10
子宮癌-子宮内膜癌肉腫-悪性混合ミュラー管腫瘍	102	0.370	4.58E-03	0.213	1.12E-01	0.519	3.49E-05	0.277	3.69E-02
腎臓癌-乳頭状-I 型	363	0.206	7.19E-02	0.252	2.70E-02	0.609	4.04E-09	0.527	8.67E-07
腎臓癌-色素嫌性	84	0.326	7.52E-03	0.262	3.36E-02	0.246	4.68E-02	0.165	1.86E-01
副腎癌-副腎皮質癌	55	0.394	3.32E-04	0.327	3.24E-03	0.273	1.48E-02	0.084	4.59E-01
副腎癌-褐色細胞腫	114	0.221	6.66E-03	0.225	5.71E-03	0.315	8.80E-05	0.191	1.94E-02
脳癌-神経膠腫-星状細胞腫	108	0.348	5.53E-07	-0.023	7.48E-01	0.543	1.57E-16	0.502	6.07E-14
脳癌-神経膠腫-乏突起星細胞腫	58	0.212	1.40E-02	0.133	1.26E-01	0.627	5.05E-16	0.214	1.30E-02
脳癌-神経膠腫-乏突起膠腫	57	0.148	3.77E-02	0.029	6.82E-01	0.338	1.07E-06	0.097	1.76E-01

【０９２１】

［実施例１１．２］

Ｔエフェクター細胞と比較した腫瘍内Ｔｒｅｇに対するＣＣＲ８の特異性

ヒトにおける癌免疫療法のためのＴｒｅｇ枯渇に関して考慮すべきいくつかの問題がある。Ｔｒｅｇ及び活性化エフェクターＴ細胞は、ほとんどの場合、ＣＤ２５及びＣＴＬＡ－４を含む同じタイプの細胞表面分子の発現を共有し、これらの分子に特異的な抗体によってエフェクターＴ細胞にも影響を及ぼすことなくＴｒｅｇを選択的に枯渇させることを困難にする。

【０９２２】

腫瘍（腫瘍浸潤又は腫瘍内Ｔｒｅｇ）中のＦｏｘｐ３＋ＣＤ２５＋ＣＤ４＋Ｔｒｅｇ細胞は、リンパ系又は非リンパ系組織又は血液中のＴｒｅｇと比較して、Ｔ細胞活性化に関連するより高レベルの細胞表面分子、例えばＣＤ２５、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＬＡＧ３、ＴＩＧＩＴ、ＩＣＯＳ、及び４－１ＢＢ、ＯＸ－４０及びＧＩＴＲを含むＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバーを発現する。さらに、腫瘍浸潤Ｔｒｅｇは、ＣＣＲ４及びＣＣＲ８を含む高レベルの特異的ケモカイン受容体を発現する。

【０９２３】

ＣＤ４＋ＣＤ２５＋選別ＰＢＭＣ及び未選別ＰＢＭＣを抗ＣＤ３及び抗ＣＤ２８ビーズ＋ＩＬ２で６日間活性化した。ＦＡＣＳ分析は、刺激されたＴｒｅｇ（ＣＤ４＋ＣＤ２５＋ＦｏｘＰ３＋ＣＤ１２７ｄｉｍ）上で優先的にＣＣＲ８タンパク質発現を示した（図３８を参照）。ＣＣＲ８ではなく代替標的ＯＸ４０、ＧＩＴＲ、及びＣＤ２５は、刺激されたＣＤ８＋Ｔｅｆｆ細胞及びＣＤ４＋Ｔ細胞（ＣＤ４＋ＣＤ２５＋Ｆｏｘｐ３－）上に有意に発現される。ＣＣＲ４はむしろＴｒｅｇ特異的発現を示すが、腫瘍内Ｔｒｅｇ特異性は示さない。これらの所見は、ＣＣＲ４抗体が免疫学的副作用を示したという所見と一致しており、これはＴｒｅｇの全身枯渇に起因すると考えられている。特異性に関して、ＣＣＲ８は、腫瘍内Ｔｒｅｇの特異的枯渇を支持するよりも優れているようである。

【０９２４】
所見を確認するために、ＮＳＣＬＣ、ＣＲＣ及び肝臓癌患者の生データをそれぞれ、Ｇｕｏ，Ｘｉｎｙｉ，ｅｔ ａｌ．“Ｇｌｏｂａｌ ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ｎｏｎ－ｓｍａｌｌ－ｃｅｌｌ ｌｕｎｇ ｃａｎｃｅｒ ｂｙ ｓｉｎｇｌｅ－ｃｅｌｌ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ．”Ｎａｔｕｒｅ ｍｅｄｉｃｉｎｅ ２４．７（２０１８）：９７８－９８５，Ｚｈａｎｇ，Ｙｕａｎｙｕａｎ，ｅｔ ａｌ．“Ｄｅｅｐ ｓｉｎｇｌｅ－ｃｅｌｌ ＲＮＡ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ｄａｔａ ｏｆ ｉｎｄｉｖｉｄｕａｌ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｆｒｏｍ ｔｒｅａｔｍｅｎｔ－ｎａｉｖｅ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｎｃｅｒ ｐａｔｉｅｎｔｓ．”Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ ｄａｔａ ６．１（２０１９）：１－１５，ａｎｄ Ｚｈｅｎｇ，Ｃｈｕｎｈｏｎｇ，ｅｔ ａｌ．“Ｌａｎｄｓｃａｐｅ ｏｆ ｉｎｆｉｌｔｒａｔｉｎｇ Ｔ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ｌｉｖｅｒ ｃａｎｃｅｒ ｒｅｖｅａｌｅｄ ｂｙ ｓｉｎｇｌｅ－ｃｅｌｌ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ．”Ｃｅｌｌ １６９．７（２０１７）：１３４２－１３５６から検索し、ＣＣＲ８特異性の分析に使用した（図３９を参照）。実際、これらの腫瘍では、ＣＣＲ８ ｍＲＮＡ発現は、腫瘍組織に存在する制御性Ｔ細胞（薄い灰色の四角）に主に制限されるが、正常組織、並びにＣＤ４ヘルパーＴ細胞及びＣＤ８細胞傷害性Ｔ細胞からの制御性Ｔ細胞には主に存在しない（それぞれ中及び濃い灰色の四角）。

【０９２５】
ヒト腫瘍溶解物試料のＦＡＣＳ分析により、ＣＣＲ８タンパク質が、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、結腸直腸癌（ＣＲＣ）、腎細胞癌（ＲＣＣ）及びリンパ節（ＬＮ、データは示さず）においてヒト腫瘍浸潤Ｔｒｅｇ上に特異的に発現されることが確認された（図４０）。腫瘍浸潤Ｔｒｅｇの最大９０％が、例えば、ＮＳＣＬＣではステージＩＩＩ＋で４０～９０％及びステージＩ／ＩＩで４０～７０％、ＣＲＣではステージＩＩＩ＋で２０～４０％及びＲＣＣではステージＩＩＩ＋で４０～５０％ＣＣＲ８陽性である。これらのデータに基づいて、病期分類による層別化は、抗ＣＣＲ８抗体で処置された患者に更なる利益をもたらすと考えられる。

【０９２６】
［実施例１２］
ｉｎ ｖｉｖｏ実験
［実施例１２．１．１］
代理抗体及び同系腫瘍モデル
マウス実験では、マウスＣＣＲ８に結合する代理抗体を使用して、抗腫瘍有効性を実証し、作用様式、すなわちＡＤＣＣ（抗体依存性細胞傷害性）及びＡＤＣＰ（抗体依存性細胞食作用）の効力に依存する腫瘍内のＴｒｅｇ枯渇を特徴付ける。

【０９２７】

【表５７】

表 12.1.1.1:in vivo 研究のために使用された代理抗マウス CCR8 抗体のリスト。標的細胞としてマウス CCR8 を過剰発現する HEK293 細胞及びエフェクター細胞として NK92 細胞を使用して、ADCC を決定した。ADCC 活性を乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)放出によって測定する。

抗 CCR8 抗体	アイソタイプ	in vitro での ADCC 効力
TPP-14095	ヒト IgG1	未決定
TPP-14099		EC50:3.14 nM
TPP-18208_アグリコ_aglyco		EC50:> 98 nM
TPP-18209_aglyco		未決定
TPP-15285	マウス IgG2a	EC50:0.5 nM
TPP-15286		未決定
TPP-9809	ヒト IgG1	非結合アイソタイプ対照
TPP-10748	マウス IgG2a	非結合アイソタイプ対照
TPP-15726	ヒト IgG1	アグリコシル化アイソタイプ対照

【０９２８】

抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１４０９９は、ＦＡＣＳによって決定されるように、３ｎＭのＥＣ５０でマウスＣＣＲ８を発現するＣＨＯ細胞及び１３．２ｎＭのＥＣ５０でマウスｉＴｒｅｇに結合する（データは示さず）。

【０９２９】

異なる同系腫瘍モデルを使用して、高度の免疫浸潤を有する腫瘍並びに低度の免疫細胞浸潤を有する腫瘍をモデル化した。さらに、使用されるモデルは、既知のチェックポイント阻害剤による処置、例えば抗ＣＴＬＡ４、抗ＰＤ１又は抗ＰＤ－Ｌ１抗体による処置に対する応答が異なる。それぞれの本発明の抗ＣＣＲ８抗体の有効性データを有する試験した腫瘍モデルの概要を表１２．１．１．２に示す。注目すべきことに、様々な同系腫瘍モデルにおいて有効性が実証された。

【０９３０】

簡単に記載すると、１００μｌのＰＢＳ、培地又は５０％のマトリゲルの混合物あたり通常５００．０００～１．０００．０００個の腫瘍細胞を含有する懸濁液を、雌の免疫適格マウス（例えば、Ｂａｌｂ／ｃ、Ｃ５７Ｂｌ６）の側腹部に皮下注射した。約６０～１００ｍｍ^3（通常１００ｍｍ^3）の触知可能な腫瘍サイズでは、典型的には１０ｍｇ／ｋｇを５～１０ｍｌ／ｋｇの体積で腹腔内注射することによって開始したＣＣＲ８－抗体投与。用量漸増試験では、より低い用量を試験した。それぞれのアイソタイプの非結合抗体は対照としての役割を果たした。群は、ｎ＝１０匹のマウスを含んでいた。治療を週に２回、典型的にはｑ３／４ｄスケジュールとして適用し、腫瘍サイズ及び体重を週に３回測定した。腫瘍成長データを経時的な平均体積としてプロットする。

【０９３１】

腫瘍及び組織試料を、第二抗体処置の２４時間後に同一に処置したサテライト動物（群あたりｎ＝５）から採取し、単一細胞への解離及び赤血球の溶解後にフローサイトメトリーによって分析し、特に組織１００ｍｇ当たりの制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）の絶対数の変化に焦点を当てた。活性化Ｔｒｅｇを決定するために使用したマーカーは、ＣＤ４５＋ＣＤ４＋ＣＤ２５＋ＦｏｘＰ３＋であった。他のＦＡＣＳマーカーは、ＣＤ８、ＮＫｐ４６、４－１ＢＢ、Ｆ４／８０、ＣＤ１１ｃ、Ｇｒ１及びＭＨＣＩＩを含んでいた。

【０９３２】

【表５８】

表 **12.1.1.2:**処置転帰を特徴付けるためのパラメータを有する様々な腫瘍モデルの概要。有効性を、同系マウス腫瘍モデルにおける抗 **CCR8** 代用抗体の最終腫瘍体積に基づく **Treg** 枯渇、全奏効率及び腫瘍対対照比によって測定した。[1]**Treg** 枯渇を、アイソタイプ対照における腫瘍内 **Treg** と、治療用抗体で処置した腫瘍における腫瘍内 **Treg** との間のパーセント差として計算した。[2] 全奏効率**(ORR)**及び完全奏効**(CR)**は、マウスモデルにおける迅速な腫瘍成長に対する **RECIST** 基準の適合に基づく**(CR:**完全奏効者**(**初期腫瘍体積の **10%**未満**);PR:**部分奏効者**(**初期腫瘍体積の最大 **300%);NR:**非奏効者**(**初期腫瘍体積の **300%**超**))**。[3]**T/C** は、試験終了時の処置腫瘍体積**/**対照腫瘍体積を指す。**n.d.:**未決定。[4] この腫瘍モデルにおけるいくつかの研究の平均。

モデル	TPP (10mg/kg)	Treg 枯渇(%)[1]	CD8+T 細胞/Treg 比	ORR[2](%CR)	T/C 体積[3]
CT26[4]	14099	78.3	56	58 (30)	0.15
H22		n.d.	n.d.	0 (0)	0.30
4T1		n.d.	n.d.	20 (0)	0.42
Hepa1-6		n.d.	n.d.	10 (0)	0.45
C38		45.5	17	4.5 (0)	0.55
MC38		n.d.	n.d.	0 (0)	0.78
LL/c		n.d.	n.d.	0 (0)	0.85
MBT2		n.d.	n.d.	10 (10)	0.86
RM-1		n.d.	n.d.	0 (0)	0.99
B16Bl6		n.d.	n.d.	0 (0)	1.06
CT26[4]	15285	82.3	64	72 (30)	0.18
EMT-6		61.6	3	90 (0)	0.28
F9		73.2	54	60 (30)	0.21
C38		68.2	16	40 (30)	0.23
B16F10-OVA		59.0	77	0 (0)	0.37
A20		28.0	3	40 (30)	0.46
4T1		37.1	1	0 (0)	0.90
B16F10		7.5	3	0 (0)	0.95
EG7-ova		n.d.	n.d.	0 (0)	0.86
PANC02		n.d.	n.d.	10 (0)	0.51
MBT2		n.d.	n.d.	30 (20)	0.40
MC38		n.d.	n.d.	30 (0)	0.35
MC38		n.d.	n.d.	0 (0)	0.58
J558		n.d.	n.d.	0 (0)	0.89
RENCA		n.d.	n.d.	0 (0)	0.81
Colon26		n.d.	n.d.	0 (0)	0.50
KLN205		n.d.	n.d.	0 (0)	0.79

【０９３３】

各同系マウス腫瘍モデルについて、アイソタイプ対照群及び抗ＣＣＲ８処置群の両方の１０個の腫瘍を、処置サイクルの最後、最後の治療の２４時間後に採取し（いずれかの群の腫瘍が平均体積３０００ｍｍ^{3}に達するまで隔週処置）、ＲＮＡ－ｓｅｑを介してゲノムワイドｍＲＮＡ発現を測定した。ＲＮＡ－ｓｅｑ　１３モデルによって評価した１７のモデルのうちで、対照群と比較して抗ＣＣＲ８処置群で上昇したＣＤ８　ｍＲＮＡレベルを示し、表１２．１．１．３に示すように倍数変化を示した。モデルＣＴ２６、Ｈ２２、ＲＭ１、ＭＢＴ２及びＨｅｐａ１～６について、ＣＤ８レベルの増加は、Ｔ検定統計量に従って有意であり、処置サイクルの終了時の細胞傷害性Ｔ細胞浸潤の有意な増加を示した

。これらのデータは、ＣＤ８＋細胞が腫瘍応答の達成に関与したことを強く示唆している。

【０９３４】

表１２．１．１．３：抗ＣＣＲ８処置によって誘導されたＣＤ８　ｍＲＮＡレベルの変化。

【０９３５】

【表５９】

モデル	倍率変化	T 検定 p 値
CT26	8.604	8.7E-08
H22	7.160	1.7E-09
RM1	3.105	3.1E-03
MBT2	2.716	1.3E-09
WEHI-164	1.680	1.4E-01
Hepa1-6	1.621	2.7E-02
LL2	1.315	1.3E-01
PANC02	1.242	5.4E-01
KLN205	1.194	5.2E-01
RENCA	1.188	6.7E-01
Colon26	1.137	7.6E-01
B16BL6	1.022	9.3E-01
J558	0.924	8.6E-01
MC38	0.898	6.2E-01
4T1	0.499	8.8E-02
EG7-OVA	0.449	4.3E-02

【０９３６】

［実施例１２．１．２］

バイオマーカー同定のための同系モデルの特性評価

同系モデルからの初期腫瘍のゲノムワイドＲＮＡ－ｓｅｑデータに基づいて、以下の遺伝子のレベルの増加が腫瘍応答と強く相関することが分かった：Ｅｉｆ３ｊ２、Ｅｎｏ１ｂ、Ｉｆｉ４４ｌ、Ｈｉｓｔ１ｈ２ａｌ、Ｉｆｉ２０２ｂ、Ｈｍｇａ１ｂ、Ａｍｄ２、Ｓｙｃｐ１、Ｉｔｌｎ１、Ｔｒｉｍ３４ｂ、Ｃａｔｓｐｅｒｇ２、Ｚｆｐ８６８、Ｓｅｒｐｉｎａ１ｂ、Ｐｒｓｓ４１、Ｃ１ｒｂ、Ｃｙｌｄ、Ｃｃｎｂ１ｉｐ１、Ｍａｓｐ２、Ａｃａａ１ｂ、Ｃ４ａ、Ｓｎｏｒｄ９３、Ａｂｈｄ１、Ｓｅｒｐｉｎａ３ｈ、Ｈ２－Ｋ２、Ｃｄ１ｄ２、Ｈａｌ、Ｒｎｆ１５１、Ｒｂｍ４６、Ａｒｇ２、Ｍｉｒ８０９９－２、Ｉｇｓｆ２１、Ｏｌｆｒ３７３、Ｃ１ｓ２、Ｃｒｙｍ、Ａｒｖ１、Ｈｄｄｃ３、Ｐｌｐｐｒ４、Ｐｐｐ１ｒ１１、Ｒｐｓ３ａ２、Ｚｆｐ４５９、Ｒｎｄ１、Ｓｅｒｐｉｎａ１ａ、Ｖｃｐｋｍｔ、Ａｔｐ１０ｄ、Ｇｂｐ２ｂ、Ｈ２－Ｔ２４、Ｔｌｃｄ２、Ｃｔｓｅ、Ｈ２－Ｑ１０、Ｃｙｐ２ｃ５５、Ｂｏｒｃｓ８、Ｔｐｓａｂ１、Ｔｒｉｍ４３ｂ、Ｃｃ２ｄ１ａ、Ｓｅｒｐｉｎａ１ｄ、Ｃａｃｎａ１ａ、Ｋｃｎｊ１４、Ｔｔｃ１３、Ｆａｒｓａ、Ｏｌｆｒ１２１７、Ｊａｍｌ、Ｈ２－Ｂｌ、Ｔｎｐｏ２、Ｒｉｍｓ３、Ｄｏｃｋ９、Ｃａｒ５ｂ、Ａｔｐ１ａ４、Ｈ２－Ｑ１、Ｚｆｐ６９、Ｓｌｐｉ、Ｐｃｄｈｇｂ８、Ｏｃｅｌ１、Ｓｅｌｅｎｂｐ２、Ｎｓｄ３、Ｗｔ１、Ｎａｐ１ｌ２、Ｒａｎｂｐ９、Ｇｔｐｂｐ３、ＡＹ７６１１８５、Ｒｎａｓｅｔ２ａ、Ｓｅｒｐｉｎａ３ｉ、Ｅｌｌ２、Ｇａｌ３ｓｔ２ｂ、Ｕｒｂ２、Ｆ１２、Ｋｌｋ１、Ｉｆｉ２１４、Ｃｓｔｌ１、Ａｇｔｐｂｐ１、Ｍｓｈ５、Ｃｏｘ１８、Ｚｆｐ３３０、Ｔｔｃ３７、Ｋｌｋ４、Ｈ２－Ｑ５、Ｃｘｃｌ１１、Ｒａｂ３９、Ｐｍ２０ｄ１、Ｎｏｄ２、Ｈ２－ＤＭｂ２．興味深いことに、このセットは、初期補体因子、セルピン等の補体調節因子、及びＭＨＣ成分が高度に濃縮されている。これらのマーカー又はそれらの組み合わせは、層別化のために、又は腫瘍応答を予測若しくはモニ

ターするために使用され得る。特に、高レベルの補体Ｃ１／Ｃ４の存在は、Ｔｒｅｇ溶解に寄与し得る。補体因子の枯渇／消費がＴｒｅｇ枯渇の有効性を低下させる場合、例えば併用処置において補体系を補完することが選択肢であり得る。

【０９３７】

異なる同系モデルを、腫瘍中の全ＣＤ４５＋免疫細胞内の免疫細胞サブセットの絶対数及び頻度に関して更に特徴付けた。フローサイトメトリーによって分析されたモデル（表１２．１．２．１）について、Ｂ１６Ｆ１０は、免疫細胞の数が最も少ないことを特徴とし、腫瘍体積の減少が最も少ないことを示した（表１２．１．２．１参照）。したがって、免疫細胞浸潤を、ＣＣＲ８抗体による処置に対する応答を予測するための層別化のために使用することができる。この仮説は、Ｂ１６Ｂｌ６を使用して後で確認することができる。

【０９３８】

【表６０】

表 12.1.2.1:初期時点(2 回目の処置の 24 時間後)で分析したビヒクル群の腫瘍における免疫細胞サブセットの絶対数及び総 CD45+免疫細胞内の頻度による腫瘍微小環境の特徴付け。T/C 体積は、試験終了時の対照群に対する CCR8 抗体処置群(週に 2 回 10mg/kg)の腫瘍体積の比を表す。

絶対免疫細胞数							
モデル	T/C 体積	CD45+	CD8+	CD4+conv	Treg	NK 細胞	Mph
CT26	0.18	1368322	192436	74946	66189	271952	54108
F9	0.21	535626	19741	21068	13965	50021	33206
EMT-6	0.28	1178255	9201	26504	18767	10016	290251
B16F10-OVA	0.37	388299	80015	26337	9948	68771	33597
4T1	0.42	399181	17992	11636	32076	16386	52023
A20	0.46	548792	144609	77894	80907	26629	85936
C38	0.55	525455	176380	57803	37518	36523	17514
B16F10	0.95	57459	2633	3269	653	6558	20057

相対免疫細胞数						
モデル	T/C 体積[1]	% CD45+の CD8+	%CD45+の CD4+conv	%CD45+の Treg	%CD45+の NK 細胞	%CD45+の Mph
CT26	0.18	14.1	5.5	4.8	19.9	4.0
F9	0.21	3.7	3.9	2.6	9.3	6.2
EMT-6	0.28	0.8	2.2	1.6	0.9	24.6
B16F10-OVA	0.37	20.6	6.8	2.6	17.7	8.7
4T1	0.42	4.5	2.9	8.0	4.1	13.0
A20	0.46	26.4	14.2	14.7	4.9	15.7
C38	0.55	33.6	11.0	7.1	7.0	3.3
B16F10	0.95	4.6	5.7	1.1	11.4	34.9

【０９３９】

［実施例１２．２］

ＣＴ２６腫瘍担持マウスにおける有効性

抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５及びＴＰＰ－１５２８６による処置は、ＣＴ２６腫瘍担持マウスにおいて強い抗腫瘍有効性を示した（図４１）。ＴＰＰ－１５２８５は、０．１ｍｇ／ｋｇの最低用量で有効性の低下を示し、他の用量依存的な差は有意ではなかった。予想通り、抗ＰＤ－Ｌ１抗体（「ＰＤＬ１」）は、このモデルにおいて中程度の有効性を示した。それぞれのアイソタイプの非結合抗体は、効力を何ら示さなかった。

【０９４０】

対応する処置群（図４２）のスパイダープロット（経時的な個々のマウスの腫瘍成長）は、両方の抗ＣＣＲ８抗体を用いて全ての用量群で完全応答が起こる均一に強い有効性を明確に実証した。

【０９４１】

２回目の抗体処置の２４時間後のＣＴ２６腫瘍試料のフローサイトメトリーによるＴｒｅｇ分析は、アイソタイプ対照群と比較して、抗ＣＣＲ８抗体処置群においてＴｒｅｇ数の大幅な減少を示した。ＴＰＰ－１５２８５の場合、Ｔｒｅｇの枯渇は明らかに用量依存的であった（図４３）。

【０９４２】

【表６１】

表 12.2.1:図 43 からの対応するデータ

CT26	平均#Treg	アイソタイプ対照に対する%Treg	平均#CD8+T 細胞	%iso ctrl に対する CD8+T 細胞	CD8+T 細胞:Treg の比	比 CD4+conv 細胞:Treg
mIgG2a Iso	162741	100	437223	100	3	1
TPP-15285, 10mg/kg	20872	13	1239497	283	64	9
TPP-15285, 1mg/kg	53303	33	716253	164	16	4
TPP-15285, 0.1mg/kg	76360	47	684058	156	10	2
TPP-15286, 10mg/kg	16321	10	624631	143	44	7
TPP-15286, 1mg/kg	14349	9	765654	175	87	11
TPP-15286, 0.1mg/kg	23202	14	1421674	325	68	11
mIgG1 iso	87365	100	326799	100	4	1
抗 PDL1、10mg/kg	107029	123	313229	96	3	1

【０９４３】

［実施例１２．３］

作用様式の研究

［実施例１２．３．１］

ＣＴ２６腫瘍担持マウスにおけるＡＤＣＣ／ＡＤＣＰ作用様式の研究

原核生物宿主で産生され得る非グリコシル化抗体は、アグリコシル化対応物と比較して、ほぼ同一の抗原結合親和性、生理学的温度での安定性、及びｉｎ　ｖｉｖｏ血清持続性を示す。しかしながら、Ｎ結合型グリカンが存在しないと、抗体オプソニン化標的細胞をＡＤＣＣ又はＡＤＣＰを介して除去するのに不可欠なＦｃγＲ結合親和性及び免疫エフェクター機能がほぼ全て無効になる。ＡＤＣＣ／ＡＤＣＰに基づく作用様式の証拠を提供するために、抗体のアグリコシル化バージョンを陰性対照として生成した。

【０９４４】

ＴＰＰ－１８２０８及びＴＰＰ－１８２０９は、抗ＣＣＲ８代用抗体のアグリコシル化ヒトＩｇＧ１バージョンであり、Ｆｃガンマ受容体を介してＮＫ細胞及び／又はマクロファージ等のエフェクター細胞に結合することができない。これらの抗体を、ＣＴ２６腫瘍担持マウスにおける抗腫瘍有効性について試験し、同じ配列（ＴＰＰ－１４０９５、ＴＰＰ－１４０９９）を含むそれぞれの野生型／グリコシル化対応物と比較した。さらに、抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５及びＴＰＰ－１５２８６（グリコシル化ｍＩｇＧ２アイソタイプ）を試験に含めた。

【０９４５】

野生型抗体は強い抗腫瘍有効性を示したが、アグリコシル化抗体はアイソタイプ対照と比較して有効性を示さなかった（図４４）。スパイダープロットは、各処置群における個々のマウスについての結果を示す（図４５）。したがって、フローサイトメトリーによる

ｅｘ　ｖｉｖｏ腫瘍分析は、野生型（グリコシル化）抗体による処置後にのみＴｒｅｇ枯渇を示したが、アグリコシル化抗体は、それぞれの非結合アイソタイプ対照と比較してＴｒｅｇ枯渇を示さなかった（図４６）。

【０９４６】

これらの結果により、ＡＤＣＣ及び／又はＡＤＣＰが、ＣＴ２６腫瘍における抗ＣＣＲ８抗体によるＴｒｅｇ枯渇の主要な作用様式であることが確認された。

【０９４７】

実施例１２．３．２：Ｂ細胞又はＴ細胞の関与及び抗ＣＣＲ８抗体の抗腫瘍効果に対するＣＤ８＋細胞枯渇又はＣＤ１９＋細胞枯渇の影響

抗ＣＣＲ８抗体の抗腫瘍有効性に対する腫瘍浸潤ＣＤ８＋Ｔ細胞又はＣＤ１９＋Ｂ細胞の存在の関連性を試験するために、本発明者らは、系統特異的Ｃｄ８ａ＋又は系統特異的Ｃｄ１９＋プロモーターのいずれかの制御下でジフテリア毒素受容体（ＤＴＲ）を発現する遺伝子改変Ｃ５７ＢＬ６マウスを使用した。ジフテリア毒素（ＤＴ）を注射すると、ＣＤ８＋Ｔ細胞又はＣＤ１９＋Ｂ細胞は、マウスの血液（データは示さず）及び皮下に運ばれた同系ＭＣ３８腫瘍（表１２．３．２．１）の両方から定量的に枯渇した。

【０９４８】

予想通り、ＣＤ８＋Ｔ細胞の枯渇は、抗ＣＣＲ８処置の抗腫瘍効果を完全に無効にし、アイソタイプ対照群と同一の腫瘍成長をもたらした（図８７）。これらの結果は、ＣＤ８＋Ｔ細胞の存在に対する本発明の抗ＣＣＲ８抗体の抗腫瘍有効性の依存性を確認した。

【０９４９】

対照的に、非常に驚くべきことに、ＣＤ１９＋Ｂ細胞を枯渇させると、ＴＰＰ１５２８５の有効性が有意に増加し（図８８）、Ｔ／Ｃ比が０．３５から０．１６に減少した（Ｔ検定ｐ値＝０．０３２）。したがって、抗ＣＣＲ８処置をＢ細胞枯渇剤又はＢ細胞枯渇剤、例えば抗ＣＤ１９抗体又は抗ＣＤ２０抗体、例えばリツキシマブと組み合わせることは、臨床における癌処置を更に改善することが示唆される。

【０９５０】

【表６２】

表 12.3.2.1:ジフテリア毒素処置 DTR マウスにおける CD8a 及び CD19 発現の枯渇

処置(各群 N=10)	平均 log2 Cd8a (mRNA レベル)	平均 log2 Cd19 (mRNA レベル)
DTR マウス+アイソタイプ[TPP-10748]	6.919	1.333
DTR マウス+抗 CCR8[TPP-15285、10mg/kg]	7.380	2.002
CD19-DTR+DT+アイソタイプ	7.466	0.406
CD19-DTR+DT+抗 CCR8[TPP-15285、10mg/kg]	9.039	0.000
CD8-DTR+DT+アイソタイプ	0.711	1.766
CD8-DTR+DT+抗 CCR8[TPP-15285、10mg/kg]	2.736	1.592

【０９５１】

【表６３】

表 12.3.2.2:CD19+B 細胞枯渇又は CD8+T 細胞枯渇の影響を評価するための処置群。

群	処置	用量	経路	投薬スキーム	T/C(CD8 枯渇)	T/C(CD19 枯渇)
01a	アイソタイプ対照	10mg/kg	i.p.	BIW	1	1
01b	抗 CCR8 抗体 TPP15285	10mg/kg	i.p.	BIW	0.58	0.35
02a	アイソタイプ対照 0.015mg/kg のジフテリア毒素あり	10mg/kg	i.p.	BIW	1.39	0.75
02b	抗 CCR8 抗体 TPP15285 0.015mg/kg のジフテリア毒素あり	10mg/kg	i.p.	BIW	1.01	0.2

【０９５２】

［実施例１２．３．３］

ＣＴ２６同系腫瘍担持マウスにおけるＣＤ８／ＦＯＸＰ３比の増加の時間経過

免疫細胞レベルに対するいくつかの機構的洞察を得るために、ＣＤ８及びＦＯＸＰ３のｍＲＮＡレベルを、ＴＰＰ１５２８５又はアイソタイプ対照で処置したＣＴ２６同系腫瘍担持マウスにおいてモニターした。最初の用量を投与する直前並びに最初の用量を投与した１２時間後、２４時間後、３６時間後、４８時間後、７２時間後に、１０個の腫瘍をＲＮＡ－ｓｅｑ分析のために採取した。同様に、腫瘍を、２回目、３回目及び４回目の用量のＴＰＰ１５２８５の投与の２４時間後に採取した。全ての腫瘍をＲＮＡ－ｓｅｑ分析に供して、マウスＦｏｘｐ３、ＣＤ８ａ及びＣＤ８ｂ１　ｍＲＮＡレベルを測定した。Ｆｏｐｘ３比に対する平均Ｃｄ８ａ及びＣｄ８ｂ１の比を計算し、対照群とＴＰＰ１５２８５処置群との間の比の差の有意性をＴ検定によって計算した。

【０９５３】

ＣＤ８対ＦＯＸＰ３のｍＲＮＡ比は、アイソタイプ対照及びＴＰＰ１５２８５処置後の最も早い時点において０．９の値と約２．０の値との間で変動したが、その後、ＴＰＰ１５２８５群では、１回目の投与の７２時間後、２回目の投与の２４時間後及び３回目の投与の２４時間後にそれぞれ５．８、３．９及び４．４の値まで有意に増加し、ＴＰＰ１５２８５による制御性Ｔ細胞の有意な枯渇を実証した。４回目の投与後２４時間で比は２．６の値に戻った。

【０９５４】

【表６４】

表 12.3.3.1:TPP 15285 又はアイソタイプ対照の投与後の異なる時点で測定された mRNA レベルの CD8/FOXP3 比。

時間点	TPP15285 CD8/FOXP3 比	アイソタイプ CD8/FOXP3 比	T 検定 p 値
11 日目、1 回目の投薬の 0 時間後	1.433	1.822	4.0E-01
11 日目、1 回目の投薬の 12 時間後	0.900	1.468	1.7E-01
12 日目、1 回目の投薬の 24 時間後	1.589	0.911	2.5E-01
12 日目、1 回目の投薬の 36 時間後	1.965	1.012	1.3E-01
13 日目、1 回目の投薬の 48 時間後	2.386	0.976	5.5E-03
14 日目、1 回目の投薬の 72 時間後	5.755	1.721	4.3E-02
15 日目、2 回目の投薬の 24 時間後	3.882	2.028	9.4E-02
18 日目、3 回目の投薬の 24 時間後	4.424	1.727	3.7E-03
22 日目、4 回目の投薬の 24 時間後	2.579	1.870	1.6E-01

【０９５５】

［実施例１２．４］

ＥＭＴ６腫瘍担持マウスにおけるＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５の有効性

［実施例１２．４．１］

ＥＭＴ６腫瘍担持マウスにおけるＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５の有効性－異なる投与

抗ＣＣＲ８代用抗体ＴＰＰ－１５２８５は、ＥＭＴ６腫瘍担持マウスにおいて用量依存的有効性を示し、１０ｍｇ／ｋｇ用量群で最も強い効果を示した。この用量では、ＴＰＰ－１５２８５は抗ＣＴＬＡ４抗体よりも優れた有効性を有していた（図４７、図４８）。

【０９５６】

１ｍｇ／ｋｇ用量群では依然として強い有効性が観察されたが、０．１及び０．０１ｍｇ／ｋｇ用量群はほとんど有効性を示さなかった。スパイダープロットは、個々のマウスレベルでのこれらの結果を示す（図４９）。

【０９５７】

２回目の抗体処置の２４時間後のＥＭＴ６腫瘍試料のフローサイトメトリーによるＴｒｅｇ分析は、アイソタイプ対照群と比較して、抗ＣＣＲ８抗体処置においてＴｒｅｇ数の大幅な減少を示した。Ｔｒｅｇ枯渇は明らかに用量依存的であった（図５０）。文献に以前記載されたように、Ｔｒｅｇ枯渇も抗ＣＴＬＡ４について観察された。さらに、研究終了時にサンプリングした腫瘍におけるＣＤ８＋Ｔ細胞の強い増加が、有効用量群１０ｍｇ／ｋｇ及び１ｍｇ／ｋｇのＴＰＰ－１５２８５並びに抗ＣＴＬＡ４について実証された（図５１）。免疫細胞集団の更なる変化を表１２．４．１．１及び表１２．４．１．２に示す。

【０９５８】

【表６５】

表 12.4.1.1:異なる用量の CCR8-抗体 TPP-15285 を用いた EMT 6 腫瘍担持マウスの 2 回目の処置の 24 時間後又は試験の最後に免疫細胞の FACS 分析によって決定された免疫細胞集団の相対パーセンテージ。

	EMT6	mIgG2a Iso	TPP-15285、10mg/kg	TPP-15285, 1mg/kg	TPP-15285 0.1mg/kg	TPP-15285、0.01mg/kg	Ham IgG iso	aCTLA4 10mg/kg
2回目の処置の24時間後のFACS	isoに対するCD45+の平均%	100	94	76	93	102	100	87
	isoに対するCD4conv+の平均%	100	91	120	121	155	100	52
	isoに対するCD4+の平均%	100	59	69	95	135	100	44
	isoに対する活性化CD8+の平均%	100	52	93	70	105	100	47
	isoに対するNK細胞の平均%	100	95	104	135	134	100	82
	相対的なCD8+T細胞の平均%	100	61	99	90	113	100	48
試験終了時のFACS	isoに対するCD45+の平均%	100	153	116	108	107	100	91
	isoに対するCD4conv+の平均%	100	245	169	115	112	100	262
	isoに対するCD4+の平均%	100	209	150	121	119	100	152
	isoに対する活性化CD8+の平均%	100	532	377	96	67	100	314
	isoに対するNK細胞の平均%	100	310	179	100	86	100	158
	相対的なCD8+T細胞の平均%	100	529	406	119	88	100	309

【０９５９】

【表６６】

表 12.4.1.2:異なる用量の CCR8 抗体 TPP-15285 を用いた EMT6 腫瘍担持マウスの 2 回目の処置の 24 時間後又は試験の最後に免疫細胞の FACS 分析によって決定された Treg の相対パーセンテージ、CD8:Treg 比又は CD4conv:Treg 比。

	EMT6	mIgG2a Iso	TPP-15285、10mg/kg	TPP-15285、1mg/kg	TPP-15285、0.1mg/kg	TPP-15285、0.01mg/kg	Ham IgG アイソタイプ	aCTLA4 10mg/kg
2 回目の処置の 24 時間後の FACS 分析	iso に対する平均%Treg	100	26	22	75	126	100	18
	CD8:Treg 比	1.1	3.2	4.8	1.4	0.9	1.2	4.1
	CD4conv:Treg 比	0.9	3.6	4.6	1.4	1	1.6	5.8
研究終了時の FACS 分析	iso に対する平均%Treg	100	160	125	122	122	100	86
	CD8:Treg 比	1.3	4.6	4.2	1.2	0.9	1.1	4.3
	CD4conv:Treg 比	1.2	1	0.6	0.7	0.6	1.7	1.7

【０９６０】

［実施例１２．４．２］

ＥＭＴ６腫瘍担持マウスにおけるＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５の有効性－単回又は複数回投与

マウス乳癌モデルＥＭＴ－６をＴＰＰ－１５２８５と共に使用して、単回投与対複数回投与の影響を試験した。４つの異なる処置スキーム：単一処理、２回のＢＩＷ処置、３回のＢＩＷ処置、又は４回のＢＩＷ処置を試験した。各群をビヒクル対照又は０．１ｍｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ若しくは５ｍｇ／ｋｇのＴＰＰ－１５２８５で処置した。有効性試験に加えて、サテライト動物を、処置の２４時間後、４８時間後及び１２０時間後にｅｘｖｉｖｏ表現型検査のために　殺した。抗体投与をｉ．ｐ．他の経路を使用することもできる。

【０９６１】

単回処置、２回ＢＩＷ処置、３回ＢＩＷ処置又は４回ＢＩＷ処置の有効性データを図８５に示す。興味深いことに、単回投与処置は、優れた処置効果を得るのに適していた。研究終了時に、ＣＤ８＋腫瘍内Ｔ細胞の頻度、絶対数及び活性化の増加があった（表１２．４．２．１を参照）。しかし、試験終了時に、腫瘍内Ｔｒｅｇ数及び頻度又はＣＣＲ８発現に差はなかった（表１２．４．２．２を参照）。さらに、試験終了時又は試験中に腫瘍内ＮＫ細胞又はマクロファージ細胞数に差はなかった（データは示さず）。

【０９６２】

しかしながら、経時的に、第１及び第２の処置後に腫瘍内Ｔｒｅｇ（ＣＤ４＋ＣＤ２５＋Ｆｏｘｐ３＋）の用量依存的減少があったが、第３及び第４の処置後にはあまり顕著ではなかった（表１２．４．２．３を参照）。これはＣＣＲ８＋Ｔｒｅｇでも観察された（データは示さず）。さらに、ＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数は経時的に増加した（表１２．４．２．４を参照）。したがって、ＣＤ８対Ｔｒｅｇ比は、アイソタイプ対照と比較して、１回目の投与後に増加し、４回目の投与後まで高いままであった。血液試料の特性評価では、異なる処置スケジュール及び経時的な血液中のＴｒｅｇの実質的な減少又はＣＤ８　Ｔ細胞の増加は示されなかった（データは示さず）。さらに、血液中のＮＫ及びマクロファージに変化は観察されなかった（データは示さず）。

【０９６３】

【表６７】

表 12.4.2.1:試験終了時に FACS によって決定した 100mg の腫瘍当たりの絶対 CD8+細胞。FACS 分析により、細胞傷害性 T 細胞の頻度、絶対数及び活性化状態の増加が明らかになった。

処置	ビヒクル (PBS、4 回処置)			TPP-15285 0.1mg/kg			TPP-15285 1mg/kg			TPP-15285 5mg/kg		
	平均	SD	n	平均	SD	n	平均	SD	n	平均	SD	n
単回投与	1802	1066	4	3793	1300	5	4435	2787	5	17995	1209	3
2 回の処置				3661	1826	5	6609	3373	5	7752	5470	5
3 回の処置				7800	8399	5	19189	21883	4	7358	4575	5
4 回の処置				10569	8227	5	9099	3561	5	17604	10357	4

【０９６４】

【表６８】

表 12.4.2.2: 試験終了時に FACS によって決定された 100mg の腫瘍当たりの絶対 CD4+CD25+FoxP3+Treg 細胞。

処置	ビヒクル (PBS、4 回処置)			TPP-15285 0.1mg/kg			TPP-15285 1mg/kg			TPP-15285 5mg/kg		
	平均	SD	n	平均	SD	n	平均	SD	n	平均	SD	n
単回投与	2751	1624	4	2976	1507	5	2190	892	5	9366	594	3
2 回の処置				2686	1472	5	5011	3179	5	3413	1855	5
3 回の処置				3187	2399	5	5517	5406	4	2214	1508	5
4 回の処置				3041	1449	5	3349	1427	5	7745	6271	5

【０９６５】

【表６９】

表 12.4.2.3:サテライト動物において FACS によって測定した場合の腫瘍 100mg 当たりの絶対 CD4+CD25+FoxP3+Treg 細胞。

	ビヒクル			TPP-15285 0.1mg/kg			TPP-15285 1mg/kg			TPP-15285 5mg/kg		
時間 (回の処置後)	平均	SD	n	平均	SD	n	平均	SD	n	平均	SD	n
24 時間(1)	13013	2878	4	7526	4116	5	11395	9162	6	10149	8020	5
48h (1)	12187	8549	5	10241	3097	6	4521	2593	6	11149	14745	6
120 時間(1)	13764	6040	5	9884	5660	6	8975	3810	6	3008	2067	6
24h (2)	14315	11220	3	7836	5964	6	2893	1347	4	1951	1041	6
48h (2)	15022	7702	5	9377	5010	6	3478	2374	6	1540	1495	6
120 時間(2)	5134	619	5	9567	5948	6	8922	8245	5	3837	2598	6
24 時間(3)	11789	5191	5	6619	2723	4	4429	3400	6	3462	1954	6
48 時間(3)	15616	7260	5	7258	3704	4	5879	3175	6	3750	1558	6
120 時間(3)												
24 時間(4)												
48h (4)	7011	2911	5	8137	4271	6	12037	7024	5	4293	3191	5

【０９６６】

【表７０】

表 12.4.2.4:サテライト動物において FACS によって決定された 100mg の腫瘍当たりの絶対 CD8+細胞。

	ビヒクル			TPP-15285 0.1mg/kg			TPP-15285 1mg/kg			TPP-15285 5mg/kg		
時間 (回の処置後)	平均	SD	n	平均	SD	n	平均	SD	n	平均	SD	n
24 時間(1)	12743	4875	4	7549	4679	5	17691	18215	6	13238	7023	5
48h (1)	9626	4564	5	11880	4806	6	8949	5814	6	16745	15525	6
120 時間(1)	25694	24727	5	13604	7778	6	56974	26915	6	19107	14265	6
24h (2)	15518	6383	3	19344	10833	6	16597	6630	4	13271	8470	6
48h (2)	18726	8477	4	34655	15707	6	33039	18954	6	14310	7167	6
120 時間(2)	8122	4436	5	46685	34541	6	38352	38235	5	53765	26430	6
24 時間(3)	25371	22860	5	18750	8436	4	34955	10345	6	41932	30806	5
48 時間(3)	32308	23581	5	24993	21998	4	39662	17864	6	69106	23874	6
120 時間(3)												
24 時間(4)												
48h (4)	17885	14712	5	32814	19935	6	50298	13584	5	34091	10942	5

【０９６７】

［実施例１２．５］

Ｆ９腫瘍担持マウスにおける抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５の有効性

抗ＣＣＲ８代用抗体ＴＰＰ－１５２８５は、Ｆ９腫瘍担持マウスにおいて用量依存的有効性を示し、１０ｍｇ／ｋｇ及び１ｍｇ／ｋｇ用量群で強い効果を示したが、０．４ｍｇ／ｋｇ用量群では有効性が低下し、抗ＰＤ－Ｌ１抗体の有効性に匹敵した（図５２、図５３）。スパイダープロットは、個々のマウスベースでのこれらの結果を示す（図５４）。

【０９６８】

２回目の抗体処置の２４時間後のＦ９腫瘍試料のＴｒｅｇ分析をフローサイトメトリーによって行い、アイソタイプ対照群と比較して、１０ｍｇ／ｋｇ用量の抗ＣＣＲ８抗体処置群においてＴｒｅｇ数の大幅な減少を示した。Ｔｒｅｇ枯渇は明らかに用量依存的であった（図５５）。Ｔｒｅｇ枯渇は、抗ＰＤ－Ｌ１抗体処置についても観察された。さらに、腫瘍におけるＣＤ８＋Ｔ細胞の強力かつ用量依存的な増加が、ＴＰＰ－１５２８５の全ての用量群並びに抗ＰＤ－Ｌ１抗体について実証された（図５５）。様々な免疫細胞集団に対する更なる効果を図５５、図５６及び表１２．５．１に示す。

【０９６９】

【表７１】

表12.5.1:2回目の処置の24時間後の免疫細胞集団及びそれらの比に対する抗CCR8抗体又は抗PDL1抗体の効果。

	mIgG2a iso	TPP15285、10mg/kg	TPP15285、1mg/kg	TPP15285、0.4mg/kg	mIgG1 iso	PDL1
平均#Treg	25324	10642	22734	41111	26435	17105
アイソタイプ対照に対する%Treg	100	42	90	162	100	65
平均#CD8+T細胞	113947	553074	388731	291603	99850	246400
%iso ctrlに対するCD8+T細胞	100	485	341	256	100	247
CD8+T細胞:Tregの比	5.1	54.4	15.9	7.7	3.3	15.1
CD4+conv細胞:Tregの比	2.2	28.5	9.6	4.6	3.0	5.7
平均#CD45+	435118	1191853	1080867	1042860	578616	615440
%iso ctrlに対するCD45+細胞	100	274	248	240	100	106
平均#CD4 conv細胞	49812	294714	230463	179896	89198	98995
%iso-ctrlに対するCD4 conv細胞	100	592	463	361	100	111
平均#CD4+細胞	81866	335500	279725	240886	128434	126134
%iso ctrlに対するCD4+T細胞	100	410	342	294	100	98
平均#NK細胞	83353	75576	119531	172201	121590	79803
%iso ctrlに対するNK細胞	100	91	143	207	100	66

【０９７０】

［実施例１２．６］

併用療法における抗ＣＣＲ８抗体の有効性

抗ＣＣＲ８抗体の有効性を単独で、又は抗ＰＤ－Ｌ１、抗ＰＤ１、及び抗ＣＴＬＡ４抗体等のチェックポイント標的化抗体と組み合わせて分析するために、様々な実験を行った。これらのチェックポイント標的化分子と組み合わせると、更なる有効性が得られることが分かった。さらに、例えば、オキサリプラチン、ドキソルビシン、ゲムシタビン又は放射線療法等の化学療法剤を用いて、更なる併用処置を評価した。表１２．６．１は、異なる併用処置の結果を要約する。第２の治療薬による処置が抗ＣＣＲ８抗体による処置の開始後にのみ開始された場合、更なる利益が観察された。

【０９７１】

【表７２】

表 12.6.1:抗 CCR8 抗体併用処置及び結果

腫瘍モデル[実施例]	併用処置	結果	更なる利点
C38 [12.6.1]	TPP-15285(10mg/kg) 抗 PD-L1 ab(3mg/kg)	CR combo:8/10; CR 抗 CCR8 ab mono:3/10; CR 抗 PD-L1 ab mono:0/10	++
CT26 (大きな腫瘍) [データは示さず]	TPP-15285(10mg/kg) 抗 PD-L1 ab(10mg/kg)	T/C combo:0.45; T/C 抗-CCR8 ab mono:0.57; T/C 抗-PD-L1 ab mono:0.79	+
B16F10-OVA [12.6.2]	TPP-15285(10mg/kg) 抗 CTLA4 ab(10mg/kg)	T/C combo:0.13; T/C 抗-CCR8 ab mono:0.37; T/C 抗-CTLA4 ab mono:0.30	++
EMT-6 [12.6.3]	TPP-15285(1mg/kg) 抗 PD-1 ab(10mg/kg)	組み合わせにおける相乗効果; 単剤療法では有効性なし	++
C38 (survival) [12.6.4]	TPP-15285(5mg/kg) 抗 PD-1 ab(5mg/kg)	CR combo:10/10; CR 抗 CCR8 ab mono:9/10; CR 抗 PD-1 ab mono:4/10	++
MB49 [12.6.5]	TPP-15285(10mg/kg) 抗 PD-1 ab(10mg/kg) CCR8 処置後の combo 開始	T/C combo:0.16; T/C 抗-CCR8 ab mono:0.37; T/C 抗 PD1 ab mono:0.63	++
EMT-6 [12.6.6]	TPP-15285(5mg/kg) オキサリプラチン(5mg/kg) ドキソルビシン(6mg/kg) ドセタキセル(10mg/kg)	T/C(日:19) 抗 CCR8 ab mono:0.20 オキサリプラチン mono:0.61 ドキソルビシン mono:0.43 ドセタキセルモノ:0.50 オキサリプラチンとの Combo:0.26 ドキソルビシンとの Combo:0.19 ドセタキセルとの Combo:0.20 Combo:最終的な腫瘍 CD8/Treg 比並びに血液中の活性化 CD8+CD25+T 細胞の頻度における相乗効果	+
ルイス肺 [12.6.7]	TPP-15285(10mg/kg) 抗 PD-1 ab(10mg/kg) 抗 PD-L1 ab(10mg/kg) 抗 CTLA4 ab(10mg/kg) 抗 CCR8 ab 処置後の combo 開始	T/C(日:25) aPD-1 との Combo:0.67* aPD-L1 との Combo:0.93 抗 CCR8 ab mono:0.78 抗 PD-1 mono:0.91 抗 PD-L1 mono:0.96 抗 CTLA4 mono:1.10 * 試験終了時の CD8+頻度及び CD8/Treg 比の増加	+

MB49 [図 68]	TPP-15285(10mg/kg) 抗 PD-L1 ab(10mg/kg) 抗 PD-1 ab(10mg/kg) ゲムシタビン(100mg/kg) CCR8 処置後の combo 開始	T/C(日:14) aPD-L1 との Combo:0.35 aPD-1 との Combo:0.37 ゲムシタビンとの Combo:0.56 抗 CCR8 ab mono:0.61 抗 PD-L1 ab mono:0.67 抗 PD-1 ab mono:0.79 ゲムシタビン mono:0.73	++
EMT-6 [12.6.8]	TPP-15285(3mg/kg) 3×2Gy 放射線療法	Combo:0.42 3×2Gy 単独:0.80 抗 CCR8 ab mono:0.54	++
MBT2 [12.6.9]	TPP-15285(10mg/kg) 抗 PD-L1 ab(10mg/kg) 抗 PD-1 ab(10mg/kg) パクリタキセル(10mg/kg、q4d、i.v.)	T/C(日:24) aPD-L1 ab との Combo:0.41 aPD-1 ab との Combo:0.15 パクリタキセルとの Combo:0.39 抗 CCR8 ab mono:0.5 抗 PD-L1 ab mono:0.89 抗 PD-1 ab mono:0.66 パクリタキセル mono:0.83	++

【０９７２】
これらの結果は、抗ＣＣＲ８抗体処置を更なる治療活性薬剤と組み合わせることの有益な影響を実証している。本発明者らは更に、抗ＣＣＲ８抗体が最初に投与される場合、及び例えば実施例１２．６．５及び１２．６．７で実証されるように、Ｔｒｅｇ細胞（例えば、少なくとも５０％）の最初の減少が起こった後にのみ更なる治療薬が投与される場合、治療薬の連続投与が更なる利益を追加すると結論付ける。
【０９７３】
これらの実験及び結果を考慮して、本発明者らは、例えば抗ＣＣＲ８抗体、チェックポイントタンパク質を標的とする抗体及び標的化治療剤（小分子並びに抗体）との三重の組み合わせが、これらの処置の作用様式の違いに起因して生存において更なる利益を提供することを確信している。したがって、抗ＣＣＲ８抗体とチェックポイント標的化抗体及び腫瘍細胞標的化抗体又は薬剤との組み合わせが、腫瘍処置のために示唆される。好ましい実施形態において、組み合わせは、ＣＣＲ８抗体、抗ＰＤ（Ｌ）－１抗体及びパクリタキセルの組み合わせである。
【０９７４】
［実施例１２．６．１］
Ｃ３８腫瘍担持マウスにおける抗ＣＣＲ８抗体の有効性及び抗ＰＤ－Ｌ１抗体との併用療法
抗ＣＣＲ８代用抗体ＴＰＰ－１４０９９及びＴＰＰ－１５２８５は、Ｃ３８腫瘍担持マウスにおいて抗ＰＤ－Ｌ１抗体の有効性に匹敵する強い有効性を示した（図５７ａ）。ＴＰＰ－１５２８５と３ｍｇ／ｋｇ抗ＰＤ－Ｌ１抗体との組み合わせは、更に改善された有効性を示した。両方の抗体をリン酸緩衝生理食塩水に別々に製剤化し、合計４回の個々の腹腔内注射と同様に週２回、すなわち同時処置開始と同日に組み合わせて適用した。
【０９７５】
マウスを９４日間にわたる生存研究においてモニターした（図５７ｂ）。注目すべきことに、抗ＣＣＲ８抗体と抗ＰＤ－Ｌ１抗体の組み合わせで処置した１０匹のマウスのうち

８匹が９４日目に生存し、ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５単独で処置した１０匹のマウスのうち４匹が９４日目に生存し、抗ＰＤ－Ｌ１抗体単独で処置したマウスのいずれも９４日目に生存しなかったことから、抗ＣＣＲ８抗体とＰＤ－Ｌ１抗体の相乗効果が実証された。Ｃ３８は、腫瘍誘導のためにＣ３８結腸癌細胞を使用する低浸潤同系マウスモデルである。このモデルは、一般に、抗ＰＤ－Ｌ１抗体処置に応答性であると考えられる。本明細書中に記載される利用可能なデータを考慮して、Ｔ細胞浸潤及び／又はＰＤ－Ｌ１療法に対する応答に基づく患者の層別化が、更なる利益を提供するために示唆される。

【０９７６】

２回目の抗体処置の２４時間後のＣ３８腫瘍試料のフローサイトメトリーによるＴｒｅｇ分析は、アイソタイプ対照群と比較して、抗ＣＣＲ８抗体処置群においてＴｒｅｇの数の大幅な減少を示した（図５８）。ＴＰＰ－１５２８５と抗ＰＤ－Ｌ１抗体との組み合わせについて、最も強いＴｒｅｇ枯渇が観察された。さらに、ＴＰＰ－１５２８５と抗ＰＤ－Ｌ１抗体との組み合わせで最も高いＣＤ８＋／Ｔｒｅｇ比が観察された。興味深いことに、マクロファージの分析は、研究の２４日目に増加を示した（図５９）。

【０９７７】

［実施例１２．６．２］

Ｂ１６Ｆ１０－ＯＶＡ腫瘍担持マウスにおける抗ＣＣＲ８抗体の有効性及び抗ＣＴＬＡ４抗体との併用療法

抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）は、Ｂ１６Ｆ１０－ＯＶＡを有するマウスにおいて抗ＣＴＬＡ４抗体（１０ｍｇ／ｋｇ）の有効性に匹敵する強い有効性を示した（図６０）。ＴＰＰ－１５２８５と抗ＣＴＬＡ４抗体との組み合わせは相乗効果を示し、ＣＤ８＋Ｔ細胞及びＩＦＮｇ／ＴＮＦａレベルの増加と相関した。

【０９７８】

両方の抗体をＰＢＳ中に製剤化し、同時処置開始と同じ日に組み合わせて、合計３回の個々の腹腔内注射と同様に週２回適用した。

【０９７９】

２回目の抗体処置の２４時間後（１２日目）のＢ１６Ｆ１０－ＯＶＡ腫瘍試料のフローサイトメトリーによるＴｒｅｇ分析は、アイソタイプ対照群と比較してＣＣＲ８抗体処置群におけるＴｒｅｇ数の大幅な減少を示した（表１２．６．２．１）。ＴＰＰ－１５２８５と抗ＣＴＬＡ４抗体との組み合わせについて、最も強いＴｒｅｇ枯渇が観察された。さらに、ＴＰＰ－１５２８５と抗ＣＴＬＡ４抗体との組み合わせについて、最も強いＣＤ８＋Ｔ細胞の増加が観察された。

【０９８０】

ＴＰＰ－１５２８５＋アイソタイプ対照、抗ＣＴＬＡ４抗体＋アイソタイプ対照又はＴＰＰ－１５２８５＋抗ＣＴＬＡ４抗体による２回目の抗体処置の２４時間後のＢ１６Ｆ１０－ＯＶＡ腫瘍のＦＡＣＳ分析は、腫瘍内Ｔｒｅｇ頻度の減少及びＣＤ８＋Ｔ細胞の絶対数の増加を実証した。

【０９８１】

【表７３】

表 12.6.2.1:試験終了時に FACS によって決定された腫瘍内細胞集団及び ELISA によって決定された IFNg。*n=5 試料についての平均。

	mulgG2a+hulgG1 アイソタイプ	TPP15285+hulgG1 アイソタイプ	aCTLA4+mulgG2a アイソタイプ	TPP15285 + aCTLA4
絶対 CD45	199442.1	437004.9	611423.6	717324.5
絶対 CD8	25327.0	155532.5	220147.5	312653.9
絶対 Treg	6261.1	9148.6	15413.2	11448.3
絶対 NK+	11066.6	36950.0	65954.0	57789.1
%NK+	5.9	8.1	10.1	7.6
%CD8	14.6	34.8	36.5	42.7
%Treg	31.58	18.86	23.2	8.98
IFNg(mg タンパク質当たり pg/ml)	3.80	28.83	18.40	35.70

【０９８２】

［実施例１２．６．３］

ＥＭＴ－６腫瘍担持マウスにおける抗ＰＤ－１抗体及び抗ＣＣＲ８抗体による併用処置：相乗効果

抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（１ｍｇ／ｋｇ）単独、抗マウスＰＤ－１抗体（ＣＤＲ：アテゾリズマブ、１０ｍｇ／ｋｇ）単独又はＴＰＰ－１５２８５（１ｍｇ／ｋｇ）と抗マウスＰＤ－１抗体（１０ｍｇ／ｋｇ）との組み合わせの治療有効性を、ＥＭＴ－６腫瘍担持マウスで評価した。両方の抗体をＰＢＳ中に製剤化し、同時処置開始と同じ日に組み合わせて、合計４回の個々の腹腔内注射と同様に週２回適用した。

【０９８３】

抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５は、１ｍｇ／ｋｇの低用量でＥＭＴ－６担持マウスにおいて弱い有効性を示し、１０ｍｇ／ｋｇでの抗ＰＤ－１抗体の弱い有効性に匹敵した（図６１）。１ｍｇ／ｋｇのＴＰＰ－１５２８５と１０ｍｇ／ｋｇの抗ＰＤ－１との組み合わせは相乗効果を示した。

【０９８４】

２回目の抗体処置の２４時間後のＥＭＴ－６腫瘍試料のフローサイトメトリーによるＴｒｅｇ分析は、アイソタイプ対照群又は抗ＰＤ－１単剤療法と比較して、ＣＣＲ８抗体処置群においてＴｒｅｇ数の大幅な減少を示した（図６２）。

【０９８５】

【表７４】

表 12.6.3.1:試験終了時に EMT-6 腫瘍において FACS によって決定された腫瘍内細胞集団。*n=5 試料についての平均、細胞/100mg 腫瘍。

腫瘍内免疫細胞	アイソタイプ対照	TPP15285 + アイソタイプ対照	抗 PD1 ab+ アイソタイプ対照	TPP15285 + 抗 PD1 ab
CD4+ (*)	48583.4	27646.1	54791.8	42312.3
Treg (CD4+CD25+FoxP3+) (*)	30686.4	7998.8	28781.7	11506.9
CD8+T 細胞(*)	13825.7	16398.8	19233.3	23132.7
NK 細胞(CD45+CD3+NKp46+)(*)	29119.6	44152.1	51372.0	67155.1
CD8:Treg 比	0.5	2.1	0.7	2.0

【０９８６】

［実施例１２．６．４］

Ｃ３８腫瘍担持マウスにおける抗ＰＤ－１抗体及び抗ＣＣＲ８抗体による併用処置

Ｃ３８腫瘍担持マウスにおいて、抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（５ｍｇ／ｋｇ）単独、抗マウスＰＤ－１抗体（ａＰＤ－１、ＣＤＲ：アテゾリズマブ、５ｍｇ／ｋｇ）単独又はＴＰＰ－１５２８５（５ｍｇ／ｋｇ）と抗マウスＰＤ－１抗体（５ｍｇ／ｋｇ）との組み合わせの治療有効性を評価した。両方の抗体をＰＢＳ中に製剤化し、同時処置開始と同じ日に組み合わせて、合計４回の個々の腹腔内注射と同様に週２回適用した。

【０９８７】

抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５は、Ｃ３８腫瘍担持マウスにおいて強い有効性を示し、これは同じ用量で投与された抗ＰＤ－１抗体の有効性よりも高かった（図６３ａ）。

【０９８８】

６４日後、５ｍｇ／ｋｇのＴＰＰ－１５２８５と５ｍｇ／ｋｇの抗ＰＤ－１抗体との組み合わせは、抗ＣＣＲ８単独療法の場合の９／１０及び抗ＰＤ１単独療法の場合の４／１０と比較して、１０／１０の完全奏効者で生存における改善された有効性を示した（図６３ｂ）。

【０９８９】

フローサイトメトリーによる第二の抗体処置の２４時間後のＣ３８腫瘍試料のＴｒｅｇ分析を図６４の表１２．６．４．１に示す。

【０９９０】

【表７５】

表 12.6.4.1:2 回目の抗体処置の 24 時間後の C38 腫瘍における FACS によって決定された腫瘍内細胞集団。*n=5 試料についての平均、細胞/100mg 腫瘍。

腫瘍内免疫細胞	アイソタイプ対照	TPP15285 + アイソタイプ対照	抗 PD1 ab+ アイソタイプ対照	TPP15285 + 抗 PD1 ab
CD4+ (*)	79735.2	109508.8	97352.8	189350.0
Treg (CD4+CD25+FoxP3+) (*)	27132.4	24495.8	32360.0	48581.6
CD8+T 細胞(*)	44063.8	151644.0	160225.4	291992.8
NK 細胞(CD45+CD3+NKp46+)(*)	124067.0	173865.5	115642.8	295252.5
CD8:Treg 比	1.7	6.0	4.7	10.2

【０９９１】

［実施例１２．６．５］

ＭＢ４９腫瘍担持マウスにおける抗ＣＣＲ８抗体と抗ＰＤ－１抗体との逐次併用処置

抗マウスＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）単独、抗マウスＰＤ－１抗体（ＣＤＲ：アテゾリズマブ、１０ｍｇ／ｋｇ）単独及びＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）と抗ＰＤ－１抗体（１０ｍｇ／ｋｇ）の組み合わせの治療有効性を、ＭＢ４９腫瘍担持マウスにおける研究で評価した。この研究では、抗ＰＤ１抗体の最初の用量は、抗ＣＣＲ８抗体の後、すなわち、抗ＣＣＲ８抗体がＴｒｅｇに対するＣＤ８＋Ｔ細胞の比の増加をもたらすＴｒｅｇに対する効果を引き起こすことを可能にした後にのみ投与された。すなわち、２回目の抗ＣＣＲ８抗体処置の２４時間後に抗ＰＤ１抗体による処置を開始した。

【０９９２】

抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５は、ＭＢ４９腫瘍担持マウスにおいて抗ＰＤ１抗体よりも高い強力な有効性を示した（図６５）。１０ｍｇ／ｋｇのＴＰＰ－１５２８５と１０ｍｇ／ｋｇの抗ＰＤ－１との組み合わせは、更に改善された有効性を示した。

【０９９３】

試験終了時のＭＢ４９由来腫瘍試料のＦＡＣＳ分析は、ビヒクル対照群又は抗ＰＤ－１抗体単独療法と比較して、抗ＣＣＲ８抗体処置群でＣＤ４５＋細胞、ＣＤ８＋細胞及びＮＫ細胞の頻度の増加及びＴｒｅｇの頻度の減少を示した（図６６、表１２．６．５．１）

。

【０９９４】

ＭＢ４９は、免疫チェックポイント阻害剤（ＩＣＩ）療法に応答性である膀胱癌細胞を使用した中程度に浸潤した同系モデルである。これらのデータを考慮すると、低い免疫浸潤及び／又はＩＣＩ療法に対する応答についての対象の層別化は、この併用療法に更なる利益を提供することが示唆される。

【０９９５】

特に、抗ＣＣＲ８抗体処置後の併用処置の開始は、利益をもたらすことが見出された。

【０９９６】

理論に拘束されるものではないが、本発明者らは、腫瘍細胞外因性因子としてのＴｒｅｇが癌患者におけるチェックポイント阻害剤に対する一次及び適応耐性の役割を果たすため、ＣＣＲ８抗体によるＴｒｅｇの初期枯渇が抗原提示細胞の活性を高め、腫瘍Ｔ細胞のプライミングがＰＤ－（Ｌ）１等のチェックポイント阻害剤に対する改善された感受性をもたらすと仮定する。

【０９９７】

【表７６】

表 12.6.5.1:試験終了時に MB49 腫瘍において FACS によって決定された腫瘍内細胞集団。*n=5 試料についての平均、細胞/100mg 腫瘍。

腫瘍内免疫細胞	アイソタイプ対照	TPP15285	抗 PD1 ab	TPP15285+抗 PD1 ab
CD45+細胞(%生細胞)	30.1	53.2	40.9	72.7
Treg(CD4+細胞の%での CD4+CD25+FoxP3+細胞)(*)	27.6	17.7	20.6	18.6
CD8+砂防(%での CD45+の)	6.3	8.4	8.3	16.3
NK 細胞(CD45+細胞の%での NKp46+細胞)	4.0	5.6	3.7	6.4
CD8:Treg 比	11.0	10.9	12.7	20.8

【０９９８】

［実施例１２．６．６］

ＥＭＴ－６腫瘍担持マウスにおける抗ＣＣＲ８抗体及び化学療法を含む併用処置

抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（５ｍｇ／ｋｇ、ｑ３／４ｄ　ｉ．ｐ．）単独、オキサリプラチン（５ｍｇ／ｋｇ、ｑ４ｄ　ｉ．ｐ．）単独、ドキソルビシン（６ｍｇ／ｋｇ、ｉ．ｖ．ＳＤ）単独、ドセタキセル（１０ｍｇ／ｋｇ、ｑ２ｄｘ５、ｉ．ｖ．）単独、又はＴＰＰ－１５２８５とオキサリプラチン、ドキソルビシン又はドセタキセルのいずれかとの組み合わせの治療有効性を、ＥＭＴ－６腫瘍担持マウスで評価した。治療薬をＰＢＳに製剤化し、同時処置開始と同じ日に併用処置を開始した。

【０９９９】

抗ＣＣＲ８抗体と各化学療法剤との組み合わせは、その化学療法剤による単剤療法よりも利益を提供したが、その組み合わせは抗ＣＣＲ８単剤療法よりも優れていなかった（図６７）。本発明者らは、治療剤の連続投与が有益であり、化学療法剤が急速分裂細胞を枯渇させるために適用される前に抗ＣＣＲ８抗体がＴｒｅｇを効果的に枯渇させることを可能にすることを確信している。

【１０００】

免疫細胞集団を、フローサイトメトリーによって腫瘍及び血液の両方において、研究の最後に分析した（表１２．６．６．１及び表１２．６．６．２を参照）。併用処置では、腫瘍内ＣＤ８／Ｔｒｅｇ比及び血液中の活性化ＣＤ８＋ＣＤ２５＋Ｔ細胞の頻度は、各単独療法及び対照と比較して増加した。

【１００１】

さらに、ＩＦＮガンマ、ＩＬ１０、ＩＬ１２ｐ７０、ＩＬ１ベータ、ＩＬ２及びＴＮＦアルファを分析した。ＩＦＮガンマ、ＩＬ－１ｂ及びＩＬ－２の上昇したレベルが単群及びｃｏｍｂｏ群で観察された。ＴＮＦアルファの増加はｃｏｍｂｏ群でのみ観察された（データは示さず）。

【１００２】

【表７７】

表 12.6.6.1:試験終了時に FACS によって決定された腫瘍内細胞集団。*別段の指定がない限り、n=5 試料、細胞/100mg 腫瘍についての平均を意味する。

EMT-6、腫瘍								
	ビヒクル (PBS)	TPP15285	オキサリプラチン	ドキソルビシン	ドクターゼール	TPP15285 +オキサリプラチン	TPP15285 +ドキソルビシン	TPP15285 +ドセタキセル
絶対 CD8+細胞	19215.4	106043.2	42872.6	43123.8	62549.6	107959.2	61187.0	56554.2
絶対 Treg	7397.0	12816.0	7075.2	12995.4	20688.0	6358.0	4363.0	4693.8
CD8+細胞/Treg 比	2.9	11.1	7.3	2.7	3.1	22.3	15.9	13.0
CD45+細胞の%CD8+細胞	1.8	14.0	5.9	5.6	5.4	13.1	14.6	9.4
%作用 CD8+細胞の CD8+細胞	37.7	13.9	26.8	22.0	17.9	17.1	21.4	23.1
%CD45+細胞の NK 細胞	5.3	7.9	4.2	5.0	4.8	4.8	8.6	6.5

【１００３】

【表７８】

表 12.6.6.2:試験終了時に FACS によって決定された血液免疫細胞集団。*n=5 試料についての平均、細胞/血液 100μl。

EMT-6、血液								
	ビヒクル (PBS)	TPP15285	オキサリプラチン	ドキソルビシン	ドクターゼール	TPP15285+オキサリプラチン	TPP15285+ドキソルビシン	TPP15285+ドセタキセル
絶対 CD8+細胞	13599.6	12491.2	5208.8	5502.0	9840.2	4094.8	4139.8	7000.8
絶対 Treg	1333.2	807.8	511.8	549.2	833.8	390.8	364.8	709.2
絶対 CD45+細胞	188940	166472	120713	104991	105002	47850	65061	121155
CD8+細胞/Treg 比	12.4	15.6	13.8	12.6	12.2	10.0	13.2	10.2
CD45+細胞の%CD8+細胞	7.1	6.9	5.4	5.6	9.5	8.2	6.7	6.3
%作用 CD8+細胞の CD8	1.6	3.1	2.0	3.5	4.2	6.7	10.7	10.3

【１００４】

［実施例１２．６．７］

ルイス肺癌を有するマウスにおける抗ＰＤ－（Ｌ）１抗体及び抗ＣＣＲ８抗体による逐次併用処置

ルイス肺腫瘍担持マウスにおいて、抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）単独、抗ＰＤ－１抗体（ａＰＤ－１、ＣＤＲ：アテゾリズマブ、１０ｍｇ／ｋｇ）単独、抗ＰＤ－Ｌ１抗体（１０ｍｇ／ｋｇ）単独、抗ＣＴＬＡ４抗体単独、ＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）と抗ＰＤ－１抗体（１０ｍｇ／ｋｇ）の併用、又はＴＰＰ－１５２８５（１０ｍｇ／ｋｇ）と抗ＰＤ－Ｌ１抗体（１０ｍｇ／ｋｇ）の併用の治療効果を評

価した（図６９）。抗体をＰＢＳにおいて製剤化した。抗ＣＣＲ８抗体については、腫瘍接種後１１、１４、１８及び２２日目に用量を投与した。併用処置のため、抗ＰＤ－（Ｌ）１抗体の投与を２回目の抗ＣＣＲ８抗体用量の２４時間後に開始した。この時点で、ＦＡＣＳ分析は、アイソタイプ対照と比較して６０％のＴＰＰ－１５２８５単剤群の腫瘍内Ｔｒｅｇ枯渇を示した（データは示さず）。

【１００５】

ルイス肺は、抑制性腫瘍微小環境を有する同系モデルとして使用され、抗ＰＤ－（Ｌ）１処置及び抗ＣＴＬＡ４処置に応答しないことが知られている。２回目の処置の２４時間後に測定された有効なＴｒｅｇ枯渇にもかかわらず、ＴＰＰ－１５２８５の単独治療有効性は観察されなかった。しかしながら、抗ＣＣＲ８抗体後の抗マウスＰＤ－１抗体との併用処置は改善された有効性を示し、これは研究終了時のＣＤ８／Ｔｒｅｇ比の増加にも関連していた（表１２．６．７．１）。

【１００６】

【表７９】

表 12.6.7.1:試験終了時に FACS によって決定された腫瘍内細胞集団。*n=5 試料についての平均。

腫瘍内細胞	ビヒクル (PBS)	TPP15285	抗 PD-1 ab	TPP15285+抗 PD-1 ab	抗 PD-L1 ab	TPP15285+抗 PD-L1 ab
絶対 CD8+	4682.4	7617.0	4593.8	6162.2	5684.4	7769.4
絶対 Treg	1202.6	1452.0	1207.0	805.8	1480.6	1355.0
CD8/Treg 比	4.0	7.9	6.0	7.3	4.7	5.1
% CD8	0.7	0.8	0.6	1.5	0.8	0.9
%活性化 CD8	19.8	14.9	11.9	12.2	24.5	18.6

【１００７】

［実施例１２．６．８］

ＥＭＴ－６腫瘍担持マウスにおける抗ＣＣＲ８抗体及び放射線療法を含む併用処置

抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１５２８５（３ｍｇ／ｋｇ）又は放射線療法（ＲＴ、３×２Ｇｙ）の治療効果を、ＥＭＴ－６腫瘍担持マウスにおいて単独又は組み合わせて評価した（図７０）。３×２Ｇｙの分割照射、続いて３ｍｇ／ｋｇのｂｉｗ×２回の併用処置を開始した。放射線療法単独では、腫瘍成長をわずかに遅延させただけであった。抗ＣＣＲ８抗体と放射線療法との組み合わせは、有効性のわずかな改善しか示さなかったが、試験終了時のＴｒｅｇ枯渇は各単剤療法よりも顕著であった（データは示さず）。

【１００８】

［実施例１２．６．９］

ＭＢＴ２腫瘍担持マウスにおける抗ＣＣＲ８抗体及びＰＤ－１抗体、ＰＤ－Ｌ１抗体又はパクリタキセルの投与を含む併用処置

本発明の抗ＣＣＲ８抗体、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、又はパクリタキセルの治療効果を、表１２．６．９．１に示すように、ＭＢＴ２同系腫瘍担持マウスにおいて単独又は組み合わせて試験した。各群は１０匹の腫瘍担持マウスを含み、腫瘍が約１００ｍｍ^{3}のサイズに達した接種後１０日目に処置を開始した。単一の処置群の中で、抗ＣＣＲ８は、最も強力で有意な抗腫瘍効果を示した。抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体又はパクリタキセルの抗腫瘍効果は、これらの処置を抗ＣＣＲ８療法と組み合わせることによって有意に増加した。抗体をＰＢＳにおいて製剤化した。３週間の隔週処置後にＴ／Ｃ比を分析した。

【１００９】

【表８０】

表 12.6.9.1:24 日目の処置群及びアイソタイプ対照に対する T/C 比。

群	処置	用量	経路	投薬スキーム	T/C
01	アイソタイプ対照	10mg/kg	i.p.	BIW	1
02	抗 CCR8 抗体 TPP15285	10mg/kg	i.p.	BIW	0.50
03	抗 PDL1 抗体	10mg/kg	i.p.	BIW	0.89
04	抗 PD1 抗体	10mg/kg	i.p.	BIW	0.66
05	パクリタキセル	10mg/kg	i.v.	Q4D	0.83
06	組み合わせ:TPP15285+抗 PDL1 ab	10mg/kg	i.p.+i.p.	BIW+BIW	0.41
07	TPP15285+抗 PD1 ab の組み合わせ	10mg/kg	i.p.+i.p.	BIW+BIW	0.15
08	TPP 15285+パクリタキセルの組み合わせ	10mg/kg	i.p.+i.v.	BIW+Q4D	0.39

【１０１０】

【表８１】

表 12.6.9.2:CD8 mRNA レベルは、抗 CCR8 併用処置後に増加する。CD8 mRNA レベルを、処置サイクルの終了の 24 時間後に得られた MBT2 腫瘍に対して行われた RNA-seq によって得た。平均 CD8 発現レベルを、各処置群からの 10 個の腫瘍について計算した。抗 CCR8 処置単独は、アイソタイプと比較して CD8 レベルを有意に増加させたが、PD1、PDL1、及びパクリタキセルは有意な効果を有していなかった。CD8 レベルは、抗 CCR8 処置を他の 3 つの処置と組み合わせることによって更に増加した。抗 CCR8 と抗 PD1 処置の組み合わせによって、8 倍を超える最も有意で最も強い増加が得られた。

処置	平均 CD8 発現	標準偏差	アイソタイプに対する倍率変化	T 検定 p 値
アイソタイプ[TPP10748]	7.493	1.378	1.000	1.0E+00
抗 CCR8[TPP15285、10mg/kg、BIW]	9.308	1.282	3.518	2.5E-04
抗 PD-L1[10mg/kg、BIW]	7.929	1.448	1.353	3.6E-01
抗 PD1[10mg/kg、BIW]	8.156	0.915	1.583	1.1E-01
パクリタキセル[10mg/kg、Q4D]	8.260	1.197	1.702	9.2E-02
抗 CCR8+PDL1	9.805	0.984	4.966	2.3E-06
抗 CCR8+PD1	10.524	1.078	8.171	9.4E-08
抗 CCR8+パクリタキセル	9.018	1.088	2.876	6.9E-04

【１０１１】

【表８２】

表 12.6.9.3:24 日目の腫瘍サイズは、抗 CCR8 処置によって有意に減少し、抗 CCR8 を PD1 抗体(CrownVivoPremium、カタログ番号 RMP1-14)、PDL1 抗体(CrownVivoPremium、カタログ番号 CVP034)、又はパクリタキセルのいずれかと組み合わせることによって更に減少する。アイソタイプ対照と比較した腫瘍サイズの最大かつ最も有意な減少は、抗 CCR8 と抗 PD1 抗体との組み合わせによって達成される。

群	処置	平均腫瘍サイズ [mm3]	SD 腫瘍サイズ [mm3]	T/C 比	T 検定 p 値
1	アイソタイプ[TPP10748]	3108,8	697,9	1	1,00E+00
2	抗 CCR8[TPP15285、10mg/kg、BIW]	1539,9	1431,4	0.50	1,38E-02
3	抗 PD-L1[10mg/kg、BIW]	2758,1	972,3	0.89	4,33E-01
4	抗 PD1[10mg/kg、BIW]	2051,7	1491,6	0.66	1,03E-01
5	パクリタキセル[10mg/kg、Q4D]	2566,2	963,7	0.83	2,53E-01
6	抗 CCR8+PDL1	1274,9	1159,0	0.41	1,68E-03
7	抗 CCR8+PD1	473,1	571,7	0.15	4,12E-06
8	抗 CCR8+パクリタキセル	1197,1	826,4	0.39	3,14E-04

【１０１２】

［実施例１２．７．１］

抗ＰＤ－Ｌ１抗体応答と抗ＣＣＲ８抗体応答との間の相関

抗ＰＤ－Ｌ１抗体による処置に対する抗ＣＣＲ８抗体処置の有効性をベンチマークするために、異なる同系腫瘍モデルの結果をまとめた（表１２．７．１．１を参照）。驚くべきことに、抗ＰＤ－Ｌ１抗体処置に対する良好な応答（例えば、Ｔ／Ｃ体積によって測定される）もまた、抗ＣＣＲ８抗体処置に対する良好な応答を予測した。ＰＤ－Ｌ１発現は、抗ＰＤ－Ｌ１処置に対する奏効者を選択するための既知の予測因子である。これらの所見から、本発明者らは、ＰＤ－Ｌ１発現が同様に、抗ＣＣＲ８抗体処置から最も利益を得る可能性が高いものを同定するために対象を層別化するのに適している可能性があると仮定した。この仮説は、ＰＤ－Ｌ１発現レベルを腫瘍体積と相関させることによって遡及的に検証することができる。

【１０１３】

【表８３】

表 12.7.1.1 様々な同系モデルについての抗 PD-L1 抗体対抗 CCR8 抗体に対する応答の比較。

	腫瘍モデル	一般的な免疫細胞浸潤	T/C_{vol} (実験終了)		%Treg 枯渇 [1]	腫瘍 CD8+変化*	ORR [#] (% CR)
			aCCR8	aPDL1	aCCR8	aCCR8	aCCR8
応答モデル	CT26	高	0.18	0.68	82.3	2.84 [1]	72 (30)
	EMT-6	中	0.28	0.68	61.6	5.89	90 (0)
	F9	中	0.21	0.25	73.2	4.85 [1]	60 (30)
	C38	低	0.23	0.58+	68.2	1.32 [1]	40 (30)
	B16F10-OVA	低	0.37	n.d.	59.0	6.14	0 (0)
比応答モデル	4T1	中	0.90	>0.9**	37.1	2.37	0 (0)
	B16F10	低	0.95	>0.9**	7.5	1.39	0 (0)

【１０１４】

［実施例１２．７．２］

抗腫瘍応答及び層別化又は疾患制御のためのｍＲＮＡバイオマーカーとの間の相関

初期未処置腫瘍（サイズ１００～２００ｍｍ^3、モデルあたりＮ＝１０）、より大きな未処置腫瘍（５００及び１０００ｍｍ^3）又は研究終了時の平均遺伝子発現（ＲＮＡ－ｓｅｑ）は、本明細書の他の箇所に記載されるように、ＴＰＰ－１４０９９又はＴＰＰ－１５２８５で処置した２１の同系マウスモデルのＴ／Ｃ比と相関していた。

【１０１５】

上位の相関する遺伝子は、Ｔ細胞及び炎症マーカーが有意に濃縮されていることが見出された（ピアソン相関値）、表１２．７．２．１を参照。炎症マーカーＩＦＮｇ及びＩＦＮｇ応答遺伝子（例えば、Ｇｂｐ３／４／５／８／９、Ｃｘｃｌ９、Ａｃｏｄ１）、ＰＤＬ１（ＣＤ２７６）、Ｃ１補体因子、Ｔ細胞遺伝子、例えばＫｌｒａ３／５及びＴｒａｖ、並びにＴｒｅｇマーカーＣＤ２５（ＩＬ２ＲＡ）、ＦＯＸＰ３及びＣＴＬＡ４は、応答と最も相関する遺伝子の１つである。

【１０１６】

表１２．７．２．２は、初期未治療腫瘍についての奏効細胞株（Ｔ／Ｃ＜０．６）対非奏効細胞株（Ｔ／Ｃ＞０．６）における発現の倍率変化を示す。奏効者と非奏効者との間で発現倍率変化が最も大きい１００個の遺伝子を列挙する。ＩＦＮｇ及びＩＦＮｇ応答遺伝子（例えば、Ｇｂｐ２／３／４／８／１０／１１、Ｃｘｃｌ９／１１、Ｕｂｄ）、細胞傷害性Ｔ細胞マーカー（例えばグランザイム、Ｐｒｆ１）、並びに肥満細胞マーカー（Ｔｐｓａｂ１、Ｃｍａ１、Ｔｐｓｂ２）、及びＣ１補体因子は、応答を最も予測する遺伝子の１つである。

【１０１７】

表１２．７．２．３は、より大きな未処置腫瘍（５００及び１０００ｍｍ^3）についての、奏効細胞株（Ｔ／Ｃ＜０．６）対非奏効細胞株（Ｔ／Ｃ＞０．６）における発現の倍率変化を示す。

【１０１８】

バイオマーカー候補体を表１２．７．２．１、１２．７．２．２及び１２．７．２．３に列挙する。したがって、これらの遺伝子のヒト対応物の高発現又はこれらの遺伝子のヒト対応物の組み合わせ若しくはサインを有する患者は、診療所で抗ＣＣＲ８処置に応答すると予想され得る。さらに、これらのマーカー又はそれらの組み合わせを使用して、処置の成功をモニターすることもできる。イタリック体／太字の遺伝子に由来するバイオマーカーが特に好ましい。

【１０１９】

【表８４】

表 12.7.2.1 本発明の抗 CCR8 抗体で達成される抗腫瘍応答と相関する適切なバイオマーカー。これらのバイオマーカーは、初期の未処置腫瘍において上方制御され、処置応答と相関していることが見出された。イタリック/太字の遺伝子に由来するバイオマーカーが特に好ましい。発現と T/C 比との間の負の相関係数(r 値を示す)が最も大きい 100 個の遺伝子を列挙する。

遺伝子	R	遺伝子	R	遺伝子	R	遺伝子	R
Grin2d	-0.658	Fkbp15	-0.583	Cfb	-0.558	Dnah7a	-0.539
Olfr1395	-0.656	Irf1	-0.582	Prm1	-0.556	Yipf4	-0.538
Olfr1122	-0.655	Eif3h	-0.579	Gbp5	-0.556	C1ra	-0.538
Gbp8	-0.638	Rab8a	-0.578	Stat1	-0.556	Trav9n-1	-0.534
Mir8098	-0.626	Xpa	-0.578	Nfkbiz	-0.554	Ccdc9	-0.533
Ifng	-0.62	Suox	-0.578	Klra5	-0.553	Gbp3	-0.533
Eny2	-0.618	Scgb1b30	-0.578	Ano8	-0.552	Foxp3	-0.533
Hebp1	-0.614	Rarres2	-0.574	Slc12a9	-0.552	Epb41l4a	-0.533
Cd274	-0.614	Ywhag	-0.573	Nr1h2	-0.552	Klra3	-0.533
Gbp10	-0.613	Fgl2	-0.573	Aip	-0.552	Il15	-0.532
Esyt2	-0.611	Wdtc1	-0.572	Shisa5	-0.551	Myo1e	-0.529
Clic6	-0.607	Ctla4	-0.571	Bcl2a1c	-0.55	Wdr60	-0.529
Greb1l	-0.606	Batf2	-0.571	Fam32a	-0.548	Trim56	-0.528
Trav7d-3	-0.604	Olfr56	-0.571	Tatdn1	-0.547	Ppp1r15a	-0.526
Pinc	-0.603	Cnep1r1	-0.571	Cd200r4	-0.547	Iigp1	-0.526
Cenpt	-0.602	Emp1	-0.57	Gbp4	-0.546	Fes	-0.524
Cxcl9	-0.601	Klf4	-0.567	Ccl8	-0.545	Trim12c	-0.523
Fam26f	-0.6	Hrh4	-0.566	Ttc39c	-0.544	Psmg4	-0.523
Il2ra	-0.6	Gbp9	-0.566	Klk10	-0.544	Igfbp5	-0.521
Hectd2	-0.596	Nlrp9c	-0.565	Crybg1	-0.543	Itgb1	-0.52
Chmp5	-0.593	Fam129b	-0.564	Gnb2	-0.542	Klf9	-0.518
Pcdhb22	-0.59	Tlr6	-0.562	Ctsg	-0.542	Actr1a	-0.518
Slitrk4	-0.589	Icos	-0.562	Olfr1396	-0.542	Sh2d1a	-0.517
Il18bp	-0.586	Tmsb15a	-0.56	Acod1	-0.54	Siah1a	-0.516
Cyth2	-0.585	Pla2g15	-0.559	ENS87554	-0.54	Ccl11	-0.516

【１０２０】

【表８５】

表 12.7.2.2 本発明の抗 CCR8 抗体で達成される抗腫瘍応答と相関する適切なバイオマーカー。奏効細胞株(T/C<0.6)対非奏効細胞株(T/C>0.6)における発現の倍率変化。上位の相関する(ピアソン)遺伝子は、T 細胞及び炎症マーカーが有意に濃縮されていることが見出された。

遺伝子	対数倍率変化	遺伝子	対数倍率変化	遺伝子	対数倍率変化	遺伝子	対数倍率変化
Gbp2b	**4.6**	**Serpinb9b**	**2.6**	**Prkg2**	**2.2**	**Pak3**	**2.0**
Msln	**4.4**	**Gbp4**	**2.5**	**Batf2**	**2.2**	**C1rb**	**2.0**
Klk10	**4.2**	**Itgb4**	**2.5**	**Nppb**	**2.2**	**Itgbl1**	**2.0**
Mcpt2	**3.5**	**Gzmf**	**2.5**	**C1s2**	**2.2**	**Serpina3g**	**2.0**
Gbp10	**3.4**	**Gzmd**	**2.5**	**Dio2**	**2.2**	**Itih2**	**2.0**
Foxg1	**3.2**	**AW112010**	**2.5**	**Bdnf**	**2.2**	**Tpsb2**	**2.0**
Tpsab1	**3.2**	**Ido2**	**2.5**	**Itgb6**	**2.2**	**Phex**	**2.0**
Ifi44l	**3.1**	**Gbp2**	**2.4**	**Ar**	**2.2**	**Hal**	**2.0**
Syt8	**3.1**	**Iigp1**	**2.4**	**Tgtp2**	**2.2**	**Clcf1**	**2.0**
Cxcl9	**3.0**	**Notum**	**2.4**	**Tnni2**	**2.2**	**Ifi47**	**2.0**
Hectd2	**2.9**	**Gbp3**	**2.4**	**Styk1**	**2.1**	**Fam26f**	**2.0**
Lgals7	**2.9**	**Tgtp1**	**2.4**	**H19**	**2.1**	**Trbc1**	**2.0**
Ido1	**2.8**	**Cxcl11**	**2.4**	**Rpl39l**	**2.1**	**Il34**	**2.0**
Zfpm2	**2.8**	**Irx2**	**2.3**	**Inhba**	**2.1**	**Serpina3f**	**2.0**
Dynap	**2.7**	**Tmem200a**	**2.3**	**Zfp985**	**2.1**	**Grem1**	**2.0**
Cdh17	**2.7**	**Ifng**	**2.3**	**S100a7a**	**2.1**	**Btc**	**2.0**
Gzmb	**2.7**	**Klhdc8a**	**2.3**	**Olfr56**	**2.1**	**Sox9**	**2.0**
Ubd	**2.7**	**Fst**	**2.3**	**Gjb4**	**2.1**	**Klf4**	**1.9**
Gbp11	**2.6**	**Trpm6**	**2.3**	**Nkg7**	**2.1**	**Pi15**	**1.9**
Mcpt1	**2.6**	**Syt12**	**2.3**	**Ankrd1**	**2.1**	**Slit2**	**1.9**
Gzmg	**2.6**	**Gbp5**	**2.3**	**Rab27b**	**2.0**	**Gprc5a**	**1.9**
Ifi202b	**2.6**	**Cntnap4**	**2.3**	**Klf5**	**2.0**	**Gbp8**	**1.9**
Greb1l	**2.6**	**Gzmc**	**2.3**	**Eps8l2**	**2.0**	**Cma1**	**1.9**
Brinp3	**2.6**	**Prf1**	**2.3**	**Epb41l4a**	**2.0**	**Mgp**	**1.9**

【１０２１】

【表８６】

表 12.7.2.3 大きな未治療腫瘍(500mm³ 及び 1000mm³)に基づく、奏効者と非奏効者との間で最大倍率変化を有する遺伝子に基づく適切なバイオマーカー。グランザイム及び他の免疫細胞マーカーの発現は、非奏効者モデルよりも奏効者において高い。イタリック/太字の遺伝子に由来するバイオマーカーが特に好ましい。

遺伝子	対数倍率変化	遺伝子	対数倍率変化	遺伝子	対数倍率変化	遺伝子	対数倍率変化	遺伝子	対数倍率変化
Foxg1	**4.6**	**Itgb4**	**2.9**	**Sorcs2**	**2.5**	**Aicda**	**2.3**	**Fas**	**2.0**
Msln	**4.5**	**Rarres1**	**2.9**	**Gzmc**	**2.5**	**Lhx2**	**2.3**	**Klk4**	**2.0**
Zfpm2	**4.3**	**Dcn**	**2.9**	**Prrx2**	**2.5**	**Dpep1**	**2.3**	**Sema5a**	**2.0**
Klk10	**4.2**	**Osr1**	**2.8**	**Lef1**	**2.5**	**Lancl3**	**2.3**	**Lrch2**	**2.0**
Dynap	**4.0**	**Inhba**	**2.8**	**Ighg1**	**2.5**	**Ereg**	**2.2**	**Fam189a1**	**2.0**
Ar	**3.8**	**Greb1l**	**2.8**	**Chrna1**	**2.5**	**Foxa1**	**2.2**	**Tpsb2**	**2.0**
Fst	**3.6**	**Bdnf**	**2.8**	**Ighg2b**	**2.5**	**Ighg2c**	**2.2**	**Shank1**	**2.0**
Syt8	**3.5**	**Wnt10a**	**2.7**	**Omd**	**2.5**	**Dmrta1**	**2.2**	**Dsc2**	**2.0**
Hectd2	**3.4**	**Prkg2**	**2.7**	**Sema3c**	**2.5**	**Cavin2**	**2.2**	**Gpm6b**	**2.0**
Pi15	**3.4**	**Slc24a3**	**2.7**	**Epb41l4a**	**2.5**	**Grem1**	**2.2**	**Slc12a1**	**2.0**
Foxd1	**3.4**	**Ptgs2**	**2.7**	**Gzme**	**2.5**	**Fam83f**	**2.2**	**Plut**	**2.0**
Gzmf	**3.3**	**Arsj**	**2.7**	**Ngef**	**2.5**	**Pak3**	**2.2**	**Gzmb**	**2.0**
Zic5	**3.2**	**Itgb8**	**2.7**	**Trp63**	**2.4**	**H19**	**2.2**	**Prelp**	**2.0**
Igf2	**3.1**	**Sh3rf3**	**2.7**	**Klhdc8a**	**2.4**	**Slit2**	**2.2**	**Gbp4**	**2.0**
Gzmg	**3.1**	**Medag**	**2.7**	**Slurp1**	**2.4**	**Bmp4**	**2.1**	**Rnf165**	**2.0**
Itgbl1	**3.1**	**Tnni2**	**2.7**	**Tpsab1**	**2.4**	**Grin2d**	**2.1**	**Syt12**	**2.0**
Tmem200a	**3.1**	**Cntnap4**	**2.7**	**Pdx1**	**2.4**	**Ifi202b**	**2.1**	**Btc**	**2.0**
Dio2	**3.0**	**Sema3a**	**2.6**	**Pdgfra**	**2.4**	**Kirrel3**	**2.1**	**Tssk6**	**2.0**
Gzmd	**3.0**	**Ptgs2os2**	**2.6**	**Dkk2**	**2.4**	**Podnl1**	**2.1**	**Slit3**	**2.0**
Aldh3a1	**3.0**	**Anxa8**	**2.6**	**Cavin4**	**2.4**	**Prf1**	**2.1**	**Gcsam**	**2.0**
Scara3	**3.0**	**Rpl39l**	**2.6**	**Kcnu1**	**2.4**	**Lgals7**	**2.1**	**Il11**	**2.0**
Il33	**2.9**	**Pcdh19**	**2.6**	**Xlr**	**2.4**	**Gbp10**	**2.1**	**Sybu**	**2.0**
Brinp3	**2.9**	**Ltbp1**	**2.6**	**Cdh17**	**2.3**	**Gbp8**	**2.1**	**Mrgprf**	**2.0**
Pcdhgb1	**2.9**	**Gbp2b**	**2.5**	**Ighg3**	**2.3**	**Cdyl2**	**2.1**	**Irx2**	**2.0**

【１０２２】

［実施例１２．８］

抗ＣＣＲ８抗体投与後の同系腫瘍モデルにおけるｍＲＮＡ発現の変化

各同系腫瘍モデルについて、抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１４０９９で治療した１０匹のマウス及びアイソタイプ対照で治療した１０匹のマウスを、最終処置の２４時間後に　殺した。腫瘍を小片に切断し、４℃のＲＮＡｌａｔｅｒに浸漬した。その後のＲＮＡ配列決定のために、ＩｌｌｕｍｉｎａのＨｉ－ｓｅｑプロトコルに従ってポリＡ　ｍＲＮＡを抽出し、ｃＤＮＡライブラリーを作製した。サンプルを約４０００万の１５０ｂｐ長のペアエンドリード／サンプルの深さまで配列決定した。

【１０２３】

図６３～図７３は、異なる同系腫瘍モデルにおける異なる免疫細胞マーカーのｍＲＮＡ発現レベルに対するアイソタイプ対照（ＴＰＰ－９８０９）又は抗ＣＣＲ８抗体（ＴＰＰ－１４０９９）のいずれかによる処置の影響を示す。処置は、炎症マーカーｌｆｎｇ、マクロファージマーカーＭｓ４ａ７、Ａｃｏｄ１及びＭｒｃ１、細胞傷害性Ｔ細胞マーカー

Ｃｄ８ａ及びＣｄ８ｂ１、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞マーカーＮｃｒ１、ｐａｎＴ細胞マーカーＣｄ３ｅ／ｄ／ｇ並びにＢ細胞マーカーＣｄ１９及びＣｄ２２を増加させた。

【１０２４】

注目すべきことに、本発明者らは、ＣＴ２６、ＭＢＴ２及びＨ２２腫瘍モデルにおけるＬＴｔａ／ｂ並びにＣｘｃｒ５及びそのリガンドＣｘｃｌ１３の有意な誘導、並びにＲＭ１、Ｈｅｐａ１－６及び４Ｔ１を含むいくつかの他のモデルにおけるこれらの遺伝子の一般的な上方制御を観察した。理論に拘束されるものではないが、抗ＣＣＲ８抗体ＴＰＰ－１４０９９又はＴＰＰ－１５２８５による三次リンパ系構造の誘導は、これらの抗体によって誘発される抗腫瘍応答に寄与し得る。

【１０２５】

【表８７】

表 12.8.1:T 細胞マーカー、チェックポイントタンパク質、Treg マーカー、NK 細胞マーカー、マクロファージマーカー、B 細胞マーカー及びインターフェロンガンマと抗 CCR8 抗体処置応答との反相関。

		Cd8a	Cd274 [PD-L1]	Pdcd1 [PD-1]	Ctla4	Ccr4	Ccr8	Foxp3	Ncr1	Ms4a7	Fcgr2b	Ifng
CT26	r	-0.693	-0.630	-0.600	-0.654	-0.612	-0.664	-0.531	-0.775	-0.626	-0.496	-0.606
	p値	0.026	0.051	0.067	0.040	0.060	0.036	0.114	0.008	0.053	0.145	0.063
H22	r	-0.791	-0.782	-0.852	-0.804	-0.779	-0.888	-0.828	-0.738	-0.686	-0.710	-0.896
	p値	0.011	0.013	0.004	0.009	0.013	0.001	0.006	0.023	0.041	0.032	0.001

【１０２６】

［実施例１３］

抗ＣＣＲ８抗体を含む標的化トリウムコンジュゲート（ＴＴＣ）の調製

国際公開第２０１６０９６８４３号の開示は、その全体が、特にこの実施例に記載されるようなコンジュゲートの製造に関して、参照により本明細書に組み込まれる。

【１０２７】

抗体ＴＰＰ－２３４１１、ＴＰＰ－２１３６０又は任意の他の抗ＣＣＲ８抗体への３，２－ヒドロキシピリドノン（３，２－ＨＯＰＯ）キレート剤又は任意の他の適切なキレート剤のコンジュゲーションは、特許出願国際公開第２０１６０９６８４３号に以前に記載されているように行うことができる。簡単に説明すると、キレート剤を活性化するために、０．１Ｍ　ＭＥＳ緩衝液ｐＨ５．４と１：１の比でＤＭＡに溶解した３，２－ＨＯＰＯキレート剤、いずれも０．１Ｍ　ＭＥＳ緩衝液ｐＨ５．４に溶解したＮＨＳ及びＥＤＣを１／１／３の比で混合する。抗体とのコンジュゲーションのため、モル比７．５／７．５／２２．５／１（キレート化剤／ＮＨＳ／ＥＤＣ／ｍＡｂ）の活性化したキレート化剤をｍＡｂに加えることができる。２０～６０分後、反応物を１２％ｖ／ｖの０．３Ｍクエン酸でクエンチしてｐＨを５．５に調整する。タンパク質濃度を、２８０ｎｍの吸光度でのピーク面積を積分するＨＰＬＣによって決定する。次いで、溶液を、一定体積のタンジェント流濾過（ＴＦＦ）により、３０ｍＭクエン酸塩、５０ｍｇ／ｍｌｘ　Ｍスクロース、２ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．５ｍｇ／ｍｌ　ｐＡＢＡ、ｐＨ５．５に緩衝液交換する。ダイアフィルトレーションの終わりに、溶液は製剤容器に排出される。生成物をＴＦＦ緩衝液（３０ｍＭクエン酸塩、×５０ｍｇ／ｍｌ　Ｍスクロース、２ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．５ｍｇ／ｍｌ　ｐＡＢＡ、ｐＨ５．５）及び７％ｗ／ｖポリソルベート８０と共に製剤化して、２．５ｍｇ／ｍｌのそれぞれのＣＣＲ８抗体－キレート剤コンジュゲート（ＣＣＲ８－ＡＣＣ）を得る。ＣＣＲ８－ＡＣＣは、０．２μｍフィルターを通して滅菌バイアルに濾過することができる。

【１０２８】

ＣＣＲ８－ＡＣＣは、国際公開第２０１６０９６８４３号に記載されているようにトリウム－２２７で放射性標識される。簡潔には、５μｌのＣＣＲ８－ＡＣＣを３２μｌのト

リウム－２２７（３．８７５ＭＢｑ／ｍｌの活性）及び１３μｌのクエン酸緩衝液と混合して、１０ｋＢｑ／μｇの比活性でＣＣＲ８標的化トリウム－２２７コンジュゲート（ＣＣＲ８－ＴＴＣ）を得る。試料を室温で６０分間インキュベートして、トリウム－２２７の３，２－ＨＯＰＯキレート剤への安定な放射性標識を可能にすることができる。サンプルのアリコートを、即時薄層クロマトグラフィー（ｉＴＬＣ）によって分析することができる。

【１０２９】

抗体配列

【表８８】

配列番号	配列
201	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRQLGSWGQGTLVTVSS
202	SYGMH
203	AISGSGGSTYYADSVKG
204	GRQLGS
205	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVL
206	SGSSSNIGSNYVY
207	GNNNRPS
208	AAWDDSLNGWV
209	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCTCTGGCAGCGGCGGCAGCACATATTACGCCGATTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCAGACAGCTCGGCTCTTGGGGACAGGGAACACTGGTTACAGTGTCCTCA
210	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTAGCGGCAGCAGCTCCAACATCGGCAGCAACTACGTGTACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACGGCAACAACAACAGACCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTCAGCGGCTCTAAGTCTGGCACAAGCGCCAGCCTGGCCATCTCTGGACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGACGATTCTCTGAACGGCTGGGTTTTCGGCGGAGGCACCAAACTGACAGTGCTA
211	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRQLGSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
212	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
213	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCTCTGGCAGCGGCGGCAGCACATATTACGCCGATTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCAGACAGCTCGGCTCTTGGGGACAGGGAACACTGGTTACAGTGTCCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGC

	CAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGT CTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCA CCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGG GCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTG GC
214	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTAGCGGCAGCAGC TCCAACATCGGCAGCAACTACGTGTACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACGGCAACA ACAACAGACCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTCAGCGGCTCTAAGTCTGGCACAAGCGCCAGCCTGGCCATCTCTGGACT GAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGACGATTCTCTGAACGGCTGGGTTTTCGGCGGAGGCAC CAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCAGGC CAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAGCTCT CCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGC CTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAAGACA GTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
215	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGVHWVRQAPGKGLEWVSGVSWNGSRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVTRGAWGQGTLVTVSS
216	DYGVH
217	GVSWNGSRTHYADSVKG
218	RGA
219	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSFNIGSHFVYWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVL
220	SGSSFNIGSHFVY
221	KNNQRPS
222	AAWDDSLNGPV
223	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCGATTATGGCGTGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGAAAAGGACTGGAATGGGTTTCAGGCGTGTCCT GGAACGGCAGCAGAACCCACTATGCCGACAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGTGACAAGAGGCGCTTGGGGCCAGG GCACACTGGTCACAGTTTCTTCA
224	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTAGCGGCAGCAGC TTCAACATCGGCAGCCACTTCGTGTACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACAAGAACAA CCAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGACT GAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGACGATTCTCTGAACGGCCCTGTTTTTGGCGGAGGCAC CAAGCTGACAGTGCTA
225	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGVHWVRQAPGKGLEWVSGVSWNGSRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVTRGAWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
226	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSFNIGSHFVYWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
227	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCGATTATGGCGTGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGAAAAGGACTGGAATGGGTTTCAGGCGTGTCCT GGAACGGCAGCAGAACCCACTATGCCGACAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC

	TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGTGACAAGAGGCGCTTGGGGCCAGG GCACACTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATC TGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGC TCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGT GCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAA GGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGT GTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGT GTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAG AGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGA GTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCG CGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAA AGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCT GTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTG TTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
228	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTAGCGGCAGCAGC TTCAACATCGGCAGCCACTTCGTGTACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACAAGAACAA CCAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGACT GAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGACGATTCTCTGAACGGCCCTGTTTTTGGCGGAGGCAC CAAGCTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCAGGC CAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAGCTCT CCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGC CTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAAGACA GTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
229	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGVHWVRQAPGKGLEWVSGVSWNGSRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVTRGAWGQGTLVTVSS
230	DYGVH
231	GVSWNGSRTHYADSVKG
232	RGA
233	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSFNIGSHFVYWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVL
234	SGSSFNIGSHFVY
235	KNNQRPS
236	AAWDDSLNGPV
237	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCGATTATGGCGTGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGAAAAGGACTGGAATGGGTTTCAGGCGTGTCCT GGAACGGCAGCAGAACCCACTATGCCGACAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGTGACAAGAGGCGCTTGGGGCCAGG GCACACTGGTCACAGTTTCTTCA
238	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTAGCGGCAGCAGC TTCAACATCGGCAGCCACTTCGTGTACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACAAGAACAA CCAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGACT GAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGACGATTCTCTGAACGGCCCTGTTTTTGGCGGAGGCAC CAAGCTGACAGTGCTA
239	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGVHWVRQAPGKGLEWVSGVSWNGSRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVTRGAWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTF PAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIV

	TCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGS VRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNS YSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
240	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSFNIGSHFVYWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVLGQPKSSPSVTLFPPSSEELETNKATLVCTITDFYPGVVTVDWKVDGTPVTQGMETTQPS KQSNNKYMASSYLTLTARAWERHSSYSCQVTHEGHTVEKSLSRADCS
241	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCGATTATGGCGTGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGAAAAGGACTGGAATGGGTTTCAGGCGTGTCCT GGAACGGCAGCAGAACCCACTATGCCGACAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGTGACAAGAGGCGCTTGGGGCCAGG GCACACTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAAGACCACCGCCCCCAGCGTGTACCCTCTGGCTCCTGTGTGTGGCGATACCAC CGGCAGCTCTGTGACCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGGCTACTTCCCTGAGCCAGTGACCCTGACCTGGAACAGCGGCTC TCTGTCTAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCGACCTGTACACCCTGAGCAGCAGCGTGACCGTGAC CAGCAGCACATGGCCCAGCCAGAGCATCACCTGTAACGTGGCCCACCCTGCCAGCTCCACCAAGGTGGACAAGAAGAT CGAGCCCAGAGGCCCCACCATCAAGCCTTGCCCCCCTTGCAAATGCCCTGCCCCCAATCTGCTGGGCGGACCCTCCGT GTTCATCTTCCCACCCAAGATCAAGGACGTGCTGATGATCAGCCTGAGCCCCATCGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTG TCCGAGGACGACCCCGATGTGCAGATCAGTTGGTTCGTGAACAACGTGGAAGTGCACACCGCCCAGACCCAGACACAC AGAGAGGACTACAACAGCACCCTGAGAGTGGTGTCCGCCCTGCCCATCCAGCACCAGGATTGGATGAGCGGCAAAGAG TTCAAGTGCAAAGTGAACAACAAGGACCTGCCAGCCCCCATCGAGCGGACCATCTCTAAGCCTAAGGGCAGCGTGCGG GCTCCCCAGGTGTACGTGCTGCCTCCTCCAGAGGAAGAGATGACCAAGAAACAAGTGACACTGACATGCATGGTCACC GACTTCATGCCCGAGGACATCTACGTGGAATGGACCAACAACGGCAAGACCGAGCTGAACTACAAGAACACCGAGCCC GTGCTGGACAGCGACGGCAGCTACTTCATGTACAGCAAGCTGCGGGTGGAAAAGAAAAACTGGGTGGAACGGAACAGC TACAGCTGCAGCGTGGTGCACGAGGGCCTGCACAATCACCACACCACCAAGAGCTTCAGCCGGACCCCTGGCAAG
242	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTAGCGGCAGCAGC TTCAACATCGGCAGCCACTTCGTGTACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACAAGAACAA CCAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGACT GAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGACGATTCTCTGAACGGCCCTGTTTTTGGCGGAGGCAC CAAGCTGACAGTGCTAGGCCAGCCCAAGAGCAGCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGGAAAC AAACAAGGCCACCCTCGTGTGCACCATCACCGACTTCTACCCCGGCGTCGTGACCGTGGACTGGAAGGTGGACGGCAC CCCAGTGACCCAGGGCATGGAAACCACCCAGCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACATGGCCAGCAGCTACCTGAC CCTGACCGCCAGAGCCTGGGAGAGACACAGCTCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCCACACCGTGGAAAAGA GCCTGAGCAGAGCCGACTGCAGC
243	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGRQLGSWGQGTLVTVSS
244	SYGMH
245	AISGSGGSTYYADSVKG
246	GRQLGS
247	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVL
248	SGSSSNIGSNYVY
249	GNNNRPS
250	AAWDDSLNGWV
251	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCTCTG GCAGCGGCGGCAGCACATATTACGCCGATTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCT GTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCAGACAGCTCGGCTCTTG

	GGGACAGGGAACACTGGTTACAGTGTCCTCA
252	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTAGCGGCAGCAGC TCCAACATCGGCAGCAACTACGTGTACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACGGCAACA ACAACAGACCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTCAGCGGCTCTAAGTCTGGCACAAGCGCCAGCCTGGCCATCTCTGGACT GAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGACGATTCTCTGAACGGCTGGGTTTTCGGCGGAGGCAC CAAACTGACAGTGCTA
253	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGRQLGSWGQGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLS PIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
254	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVLGQPKSSPSVTLFPPSSEELETNKATLVCTITDFYPGVVTVDWKVDGTPVTQGMETTQP SKQSNNKYMASSYLTLTARAWERHSSYSCQVTHEGHTVEKSLSRADCS
255	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCTCTG GCAGCGGCGGCAGCACATATTACGCCGATTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCT GTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCAGACAGCTCGGCTCTTG GGGACAGGGAACACTGGTTACAGTGTCCTCAGCCAAGACCACCGCCCCCAGCGTGTACCCTCTGGCTCCTGTGTGTGG CGATACCACCGGCAGCTCTGTGACCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGGCTACTTCCCTGAGCCAGTGACCCTGACCTGGAA CAGCGGCTCTCTGTCTAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCGACCTGTACACCCTGAGCAGCAGCGT GACCGTGACCAGCAGCACATGGCCCAGCCAGAGCATCACCTGTAACGTGGCCCACCCTGCCAGCTCCACCAAGGTGGA CAAGAAGATCGAGCCCAGAGGCCCCACCATCAAGCCTTGCCCCCCTTGCAAATGCCCTGCCCCCAATCTGCTGGGCGG ACCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCCAAGATCAAGGACGTGCTGATGATCAGCCTGAGCCCCATCGTGACCTGCGTGGTG GTGGACGTGTCCGAGGACGACCCCGATGTGCAGATCAGTTGGTTCGTGAACAACGTGGAAGTGCACACCGCCCAGACC CAGACACACAGAGAGGACTACAACAGCACCCTGAGAGTGGTGTCCGCCCTGCCCATCCAGCACCAGGATTGGATGAGC GGCAAAGAGTTCAAGTGCAAAGTGAACAACAAGGACCTGCCAGCCCCCATCGAGCGGACCATCTCTAAGCCTAAGGGC AGCGTGCGGGCTCCCCAGGTGTACGTGCTGCCTCCTCCAGAGGAAGAGATGACCAAGAAACAAGTGACACTGACATGC ATGGTCACCGACTTCATGCCCGAGGACATCTACGTGGAATGGACCAACAACGGCAAGACCGAGCTGAACTACAAGAACA CCGAGCCCGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTACTTCATGTACAGCAAGCTGCGGGTGGAAAAGAAAAACTGGGTGGAAC GGAACAGCTACAGCTGCAGCGTGGTGCACGAGGGCCTGCACAATCACCACACCACCAAGAGCTTCAGCCGGACCCCTG GCAAG
256	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTAGCGGCAGCAGC TCCAACATCGGCAGCAACTACGTGTACTGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACGGCAACA ACAACAGACCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTCAGCGGCTCTAAGTCTGGCACAAGCGCCAGCCTGGCCATCTCTGGACT GAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGACGATTCTCTGAACGGCTGGGTTTTCGGCGGAGGCAC CAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCCAAGAGCAGCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGGAAAC AAACAAGGCCACCCTCGTGTGCACCATCACCGACTTCTACCCCGGCGTCGTGACCGTGGACTGGAAGGTGGACGGCAC CCCAGTGACCCAGGGCATGGAAACCACCCAGCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACATGGCCAGCAGCTACCTGAC CCTGACCGCCAGAGCCTGGGAGAGACACAGCTCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCCACACCGTGGAAAAGA GCCTGAGCAGAGCCGACTGCAGC
257	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSGVSWAGSRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARAAAGTRGFDYWGQGTLVTVSS
258	SYSMN
259	GVSWAGSRTHYADSVKG
260	AAAGTRGFDY

261	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSHIVNWYQQLPGTAPKLLIYGNTNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSSYTSISTLVFGGGTKLTVL
262	SGSSSNIGSHIVN
263	GNTNRPS
264	SSYTSISTLV
265	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTACAGCATGAACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGCCTTGAATGGGTTTCAGGCGTGTCCT GGGCCGGCAGCAGAACCCACTATGCCGACAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGCTGCCGCCGGAACCAGAG GCTTTGATTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTTTCTTCA
266	AGCTACAGCATGAAC
267	GGCGTGTCCTGGGCCGGCAGCAGAACCCACTATGCCGACAGCGTGAAGGGC
268	GCTGCCGCCGGAACCAGAGGCTTTGATTAT
269	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTAGCGGCAGCAGC TCCAATATCGGCAGCCACATCGTGAACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACGGCAACAC CAACAGACCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCCGGCTCTAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGACTG AGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCAGCAGCTACACCAGCATCAGCACCCTGGTTTTTGGCGGAGGCACCAAG CTGACAGTGCTA
270	AGCGGCAGCAGCTCCAATATCGGCAGCCACATCGTGAAC
271	GGCAACACCAACAGACCCAGC
272	AGCAGCTACACCAGCATCAGCACCCTGGTT
273	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSGVSWAGSRTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARAAAGTRGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
274	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSHIVNWYQQLPGTAPKLLIYGNTNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSSYTSISTLVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNN KYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
275	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMHWVRQAPGKGLEWVSLISWDGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGGIGRRPGLEYWGQGTLVTVSS
276	SYAMH
277	LISWDGGSTYYADSVKG
278	GGIGRRPGLEY
279	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCQTWGTGIRVFGGGTKLTVL
280	SGSSSNIGNNYVS
281	GNSNRPS
282	QTWGTGIRV
283	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGG ATTCACCTTCAGGAGCTATGCTATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCTCTTATTAGT TGGGATGGTGGTAGCACCTACTATGCAGACTCTGTGAAGGGTCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACTGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGTATAGGGCGTCGTCC TGGGCTTGAGTACTGGGGCCAAGGTACCCTGGTCACCGTGAGTTCA
284	AGCTATGCTATGCAC

285	CTTATTAGTTGGGATGGTGGTAGCACCTACTATGCAGACTCTGTGAAGGGT
286	GGGGGTATAGGGCGTCGTCCTGGGCTTGAGTAC
287	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAGC TCCAACATTGGAAATAATTATGTTTCCTGGTATCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTATGGTAACAGC AATCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCC GGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTCAGACCTGGGGCACTGGCATTCGGGTGTTCGGCGGAGGAACCAAGCTGA CGGTCCTA
288	TCTGGAAGCAGCTCCAACATTGGAAATAATTATGTTTCC
289	GGTAACAGCAATCGGCCCTCA
290	CAGACCTGGGGCACTGGCATTCGGGTG
291	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSYAMHWVRQAPGKGLEWVSLISWDGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGGIGRRPGLEYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
292	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCQTWGTGIRVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
293	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANSYATAYAASVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCTRPLDSWGQGTLVTVSS
294	SYAMS
295	RIRSKANSYATAYAASVKG
296	PLDS
297	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNAVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRSSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCQSYDNSLSASVFGGGTKLTVL
298	SGSSSNIGNNAVN
299	RNNQRSS
300	QSYDNSLSASV
301	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGG ATTCACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTGGCCGTATTAGA AGCAAAGCTAACAGTTACGCGACAGCATATGCTGCGTCGGTGAAAGGCAGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGA ACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACTGCCGTGTATTACTGTACGAGGCCCTTGGACTCCTG GGGCCAAGGTACCCTGGTCACCGTGAGTTCA
302	AGCTATGCCATGAGC
303	CGTATTAGAAGCAAAGCTAACAGTTACGCGACAGCATATGCTGCGTCGGTGAAAGGC
304	CCCTTGGACTCC
305	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCCTGTTCTGGAAGCAGC TCCAACATCGGAAATAATGCTGTAAACTGGTATCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTATAGAAATAAT CAGCGGTCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCC GGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCCTATGACAACAGCCTGAGTGCTTCGGTGTTCGGCGGAGGAACCAA GCTGACGGTCCTA
306	TCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAATAATGCTGTAAAC
307	AGAAATAATCAGCGGTCCTCA
308	CAGTCCTATGACAACAGCCTGAGTGCTTCGGTG
309	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANSYATAYAASVKGRFTISRDNSKNTLYL

	QMNSLRAEDTAVYYCTRPLDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
310	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNAVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRSSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCQSYDNSLSASVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQ SNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
311	EVQLLESGGGLLQPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVAVISYDGRNKYSADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGLPYGYWGQGTLVTVSS
312	NAWMS
313	VISYDGRNKYSADSVKG
314	GLPYGY
315	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLKALVFGGGTKLTVL
316	SGSSSNIGSNTVN
317	RNNQRPS
318	AAWDDSLKALV
319	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGA TTCACCTTCAGTAACGCCTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCAT ATGATGGAAGAAATAAATACTCTGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACTGCCGTGTATTACTGTGCGAGGGGCCTCCCTTATGGCTACTGGG GCCAAGGTACCCTGGTCACCGTGAGTTCA
320	AACGCCTGGATGAGC
321	GTTATATCATATGATGGAAGAAATAAATACTCTGCAGACTCCGTGAAGGGC
322	GGCCTCCCTTATGGCTAC
323	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGC TCCAACATCGGAAGTAATACTGTAAACTGGTATCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTATAGGAATAAT CAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTC CGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCTGCATGGGATGACAGTCTGAAGGCTCTGGTATTCGGCGGAGGAACCA AGCTGACGGTCCTA
324	TCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTAATACTGTAAAC
325	AGGAATAATCAGCGGCCCTCA
326	GCTGCATGGGATGACAGTCTGAAGGCTCTGGTA
327	EVQLLESGGGLLQPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVAVISYDGRNKYSADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGLPYGYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
328	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLKALVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
329	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVRTYSGHYGPYFDNWGQGTLVTVSS
330	NAWMS

331	GINWNGGSTGYADSVKG
332	TYSGHYGPYFDN
333	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSHTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVL
334	SGSSSNIGSHTVN
335	RNNQRPS
336	AAWDDSLNGWV
337	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGG ATTCACCTTCAGTAACGCCTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCTGGTATTAAT TGGAATGGTGGTAGCACAGGTTATGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACTGCCGTGTATTACTGTGTTAGGACGTATAGTGGGCACTACGGA CCCTACTTTGACAACTGGGGCCAAGGTACCCTGGTCACCGTGAGTTCA
338	AACGCCTGGATGAGC
339	GGTATTAATTGGAATGGTGGTAGCACAGGTTATGCAGACTCTGTGAAGGGC
340	ACGTATAGTGGGCACTACGGACCCTACTTTGACAAC
341	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGC TCCAACATCGGAAGTCATACTGTAAACTGGTATCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTATAGGAATAA TCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTC CGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTTGGGTGTTCGGCGGAGGAACCA AGCTGACGGTCCTA
342	TCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTCATACTGTAAAC
343	AGGAATAATCAGCGGCCCTCA
344	GCAGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTTGGGTG
345	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVRTYSGHYGPYFDNWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
346	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSHTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
347	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVTYWMTWVRQAPGKGLEWVSGVSWNGSRTHYVDSVKRRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARYSGYPDYYGMDVWGQGTLVTVSS
348	TYWMT
349	GVSWNGSRTHYVDSVKR
350	YSGYPDYYGMDV
351	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSWSNIGNDNVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCQSYDRSLSGSVFGGGTKLTVL
352	SGSWSNIGNDNVY
353	RNNQRPS
354	QSYDRSLSGSV
355	GAGGTGCAACTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGA TTCACCTTTGTTACATATTGGATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTATCGGGTGTTAGTT GGAATGGCAGTAGGACGCACTATGTGGACTCCGTGAAGCGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACTGCCGTGTATTACTGTGCGAGATATAGTGGCTACCCTGACTACT

	ACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGTACCCTGGTCACCGTGAGTTCA
356	ACATATTGGATGACC
357	GGTGTTAGTTGGAATGGCAGTAGGACGCACTATGTGGACTCCGTGAAGCGC
358	TATAGTGGCTACCCTGACTACTACGGTATGGACGTC
359	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCTGG TCCAACATCGGAAATGATAATGTATACTGGTATCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTATAGGAATAAT CAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTC CGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCTTATGACAGGAGCCTGAGTGGTTCGGTGTTCGGCGGAGGAACCA AGCTGACGGTCCTA
360	TCTGGAAGCTGGTCCAACATCGGAAATGATAATGTATAC
361	AGGAATAATCAGCGGCCCTCA
362	CAGTCTTATGACAGGAGCCTGAGTGGTTCGGTG
363	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFVTYWMTWVRQAPGKGLEWVSGVSWNGSRTHYVDSVKRRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARYSGYPDYYGMDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
364	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSWSNIGNDNVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCQSYDRSLSGSVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
365	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSGVSWNGSRTRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCTRGSYNSGWYAVSWGQGTLVTVSS
366	SYGMH
367	GVSWNGSRTRYADSVKG
368	GSYNSGWYAVS
369	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSYPVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADY YCSSYSVTDNLIFGGGTKLTVL
370	SGSSSNIGSYPVN
371	RNNQRPS
372	SSYSVTDNLI
373	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGG ATTCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTATCGGGTGTTAGT TGGAATGGCAGTAGGACGCGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACTGCCGTGTATTACTGTACTAGAGGGTCATATAATAGTGGCTGG TACGCGGTCTCCTGGGGCCAAGGTACCCTGGTCACCGTGAGTTCA
374	AGCTATGGCATGCAC
375	GGTGTTAGTTGGAATGGCAGTAGGACGCGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGC
376	GGGTCATATAATAGTGGCTGGTACGCGGTCTCC
377	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCTGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGT TCCAACATCGGGAGTTATCCTGTAAACTGGTATCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTATAGGAATAA TCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTC CGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCATATTCTGTCACCGACAATTTGATATTCGGCGGAGGAACCAAGCT GACGGTCCTA
378	TCTGGAAGCAGTTCCAACATCGGGAGTTATCCTGTAAAC
379	AGGAATAATCAGCGGCCCTCA

380	AGCTCATATTCTGTCACCGACAATTTGATA
381	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSGVSWNGSRTRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGSYNSGWYAVSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
382	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSYPVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSSYSVTDNLIFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
383	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYRMTWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRFDTRGFYGFDYWGQGTLVTVSS
384	NYRMT
385	GINWNGGSTGYADSVKG
386	GRFDTRGFYGFDY
387	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYSHNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSAWDSSLSAWVFGGGTKLTVL
388	TGSSSNIGAGYDVH
389	SHNQRPS
390	SAWDSSLSAWV
391	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAATTATAGGATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCTGGTATTAATTGGAATGGTGGTAGCACAGGTTATGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACTGCCGTGTATTACTGTGCCAGAGGGCGCTTTGATACTAGGGGTTTTTACGGCTTTGACTACTGGGGCCAAGGTACCCTGGTCACCGTGAGTTCA
392	AATTATAGGATGACC
393	GGTATTAATTGGAATGGTGGTAGCACAGGTTATGCAGACTCTGTGAAGGGC
394	GGGCGCTTTGATACTAGGGGTTTTTACGGCTTTGACTAC
395	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGATGTACACTGGTATCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTATAGTCATAATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCTCAGCATGGGACAGCAGCCTCAGTGCTTGGGTGTTCGGCGGAGGAACCAAGCTGACGGTCCTA
396	ACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGATGTACAC
397	AGTCATAATCAGCGGCCCTCA
398	TCAGCATGGGACAGCAGCCTCAGTGCTTGGGTG
399	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYRMTWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGRFDTRGFYGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
400	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYSHNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSAWDSSLSAWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
401	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIRWNSGSKGYAGSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ

	MNSLRAEDTAVYYCVRSGNYYVGYHGMDVWGQGTLVTVSS
402	SYAMS
403	GIRWNSGSKGYAGSVKG
404	SGNYYVGYHGMDV
405	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGGNSNIGTYFVSWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCETWDSNTRVFGGGTKLTVL
406	SGGNSNIGTYFVS
407	TNNQRPS
408	ETWDSNTRV
409	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCCTGGCAAAGGCCTTGAATGGGTGTCCGGCATCAGAT GGAACAGCGGCTCTAAGGGCTATGCCGGCTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGTGCGGAGCGGCAATTACTACGTGG GCTACCACGGCATGGATGTGTGGGGACAGGGAACCCTGGTTACCGTTTCTTCA
410	AGCTACGCCATGAGC
411	GGCATCAGATGGAACAGCGGCTCTAAGGGCTATGCCGGCTCTGTGAAGGGC
412	AGCGGCAATTACTACGTGGGCTACCACGGCATGGATGTG
413	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTAGCGGCGGCAAC AGCAACATCGGCACCTACTTCGTGTCCTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAACAA CCAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGACT GAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCGAGACATGGGACAGCAACACCAGAGTGTTTGGCGGAGGCACCAAGCT GACAGTGCTA
414	AGCGGCGGCAACAGCAACATCGGCACCTACTTCGTGTCC
415	ACCAACAACCAGCGGCCTAGC
416	GAGACATGGGACAGCAACACCAGAGTG
417	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIRWNSGSKGYAGSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVRSGNYYVGYHGMDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
418	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGGNSNIGTYFVSWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCETWDSNTRVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
419	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
420	HYGMH
421	GINWNGGSTGYADSVKG
422	GHHSGYDGRFFDY
423	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
424	TGSSSNIGAGYNVH
425	TNNRRPS
426	AAWDASLSGWV
427	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT

	GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
428	CACTATGGCATGCAC
429	GGCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
430	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
431	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
432	ACCGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
433	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
434	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
435	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
436	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
437	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARTYTGNYGPYFDYWGQGTLVTVSS
438	NAWMS
439	GINWNGGSTGYADSVKG
440	TYTGNYGPYFDY
441	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDDSLRGWVFGGGTKLTVL
442	TGSSSNIGAGYDVH
443	KNNQRPS
444	AAWDDSLRGWV
445	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAATGCCTGGATGAGCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGAAAAGGCCTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAACCTACACCGGCAACTACGG CCCCTACTTCGATTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTCACCGTTTCTTCA
446	AATGCCTGGATGAGC
447	GGCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
448	ACCTACACCGGCAACTACGGCCCCTACTTCGATTAT
449	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTATGACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACAAGAA CAACCAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGATTCTCTGAGAGGCTGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA

450	ACCGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTATGACGTGCAC
451	AAGAACAACCAGCGGCCTAGC
452	GCCGCCTGGGATGATTCTCTGAGAGGCTGGGTT
453	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTYTGNYGPYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
454	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYKNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLRGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
455	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSAWMSWVRQAPGKGLEWVSGISWSGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTYSGHYGPYFDYWGQGTLVTVSS
456	SAWMS
457	GISWSGGSTGYADSVKG
458	TYSGHYGPYFDY
459	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSHTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVL
460	SGSSSNIGSHTVN
461	RNNQRPS
462	AAWDDSLNGWV
463	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACATTTTCTAGCGCCTGGATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCCTGGAAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTCTTGGAGCGGCGGCTCTACAGGCTATGCCGATTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAACATACAGCGGCCACTACGGCCCCTACTTCGATTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTCACCGTTTCTTCA
464	AGCGCCTGGATGAGC
465	GGCATCTCTTGGAGCGGCGGCTCTACAGGCTATGCCGATTCTGTGAAGGGC
466	ACATACAGCGGCCACTACGGCCCCTACTTCGATTAT
467	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTCATACTGTAAACTGGTATCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTATAGGAATAATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTTGGGTGTTCGGCGGAGGAACCAAGCTGACGGTCCTA
468	TCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTCATACTGTAAAC
469	AGGAATAATCAGCGGCCCTCA
470	GCAGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTTGGGTG
471	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSAWMSWVRQAPGKGLEWVSGISWSGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTYSGHYGPYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
472	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSHTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS

	KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
473	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAIKWGGGSHGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGKDGRFFDYWGQGTLVTVSS
474	SYGMH
475	AIKWGGGSHGYADSVKG
476	GHHSGKDGRFFDY
477	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
478	TGSSSNIGAGYNVH
479	TNNRRPS
480	AAWDASLSGWV
481	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATTAAGTGGGGCGGAGGCTCTCACGGCTATGCCGATTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACTCTGGCAAGGACGGCAGATTCTTCGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
482	AGCTATGGCATGCAC
483	GCCATTAAGTGGGGCGGAGGCTCTCACGGCTATGCCGATTCTGTGAAGGGC
484	GGCCACCACTCTGGCAAGGACGGCAGATTCTTCGACTAT
485	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAACAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGGCACCAAACTGACAGTGCTA
486	ACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
487	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
488	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
489	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAIKWGGGSHGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGKDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
490	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
491	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAIKWGGGSHGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGHHKGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
492	SYGMH
493	AIKWGGGSHGYADSVKG
494	GHHKGYDGRFFDY
495	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
496	TGSSSNIGAGYNVH
497	TNNRRPS
498	AAWDASLSGWV

499	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATTAAGT GGGGCGGAGGCTCTCACGGCTATGCCGATTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAAGGGCTACG ACGGCAGATTCTTCGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
500	AGCTATGGCATGCAC
501	GCCATTAAGTGGGGCGGAGGCTCTCACGGCTATGCCGATTCTGTGAAGGGC
502	GGCCACCACAAGGGCTACGACGGCAGATTCTTCGACTAT
503	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
504	ACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
505	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
506	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
507	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAIKWGGGSHGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHKGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
508	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
509	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAIKWGGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGKDGRFFDYWGQGTLVTVSS
510	SYGMH
511	AIKWGGGSTGYADSVKG
512	GHHSGKDGRFFDY
513	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
514	TGSSSNIGAGYNVH
515	TNNRRPS
516	AAWDASLSGWV
517	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATTAAGT GGGGCGGAGGCTCTACAGGCTACGCCGATTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACTCTGGCAAGG ACGGCAGATTCTTCGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
518	AGCTATGGCATGCAC
519	GCCATTAAGTGGGGCGGAGGCTCTACAGGCTACGCCGATTCTGTGAAGGGC
520	GGCCACCACTCTGGCAAGGACGGCAGATTCTTCGACTAT
521	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG

	ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
522	ACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
523	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
524	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
525	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAIKWGGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGKDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
526	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
527	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSAWMSWVRQAPGKGLEWVSGISWSGGSTGYALSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARTYSGHYGPFFDYWGQGTLVTVSS
528	SAWMS
529	GISWSGGSTGYALSVKG
530	TYSGHYGPFFDY
531	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSHTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVL
532	SGSSSNIGSHTVN
533	RNNQRPS
534	AAWDDSLNGWV
535	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACATTTTCTAGCGCCTGGATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCCTGGAAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTCTT GGAGCGGCGGCTCTACAGGATATGCCCTGTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAACATACAGCGGCCACTACGG CCCTTTCTTCGACTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTCACAGTCTCTTCA
536	AGCGCCTGGATGAGC
537	GGCATCTCTTGGAGCGGCGGCTCTACAGGATATGCCCTGTCTGTGAAGGGC
538	ACATACAGCGGCCACTACGGCCCTTTCTTCGACTAT
539	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGC TCCAACATCGGAAGTCATACTGTAAACTGGTATCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTATAGGAATAA TCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTC CGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTTGGGTGTTCGGCGGAGGAACCA AGCTGACGGTCCTA
540	TCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTCATACTGTAAAC
541	AGGAATAATCAGCGGCCCTCA
542	GCAGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTTGGGTG
543	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSAWMSWVRQAPGKGLEWVSGISWSGGSTGYALSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARTYSGHYGPFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

544	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSHTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
545	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSAWMSWVRQAPGKGLEWVSGISWSGGRTGYALSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARTYSGHYGPYFDYWGQGTLVTVSS
546	SAWMS
547	GISWSGGRTGYALSVKG
548	TYSGHYGPYFDY
549	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSHTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVL
550	SGSSSNIGSHTVN
551	RNNQRPS
552	AAWDDSLNGWV
553	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACATTTTCTAGCGCCTGGATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCCTGGAAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTCTT GGAGCGGCGGCAGAACAGGATATGCCCTGTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAACATACAGCGGCCACTACGG CCCCTACTTCGATTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTCACCGTTTCTTCA
554	AGCGCCTGGATGAGC
555	GGCATCTCTTGGAGCGGCGGCAGAACAGGATATGCCCTGTCTGTGAAGGGC
556	ACATACAGCGGCCACTACGGCCCCTACTTCGATTAT
557	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGC TCCAACATCGGAAGTCATACTGTAAACTGGTATCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTATAGGAATAA TCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTC CGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTTGGGTGTTCGGCGGAGGAACCA AGCTGACGGTCCTA
558	TCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTCATACTGTAAAC
559	AGGAATAATCAGCGGCCCTCA
560	GCAGCATGGGATGACAGCCTGAATGGTTGGGTG
561	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSAWMSWVRQAPGKGLEWVSGISWSGGRTGYALSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARTYSGHYGPYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
562	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSHTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
563	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIRWNNGSKGYAGSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARSGNYYYGYHGMDVWGQGTLVTVSS
564	SYAMS
565	GIRWNNGSKGYAGSVKG
566	SGNYYYGYHGMDV
567	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGGNSNIGTYFVSWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCETWDSNTRVFGGGTKLTVL
568	SGGNSNIGTYFVS

569	TNNQRPS
570	ETWDSNTRV
571	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCCTGGCAAAGGCCTTGAATGGGTGTCCGGCATCAGAT GGAACAACGGCAGCAAGGGCTATGCCGGCTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAAGCGGCAACTACTACTACGG CTACCACGGCATGGATGTGTGGGGCCAGGGAACACTGGTTACCGTTTCTTCA
572	AGCTACGCCATGAGC
573	GGCATCAGATGGAACAACGGCAGCAAGGGCTATGCCGGCTCTGTGAAGGGC
574	AGCGGCAACTACTACTACGGCTACCACGGCATGGATGTG
575	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTAGCGGCGGCAAC AGCAACATCGGCACCTACTTCGTGTCCTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAACAA CCAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGACT GAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCGAGACATGGGACAGCAACACCAGAGTGTTTGGCGGAGGCACCAAGCT GACAGTGCTA
576	AGCGGCGGCAACAGCAACATCGGCACCTACTTCGTGTCC
577	ACCAACAACCAGCGGCCTAGC
578	GAGACATGGGACAGCAACACCAGAGTG
579	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIRWNNGSKGYAGSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARSGNYYYGYHGMDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
580	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGGNSNIGTYFVSWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCETWDSNTRVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
581	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIRWNNGSKGYAGSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARSGNEYYGYHGMDVWGQGTLVTVSS
582	SYAMS
583	GIRWNNGSKGYAGSVKG
584	SGNEYYGYHGMDV
585	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGGNSNIGTYFVSWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCETWDSNTRVFGGGTKLTVL
586	SGGNSNIGTYFVS
587	TNNQRPS
588	ETWDSNTRV
589	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCCTGGCAAAGGCCTTGAATGGGTGTCCGGCATCAGAT GGAACAACGGCAGCAAGGGCTATGCCGGCTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAAGCGGCAACGAGTACTACG GCTACCACGGCATGGATGTGTGGGGCCAGGGAACACTGGTTACCGTTTCTTCA
590	AGCTACGCCATGAGC
591	GGCATCAGATGGAACAACGGCAGCAAGGGCTATGCCGGCTCTGTGAAGGGC
592	AGCGGCAACGAGTACTACGGCTACCACGGCATGGATGTG
593	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTAGCGGCGGCAAC

	AGCAACATCGGCACCTACTTCGTGTCCTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAACAA CCAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGACT GAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCGAGACATGGGACAGCAACACCAGAGTGTTTGGCGGAGGCACCAAGCT GACAGTGCTA
594	AGCGGCGGCAACAGCAACATCGGCACCTACTTCGTGTCC
595	ACCAACAACCAGCGGCCTAGC
596	GAGACATGGGACAGCAACACCAGAGTG
597	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIRWNNGSKGYAGSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARSGNEYYGYHGMDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
598	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGGNSNIGTYFVSWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEAD YYCETWDSNTRVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQS NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
599	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
600	SYGMH
601	AINWNGGSTGYADSVKG
602	GHHSGYDGRFFDY
603	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
604	TGSSSNIGAGYNVH
605	TNNRRPS
606	AAWDASLSGWV
607	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
608	AGCTATGGCATGCAC
609	GCCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
610	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
611	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
612	ACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
613	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
614	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
615	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA

	LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
616	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
617	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
618	SYGMH
619	AINWNGGSTGYADSVKG
620	GHHSGYDGRFFDY
621	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
622	TGSSSNIGAGYNVH
623	TNNRRPS
624	AAWDASLSGWV
625	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGAGGATTGGTTCAGCCTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCTTCCGGC TTCACCTTCTCCAGCTACGGAATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGATTGGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAACGGCGGCTCTACCGGCTACGCCGATTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACTCCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCTAGAGGCCACCACTCTGGCTACGA CGGCAGATTCTTCGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
626	AGCTACGGAATGCAC
627	GCCATCAACTGGAACGGCGGCTCTACCGGCTACGCCGATTCTGTGAAGGGC
628	GGCCACCACTCTGGCTACGACGGCAGATTCTTCGACTAT
629	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
630	ACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
631	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
632	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
633	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
634	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
660	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
661	SYGMH
662	GINWNGGSTGYADSVKG
663	GHHSGYDGRFFDY
664	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA

	DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
665	TGSSSNIGAGYNVH
666	TNNRRPS
667	AAWDASLSGWV
668	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
669	AGCTATGGCATGCAC
670	GGCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
671	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
672	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
673	ACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
674	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
675	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
676	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
677	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
678	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA

	GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGCAAG
679	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
680	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
681	SYGMH
682	AINWNGGSTGYADSVKG
683	GHHSGYDGRFFDY
684	QSVLTQPPSASGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
685	TGSSSNIGAGYNVH
686	TNNRRPS
687	AAWDASLSGWV
688	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
689	AGCTATGGCATGCAC
690	GCCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
691	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
692	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGCTAGCGGAGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
693	ACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
694	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
695	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
696	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
697	QSVLTQPPSASGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
698	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC

	TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGCAAG
699	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGCTAGCGGAGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
700	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
701	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG

10

20

30

40

50

	ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
702	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
703	HYGMH
704	GINWNGGSTGYADSVKG
705	GHHSGYDGRFFDY
706	QSVLTQPPSVSGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
707	TGSSSNIGAGYNVH
708	TNNRRPS
709	AAWDASLSGWV
710	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
711	CACTATGGCATGCAC
712	GGCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
713	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
714	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCCGTGTCTGGCACACCTGGCCAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCTCTAAGAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGA CTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGGC ACCAAACTGACAGTGCTA
715	ACCGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
716	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
717	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
718	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
719	QSVLTQPPSVSGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
720	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC

	CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
721	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCCGTGTCTGGCACACCTGGCCAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCTCTAAGAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGA CTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGGC ACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCAG GCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAGCT CTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCTGA GCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAAGA CAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
722	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
723	HYGMH
724	GINWNGGSTGYADSVKG
725	GHHSGYDGRFFDY
726	QSVLTQPPSASGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
727	TGSSSNIGAGYNVH
728	TNNRRPS
729	AAWDASLSGWV
730	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
731	CACTATGGCATGCAC
732	GGCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
733	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
734	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGCTAGCGGAGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
735	ACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC

736	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
737	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
738	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
739	QSVLTQPPSASGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
740	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
741	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGCTAGCGGAGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
742	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
743	HYGMH
744	GINWNGGSTGYADSVKG
745	GHHSGYDGRFFDY
746	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
747	TGSSSNIGAGYNVH

748	TNNRRPS
749	AAWDASLSGWV
750	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
751	CACTATGGCATGCAC
752	GGCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
753	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
754	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
755	ACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
756	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
757	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
758	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
759	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
760	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
761	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT

	CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
762	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
763	SYGMH
764	GINWNGGSTGYADSVKG
765	GHHSGYDGRFFDY
766	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
767	TGSSSNIGAGYNVH
768	TNNRRPS
769	AAWDASLSGWV
770	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
771	AGCTATGGCATGCAC
772	GGCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
773	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
774	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
775	ACCGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
776	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
777	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
778	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
779	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
780	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC

	TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
781	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
782	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
783	HYGMH
784	AINWNGGSTGYADSVKG
785	GHHSGYDGRFFDY
786	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
787	TGSSSNIGAGYNVH
788	TNNRRPS
789	AAWDASLSGWV
790	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
791	CACTATGGCATGCAC
792	GCCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
793	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
794	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG

	CACCAAACTGACAGTGCTA
795	ACCGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
796	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
797	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
798	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
799	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
800	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
801	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
802	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
803	SYGMH
804	AINWNGGSTGYADSVKG
805	GHHSGYDGRFFDY
806	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA

	DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
807	TGSSSNIGAGYNVH
808	TNNRRPS
809	AAWDASLSGWV
810	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
811	AGCTATGGCATGCAC
812	GCCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
813	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
814	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
815	ACCGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
816	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
817	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
818	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
819	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
820	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA

	GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
821	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
822	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
823	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
824	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC

	CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGCAAG
825	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
826	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
827	SYGMH
828	AINWNGGSTGYADSVKG
829	GHHSGYDGRFFDY
830	QSVLTQPPSVSGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
831	TGSSSNIGAGYNVH
832	TNNRRPS
833	AAWDASLSGWV
834	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
835	AGCTATGGCATGCAC
836	GCCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
837	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
838	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCCGTGTCTGGCACACCTGGCCAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCTCTAAGAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGA CTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGGC ACCAAACTGACAGTGCTA
839	ACCGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
840	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
841	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
842	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK

	PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
843	QSVLTQPPSVSGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
844	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
845	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCCGTGTCTGGCACACCTGGCCAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCTCTAAGAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGA CTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGGC ACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCAG GCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAGCT CTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCTGA GCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAAGA CAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
846	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
847	SYGMH
848	AINWNGGSTGYADSVKG
849	GHHSGYDGRFFDY
850	QSVLTQPPSASGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
851	TGSSSNIGAGYNVH
852	TNNRRPS
853	AAWDASLSGWV
854	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC

	TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
855	AGCTATGGCATGCAC
856	GCCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
857	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
858	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGCTAGCGGAGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
859	ACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
860	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
861	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
862	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
863	QSVLTQPPSASGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
864	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
865	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGCTAGCGGAGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG

	CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
866	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
867	SYGMH
868	GINWNGGSTGYADSVKG
869	GHHSGYDGRFFDY
870	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
871	TGSSSNIGAGYNVH
872	TNNRRPS
873	AAWDASLSGWV
874	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
875	AGCTATGGCATGCAC
876	GGCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
877	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
878	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
879	ACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
880	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
881	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
882	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
883	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
884	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA

	AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
885	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
886	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
887	HYGMH
888	AINWNGGSTGYADSVKG
889	GHHSGYDGRFFDY
890	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
891	TGSSSNIGAGYNVH
892	TNNRRPS
893	AAWDASLSGWV
894	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
895	CACTATGGCATGCAC
896	GCCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
897	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
898	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
899	ACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
900	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
901	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
902	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL

	QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
903	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
904	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGC
905	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
906	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
907	HYGMH
908	GINWNGGSTGYADSVKG
909	GHHSGYDGRFFDY
910	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
911	TGSSSNIGAGYNVH
912	TNNRRPS
913	AAWDASLSGWV
914	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC

	TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
915	CACTATGGCATGCAC
916	GGCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
917	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
918	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
919	ACCGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
920	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
921	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
922	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
923	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
924	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGCAAG
925	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG

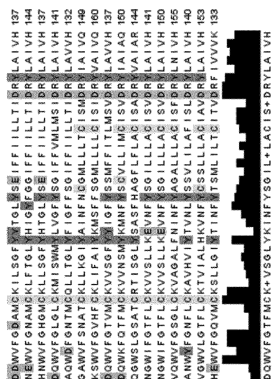
	CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
926	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
927	HYGMH
928	GINWNGGSTGYADSVKG
929	GHHSGYDGRFFDY
930	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
931	TGSSSNIGAGYNVH
932	TNNRRPS
933	AAWDASLSGWV
934	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
935	CACTATGGCATGCAC
936	GGCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
937	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
938	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
939	ACAGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
940	ACCAACAACAGACGGCCCAGC
941	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
942	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
943	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
944	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCCACTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTC CCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAG

	CCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGC CTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTG CCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCC CCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAA CCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGC CCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGCAAG
945	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCATCTGTGTCTGGCGCCCCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACAGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCA GGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAG CTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAA GACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC
946	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSS
947	SYGMH
948	AINWNGGSTGYADSVKG
949	GHHSGYDGRFFDY
950	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA DYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVL
951	TGSSSNIGAGYNVH
952	TNNRRPS
953	AAWDASLSGWV
954	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGC TTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACT GGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCC TGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGA CGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCA
955	AGCTATGGCATGCAC
956	GCCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGC
957	GGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTAT
958	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCT CCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAA CAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGG ACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGG CACCAAACTGACAGTGCTA
959	ACCGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCAC
960	ACCAACAACAGACGGCCCAGC

961	GCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTT
962	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVSAINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGHHSGYDGRFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
963	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQLPGTAPKLLIYTNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDASLSGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
964	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTTCAACCTGGCGGATCTCTGAGACTGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAACTGGAATGGCGGCTCTACAGGCTACGCCGACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGTGCCAGAGGCCACCACAGCGGCTACGACGGCAGATTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTTCTTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTAGCAGCAAGAGCACATCTGGCGGAACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGAGCAGCGTCGTGACAGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCCGAACTGCTGGGAGGCCCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCAAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCTGGCAAG	
965	CAGTCTGTTCTGACACAGCCTCCTAGCGCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCTCCAATATCGGAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCTAAACTGCTGATCTACACCAACAACAGACGGCCCAGCGGCGTGCCCGATAGATTTTCTGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCTATCTCTGGACTGAGATCTGAGGACGAGGCCGACTACTATTGCGCCGCCTGGGATGCTTCTCTGAGCGGATGGGTTTTCGGCGGAGGCACCAAACTGACAGTGCTAGGCCAGCCTAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTCCCTCCAAGCAGCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTATCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAGCTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTGGAAACCACCACCCCTAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGATCCTACAGCTGCCAAGTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAAAGACAGTGGCCCCTACCGAGTGCAGC	

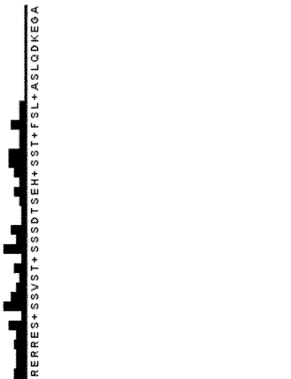
【図面】

【図１－１】

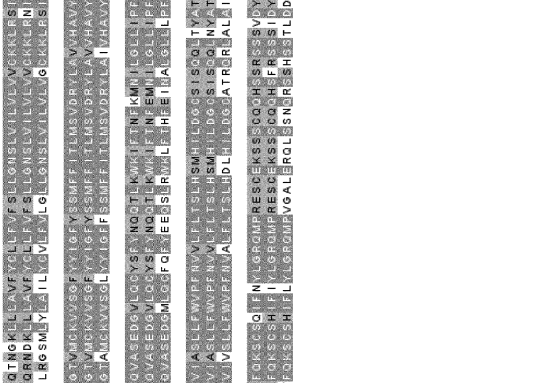


【図１－２】

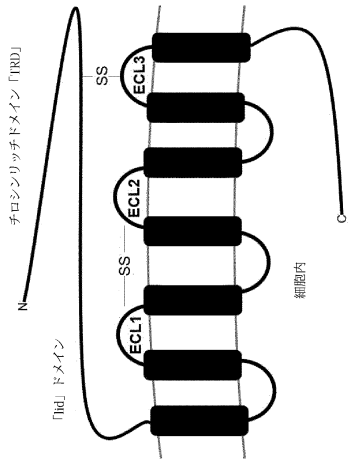
【図１－３】



【図２ａ】



【図２ｂ】


N
チロシンリッチドメイン「TRD」
「hd」ドメイン
SS
ECL1
SS
ECL2
SS
ECL3
細胞内
C

【図３】

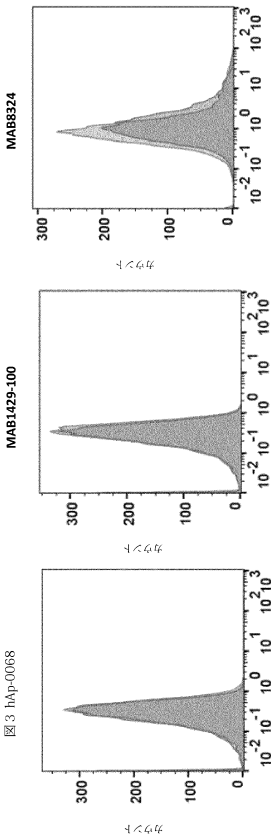
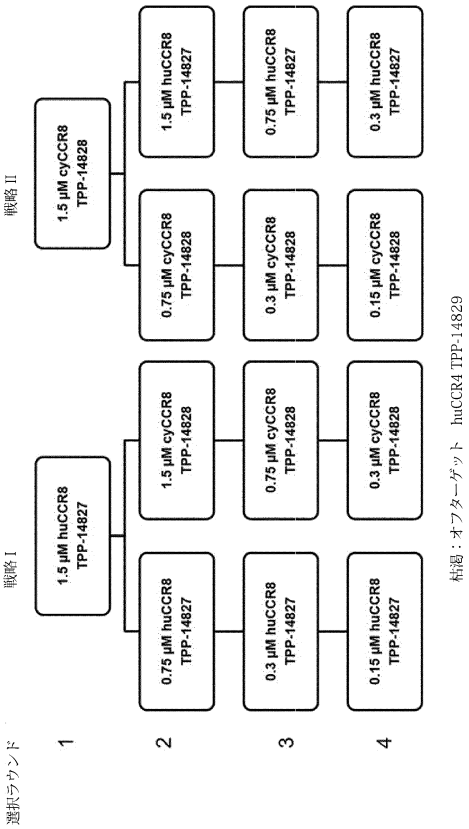
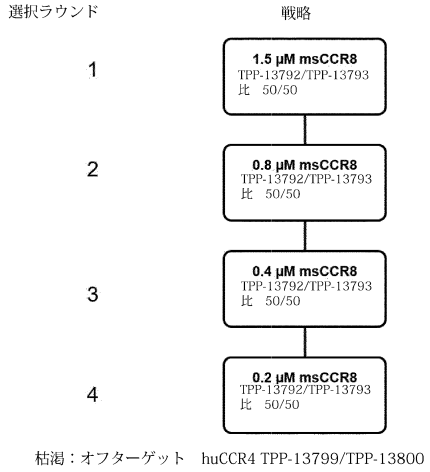


図3 hAp-0068
MAB1429-100
MAB8324
カウント
300
200
100
0

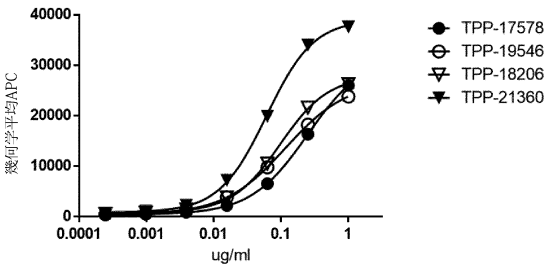
【図４】


選択ラウンド
戦略 I
戦略 II
1
2
3
4
1.5 μM huCCR8 TPP-14827
1.5 μM cyCCR8 TPP-14828
0.75 μM huCCR8 TPP-14827
1.5 μM cyCCR8 TPP-14828
0.75 μM cyCCR8 TPP-14828
1.5 μM huCCR8 TPP-14827
0.75 μM cyCCR8 TPP-14828
0.3 μM huCCR8 TPP-14827
0.3 μM cyCCR8 TPP-14828
0.75 μM huCCR8 TPP-14827
0.3 μM cyCCR8 TPP-14828
0.15 μM huCCR8 TPP-14827
0.15 μM cyCCR8 TPP-14828
0.3 μM huCCR8 TPP-14827
枯渇：オフターゲット huCCR4 TPP-14829

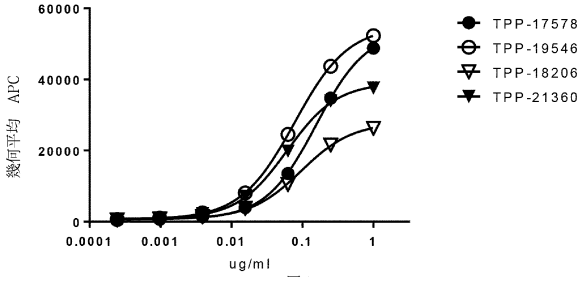
【図５】


選択ラウンド
戦略
1
2
3
4
1.5 μM msCCR8
TPP-13792/TPP-13793
比 50/50
0.8 μM msCCR8
TPP-13792/TPP-13793
比 50/50
0.4 μM msCCR8
TPP-13792/TPP-13793
比 50/50
0.2 μM msCCR8
TPP-13792/TPP-13793
比 50/50
枯渇：オフターゲット huCCR4 TPP-13799/TPP-13800

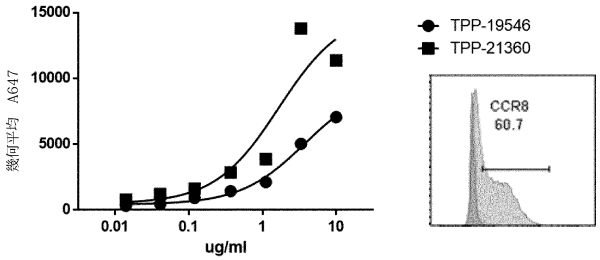
【図６】



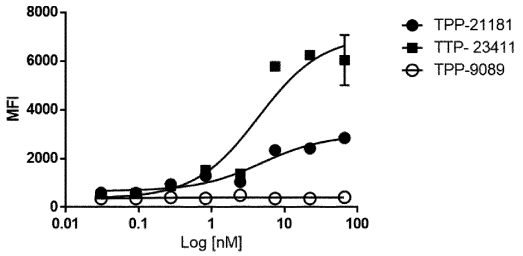
【図７】



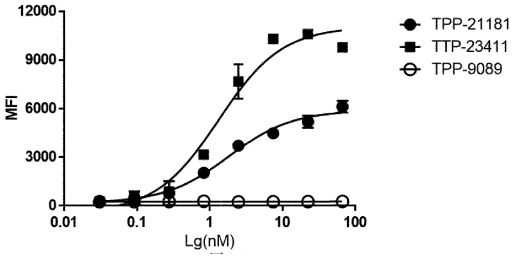
【図８】



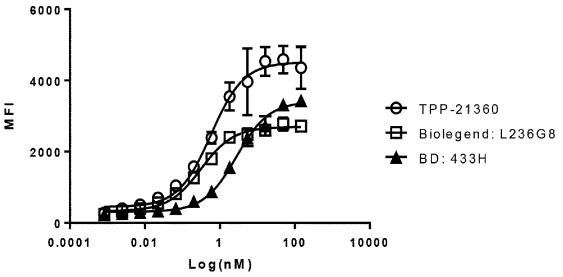
【図９】



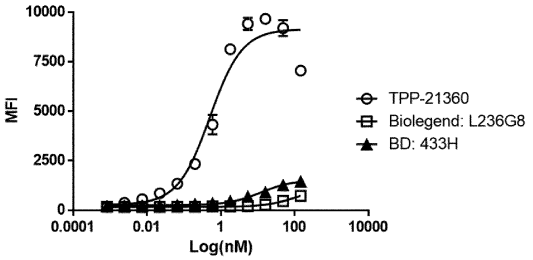
【図１０】



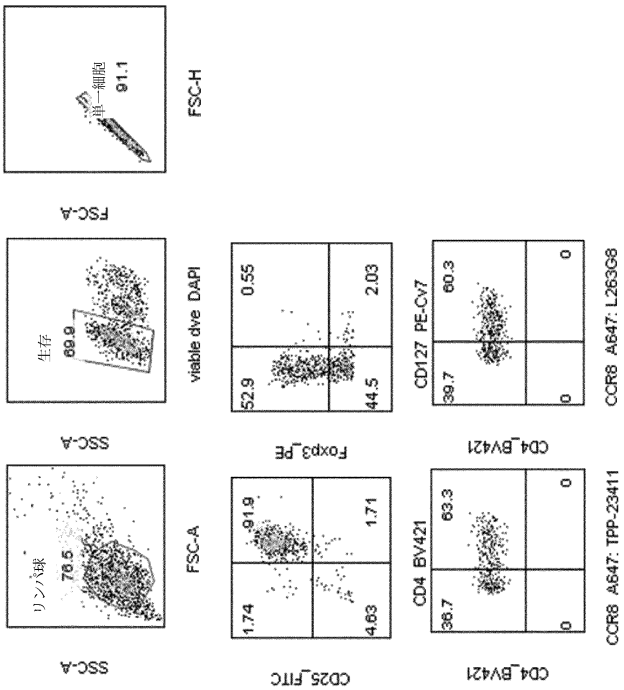
【図１１】



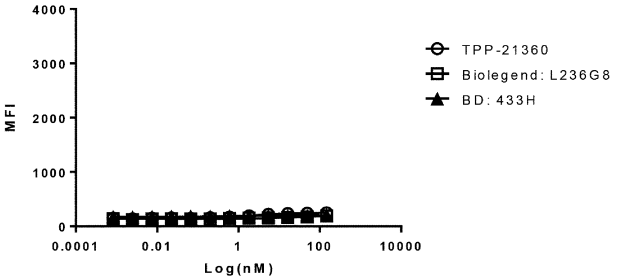
【図１２】



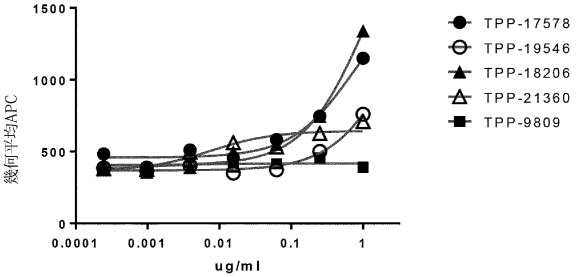
【図１３】



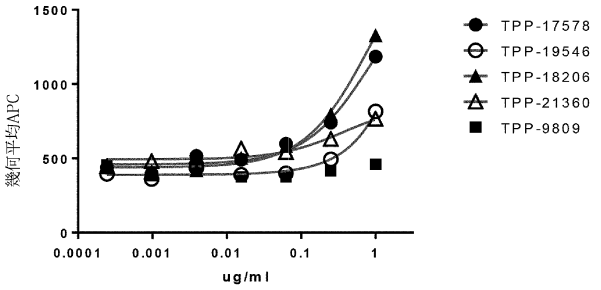
【図１４】



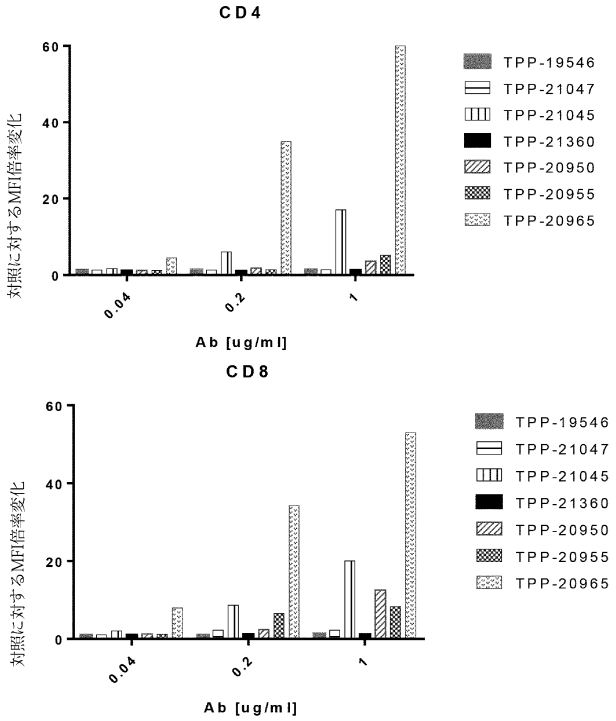
【図１５】



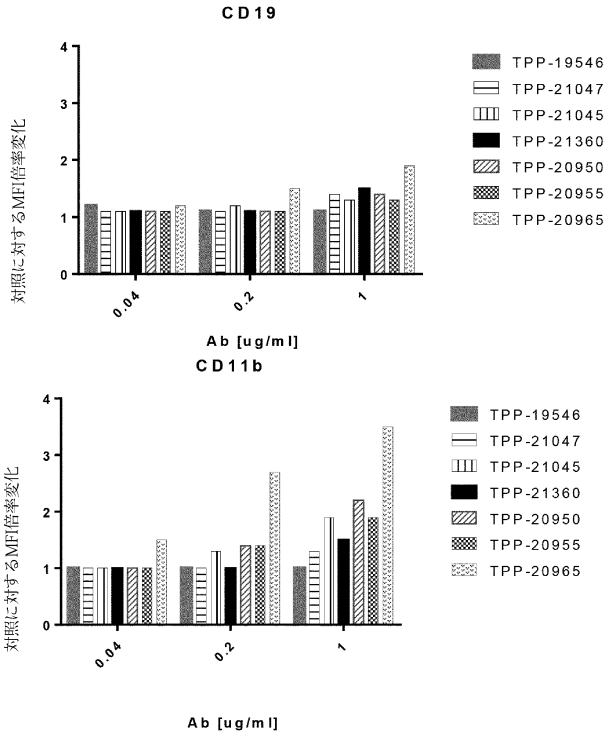
【図１６】



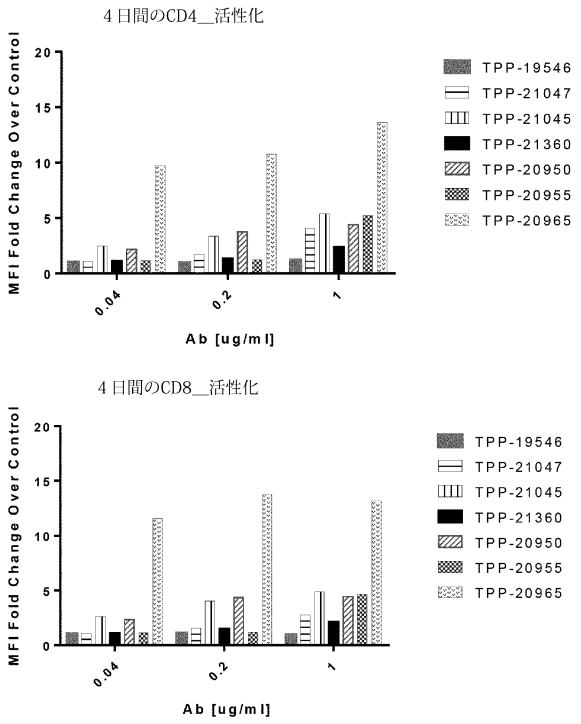
【図１７－１】



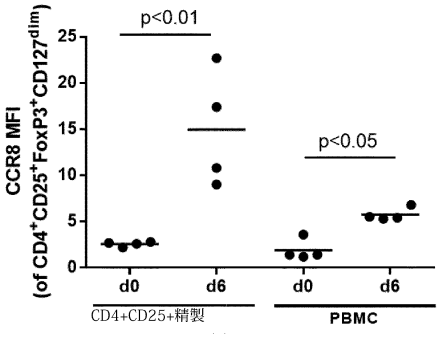
【図１７－２】



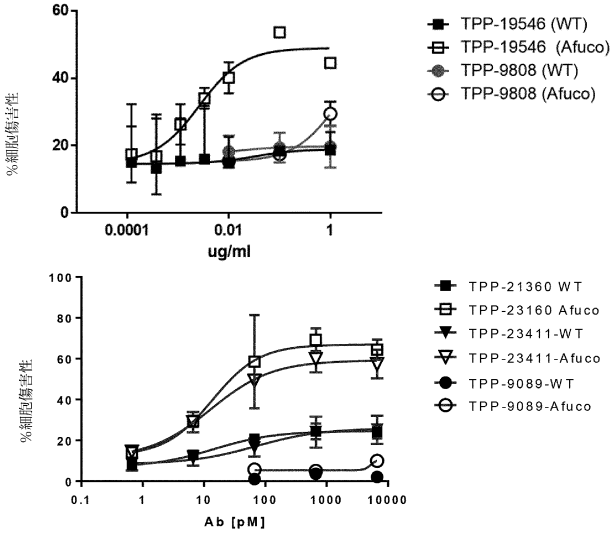
【図１７－３】



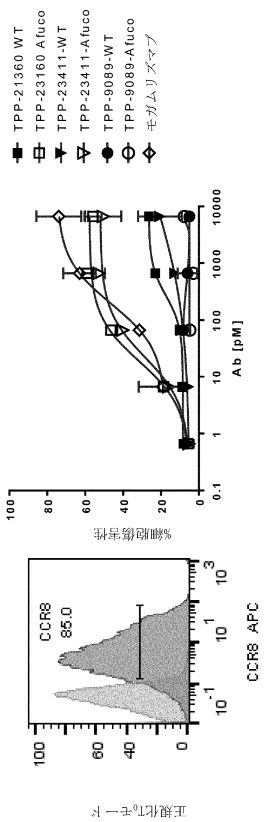
【図１８】



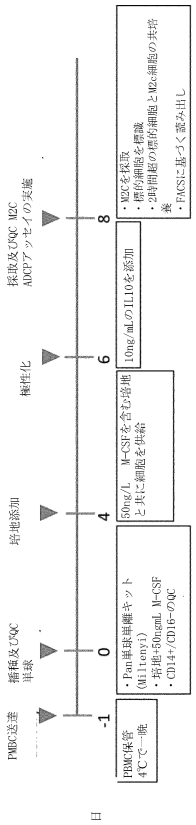
【図１９】



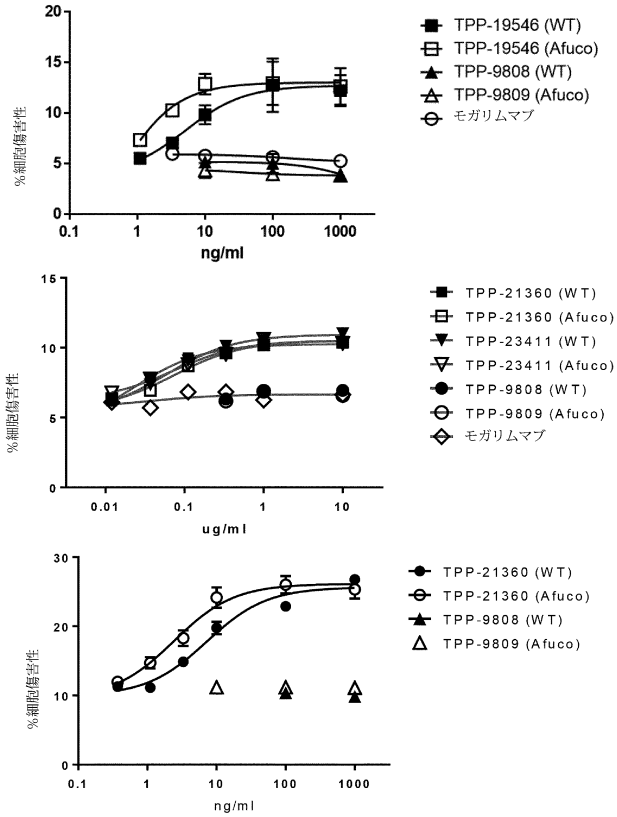
【図２０】



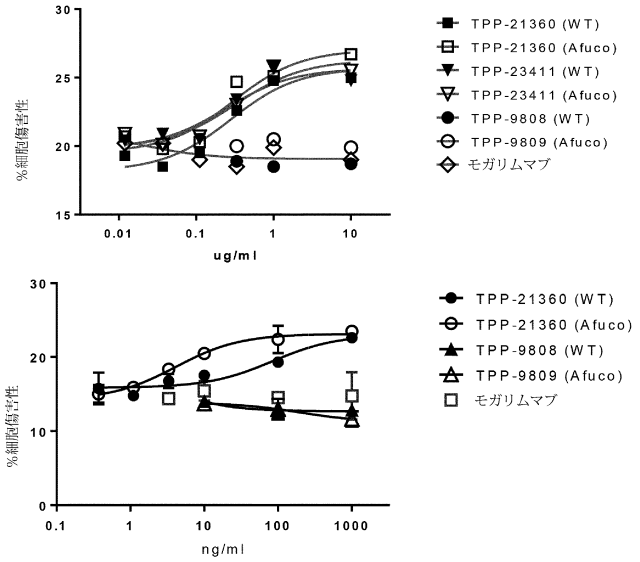
【図２１】



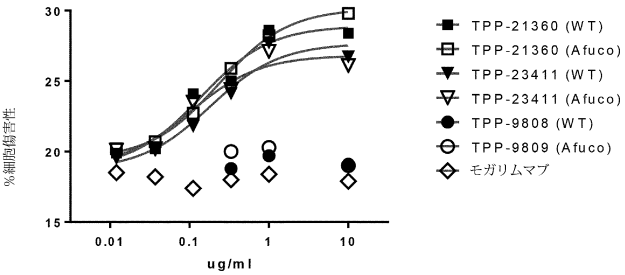
【図２２】



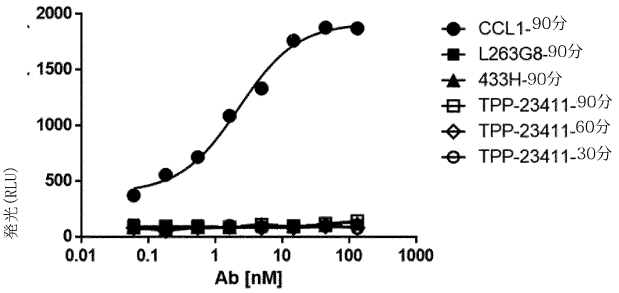
【図２３】



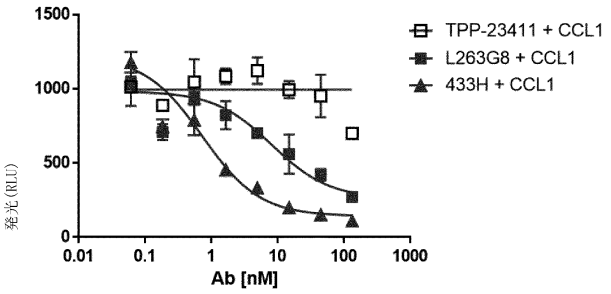
【図２４】



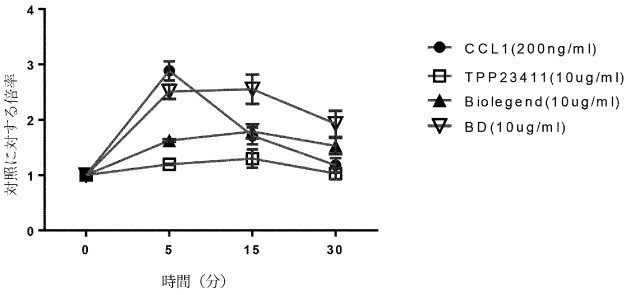
【図２５】



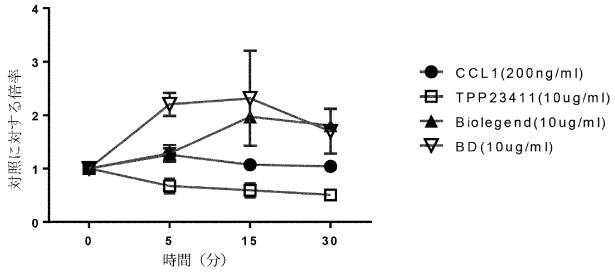
【図２６】



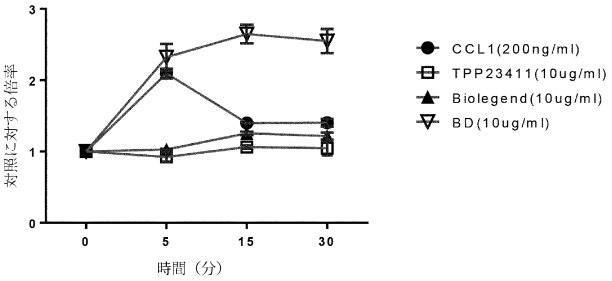
【図２７】



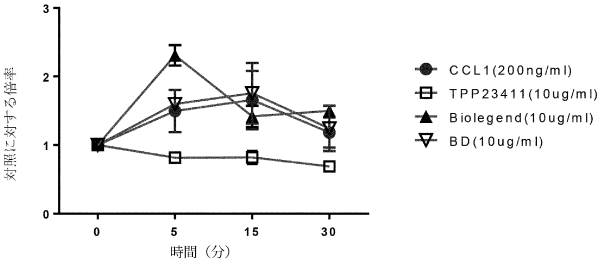
【図２８】



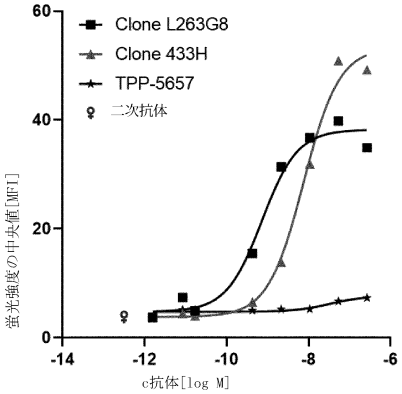
【図２９】



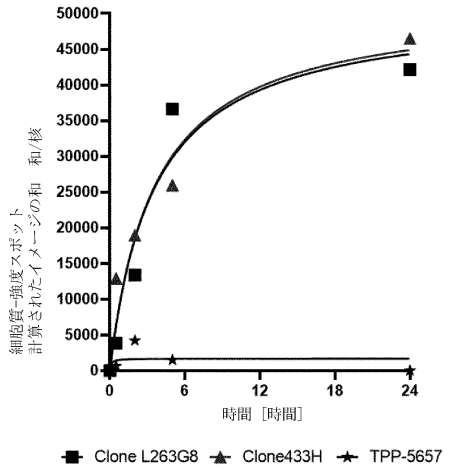
【図３０】



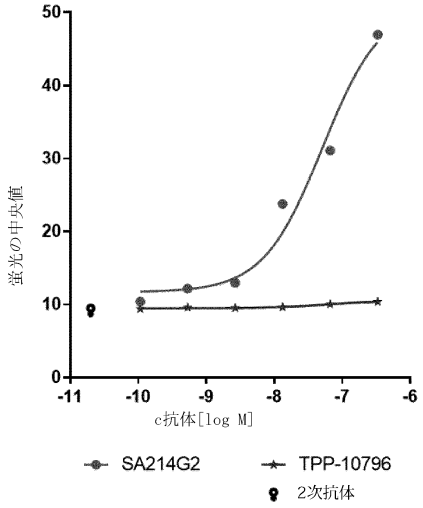
【図３１ａ】



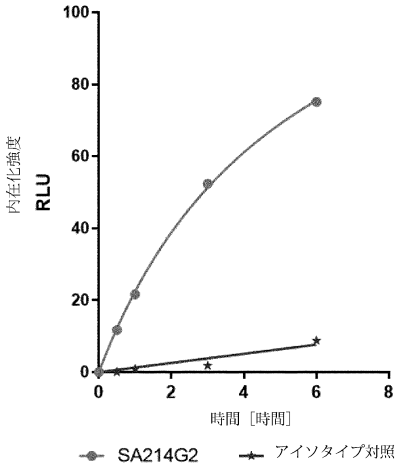
【図３１ｂ】



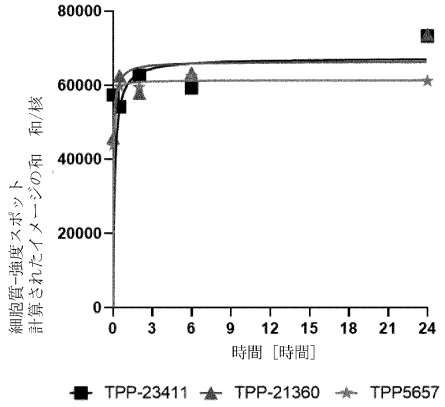
【図３２ａ】



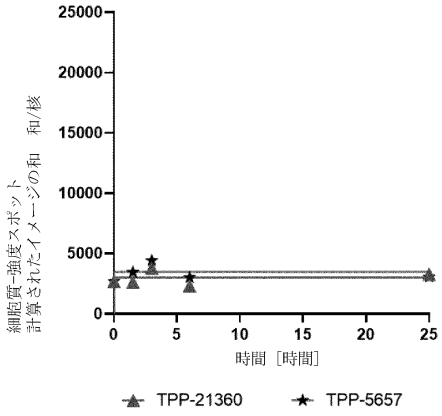
【図３２ｂ】



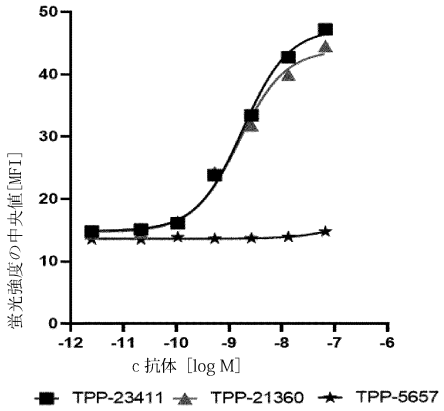
【図３３ａ】



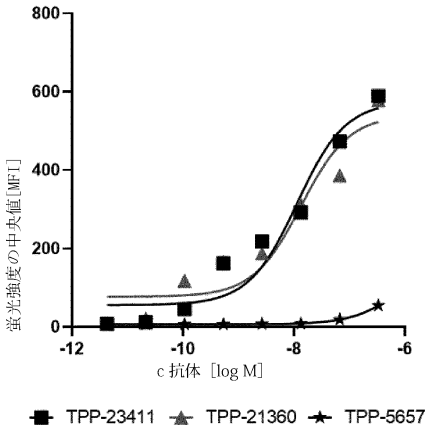
【図３３ｂ】



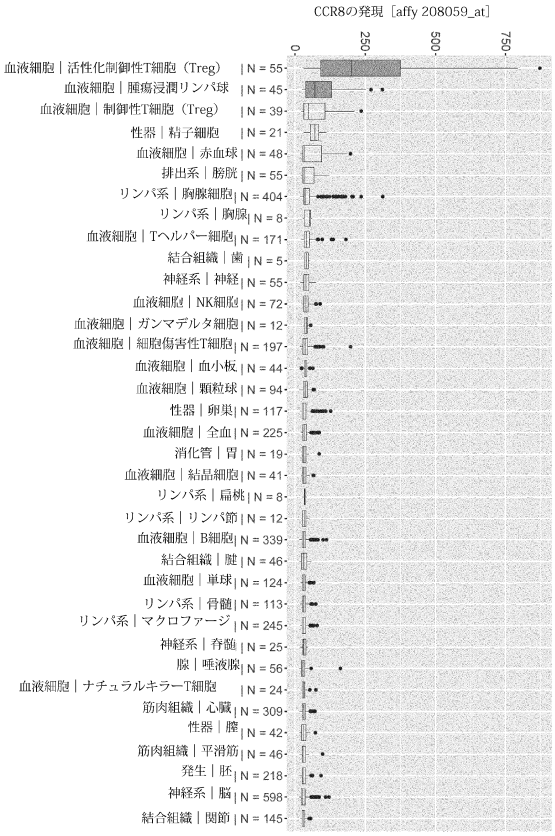
【図３４ａ】



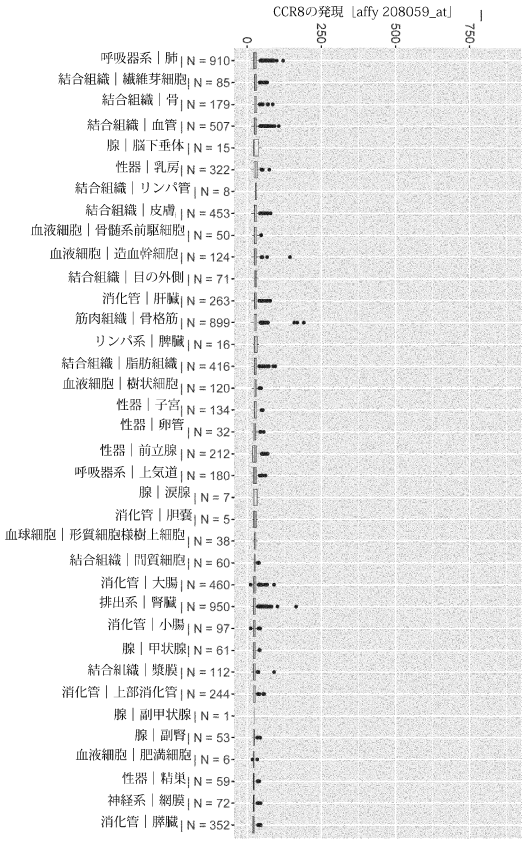
【図３４ｂ】



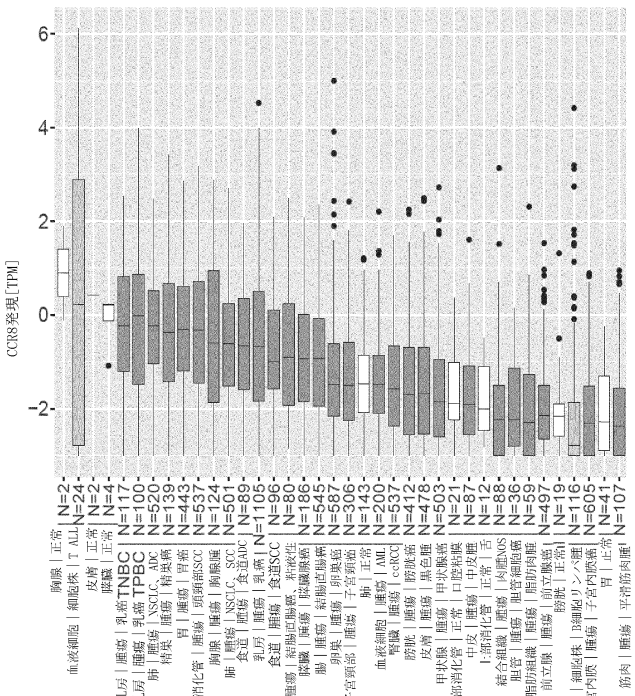
【図３５－１】



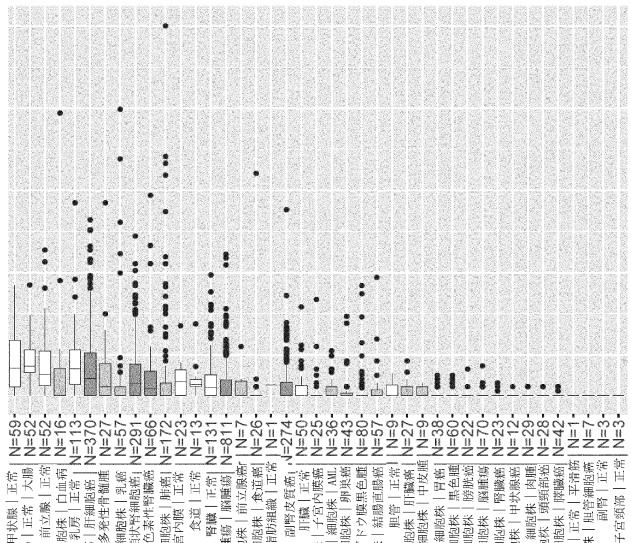
【図３５－２】



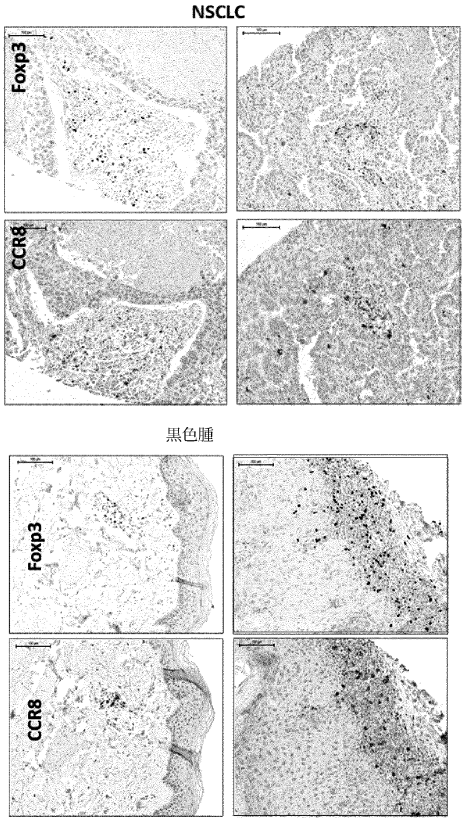
【図３６－１】



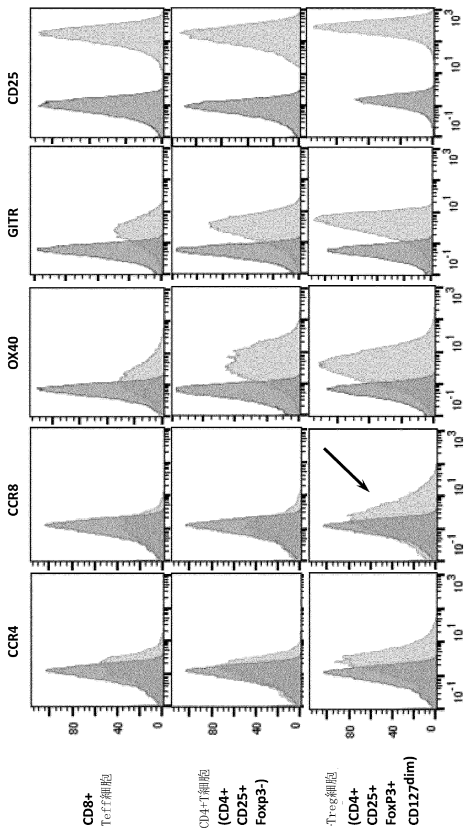
【図３６－２】



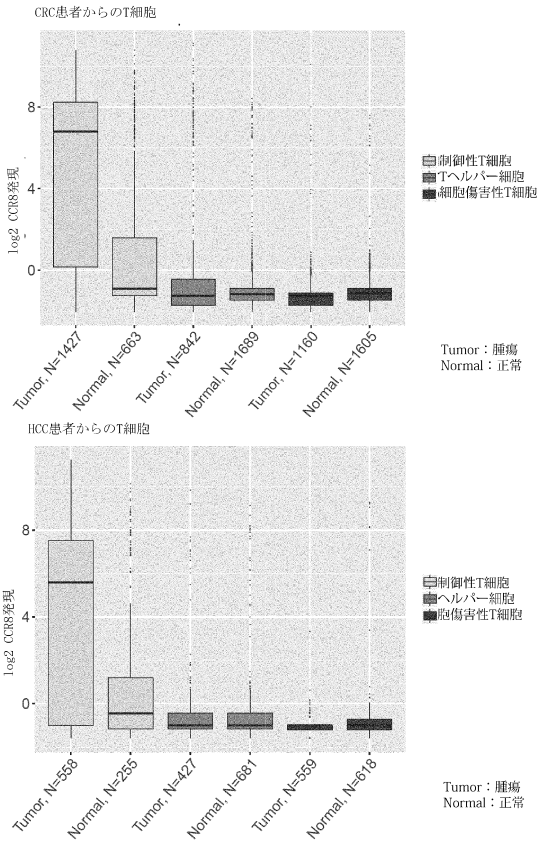
【図３７】



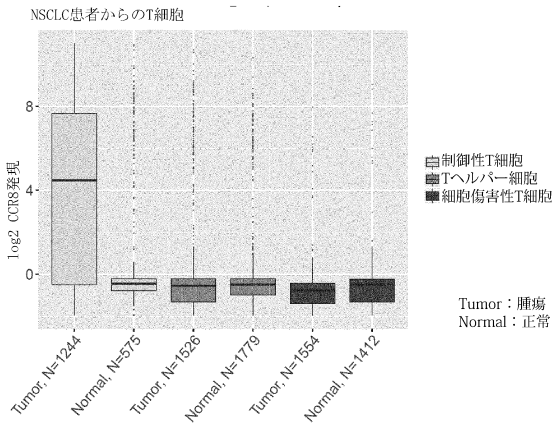
【図３８】



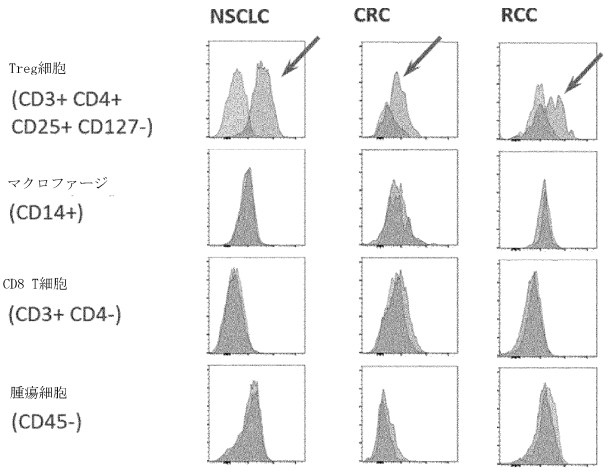
【図３９－１】



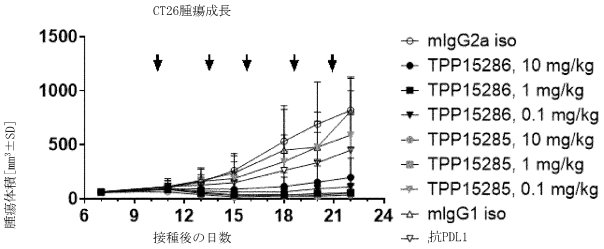
【図３９－２】



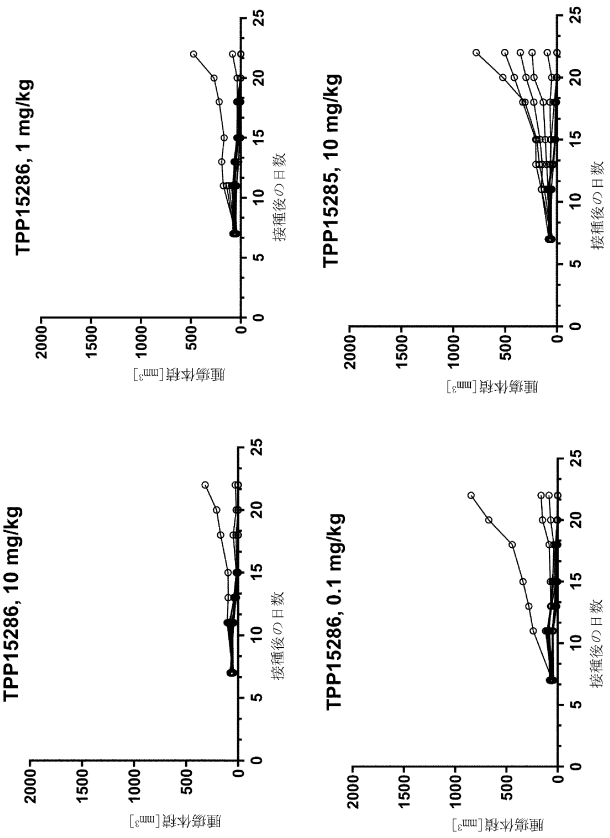
【図４０】



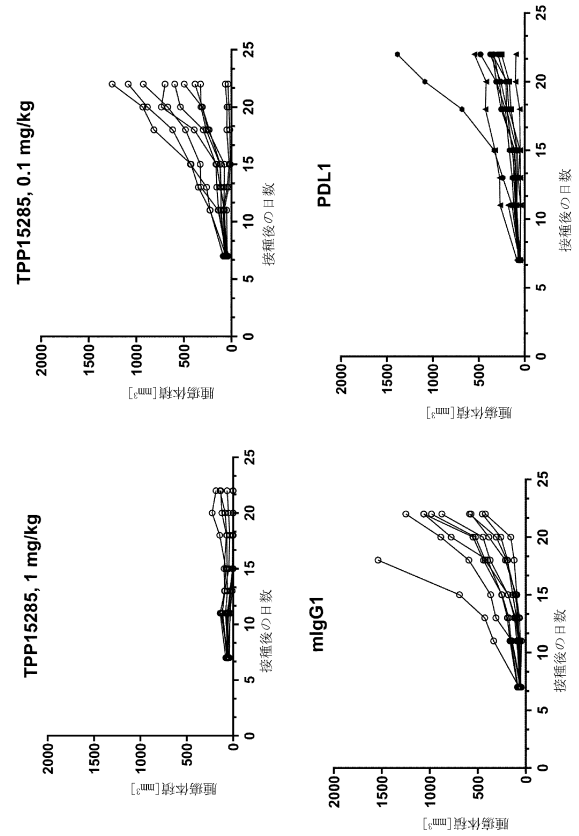
【図４１】



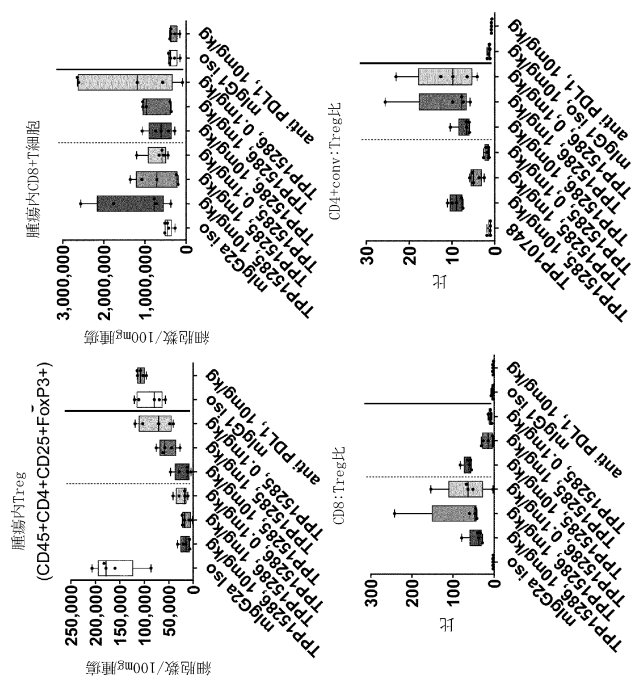
【図４２－１】



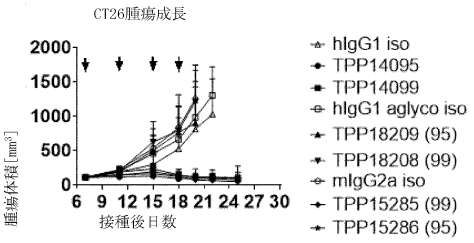
【図４２－２】



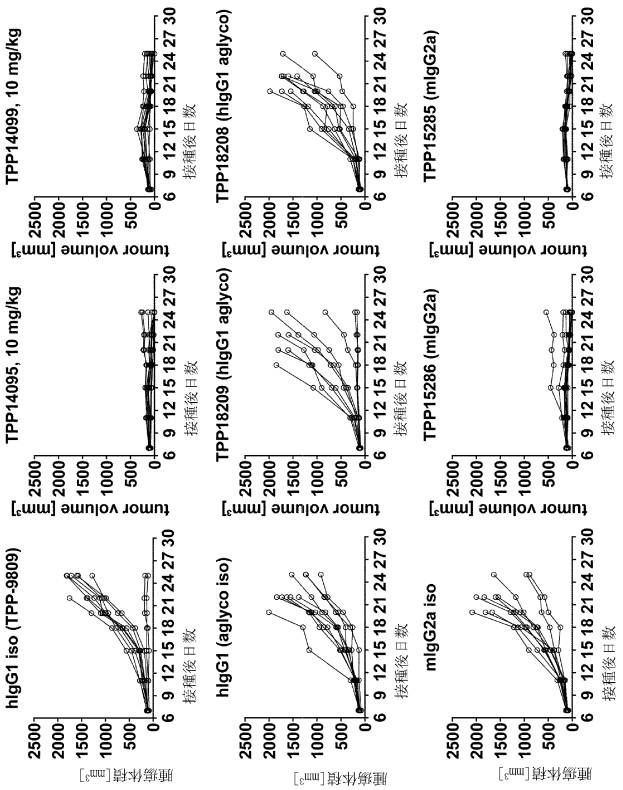
【図４３】



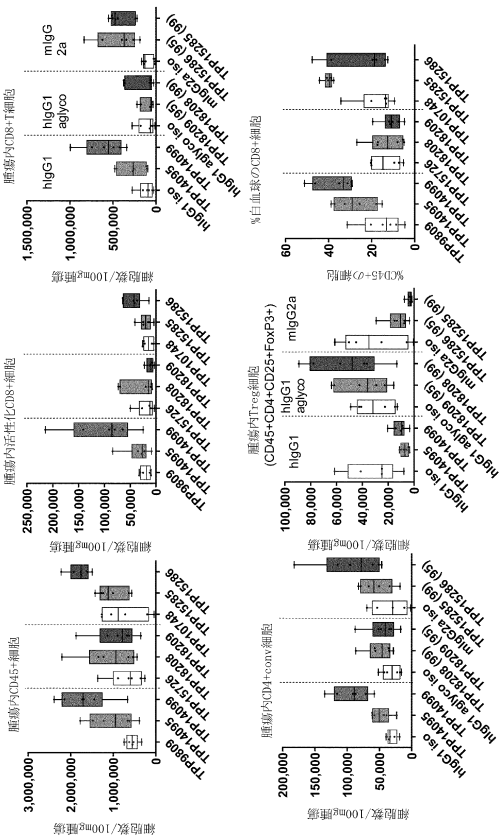
【図４４】



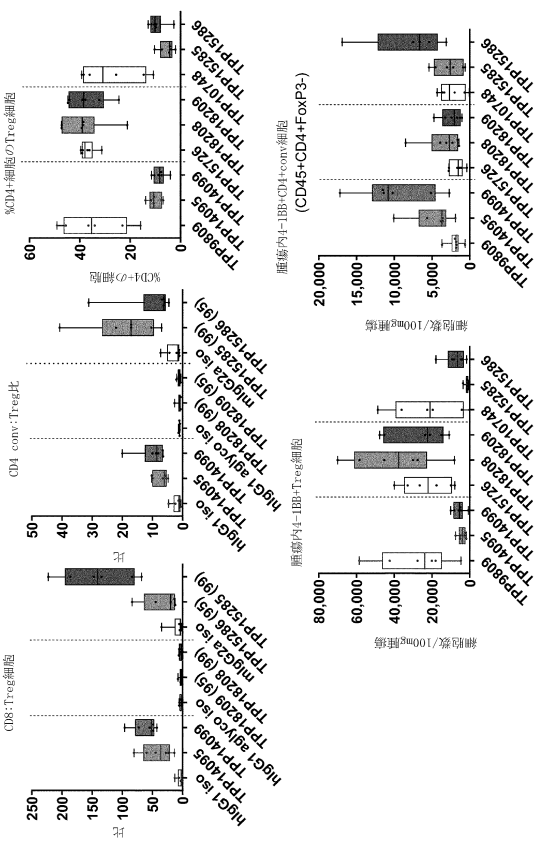
【図４５】



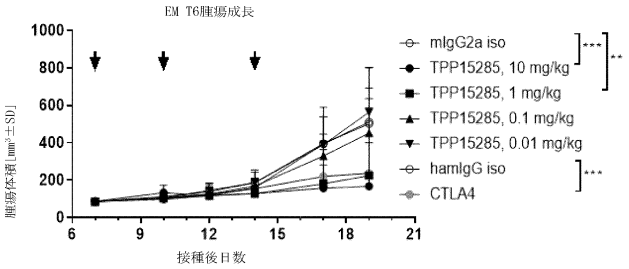
【図４６－１】



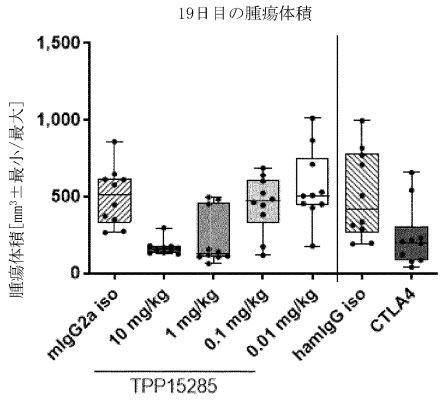
【図４６－２】



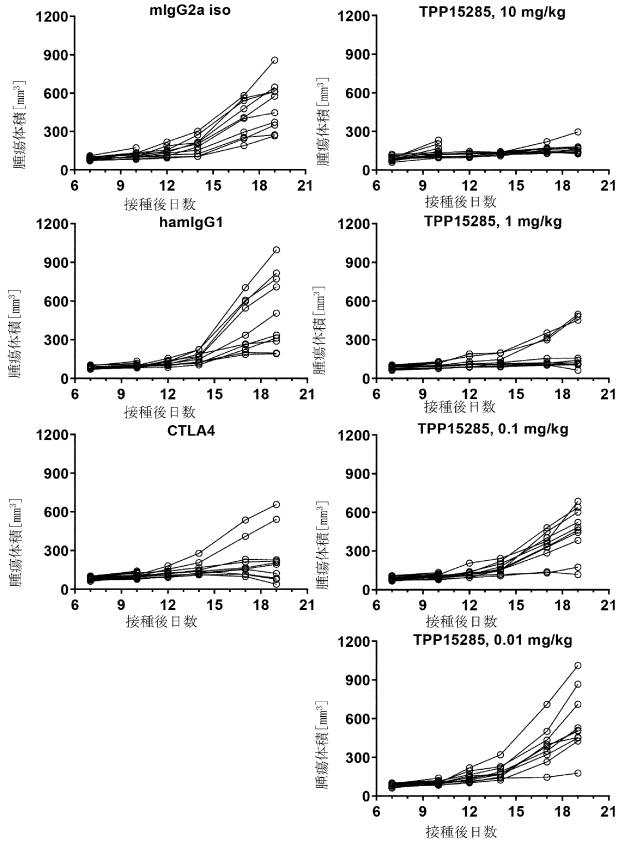
【図４７】



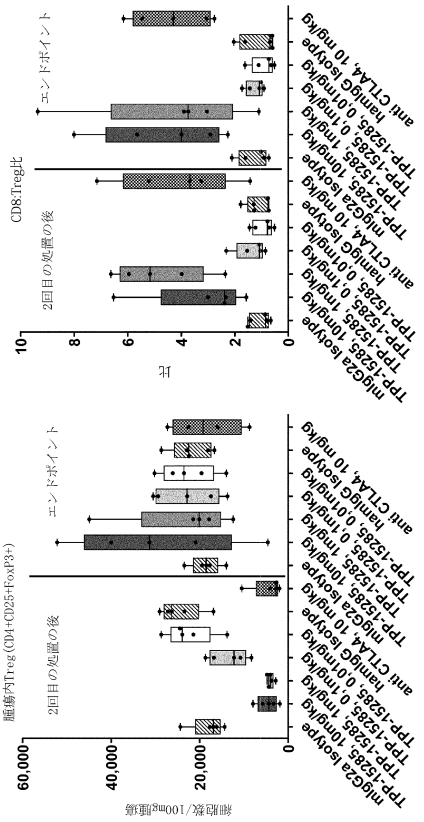
【図４８】



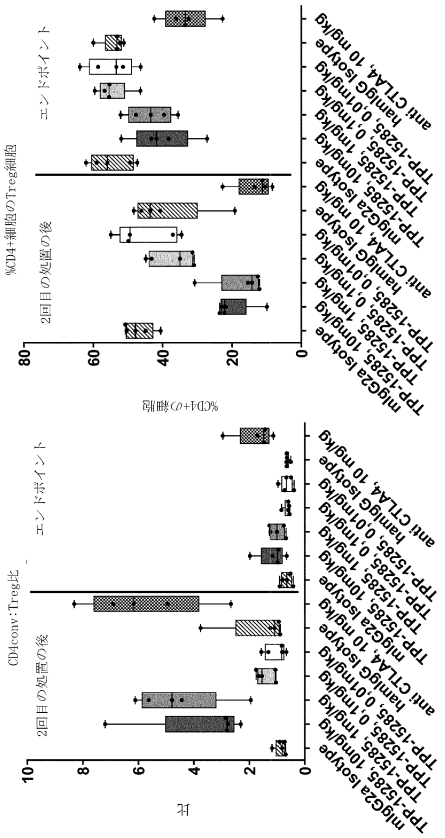
【図４９】



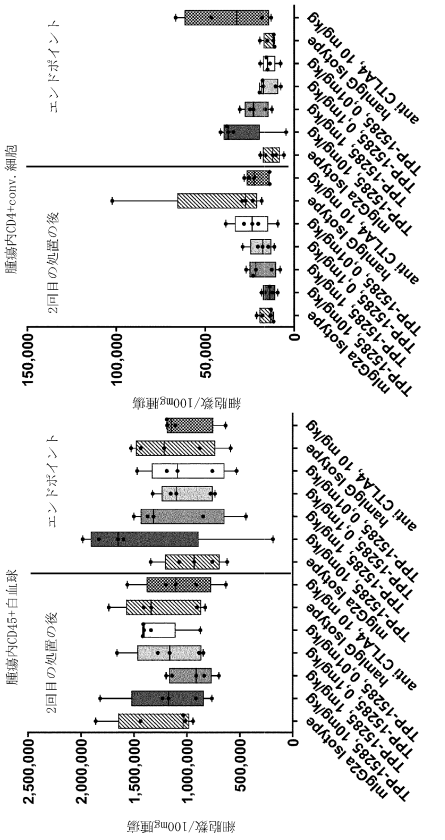
【図５０－１】



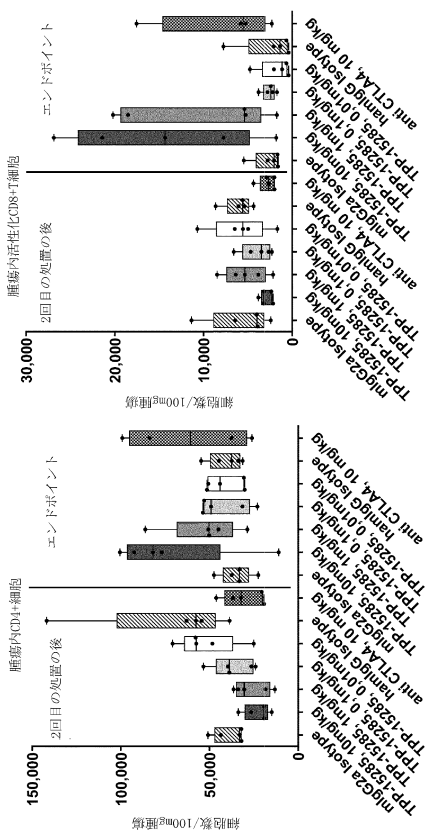
【図５０－２】



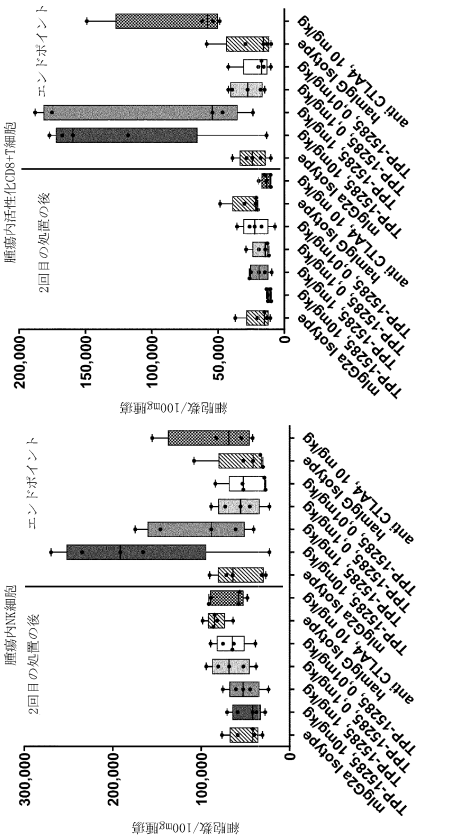
【図５１－１】



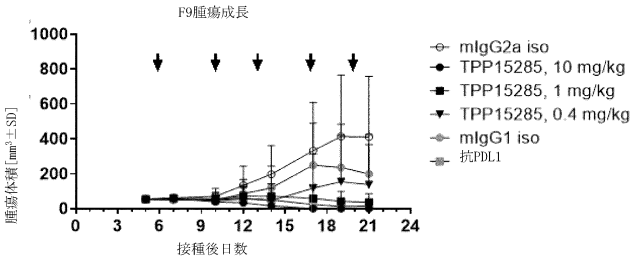
【図５１－２】



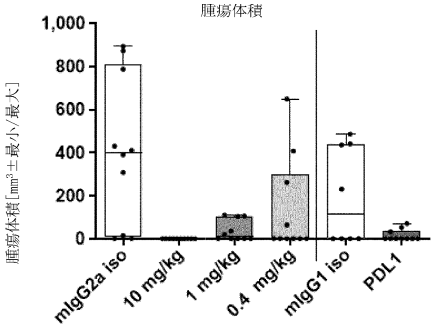
【図５１－３】



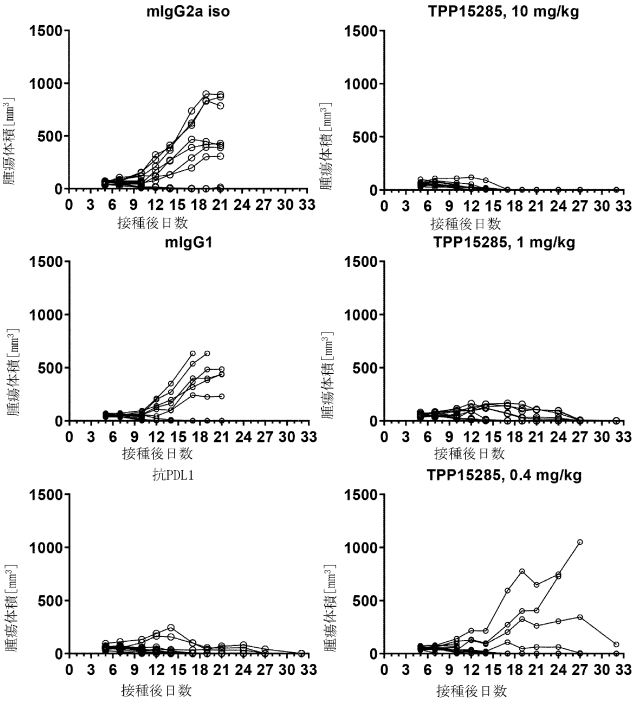
【図５２】



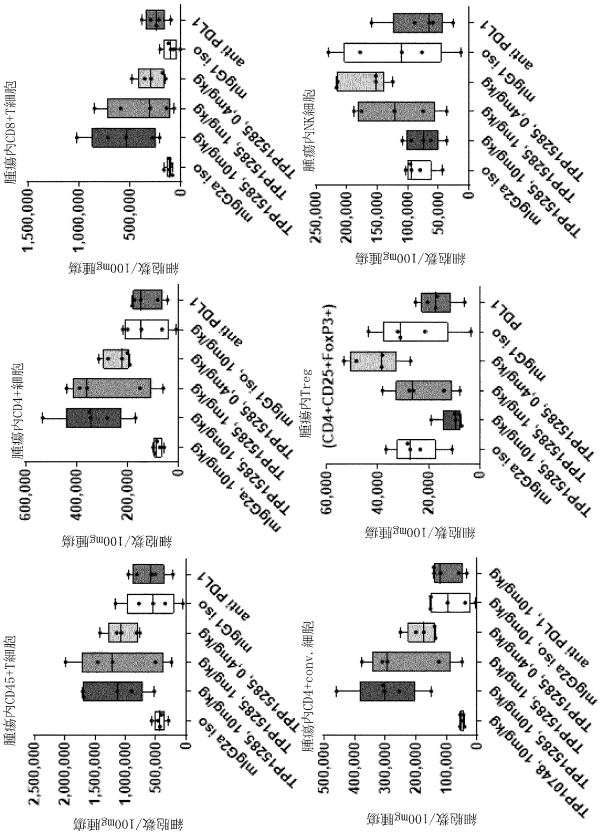
【図５３】



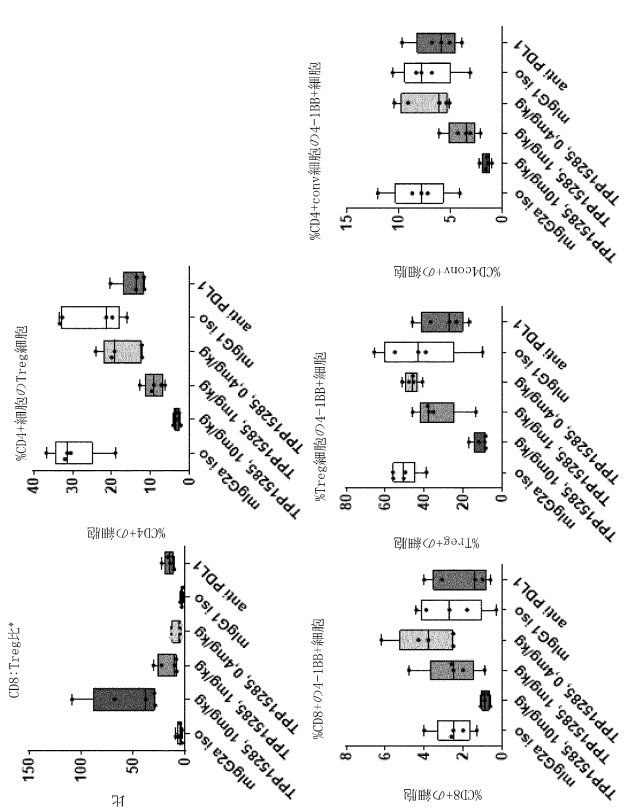
【図５４】



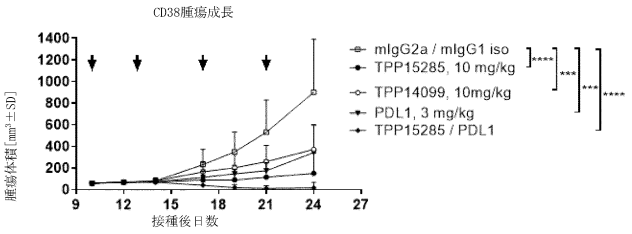
【図５５】



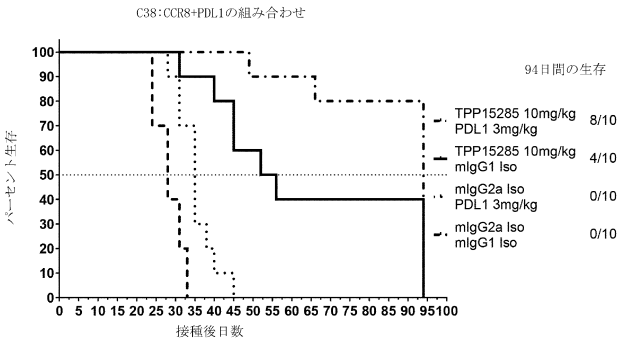
【図５６】



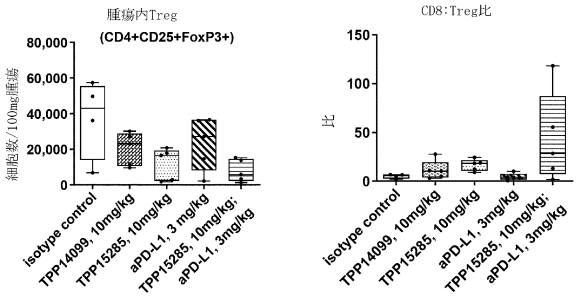
【図５７ａ】



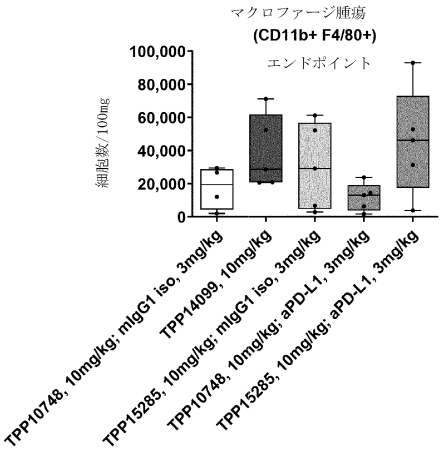
【図５７ｂ】



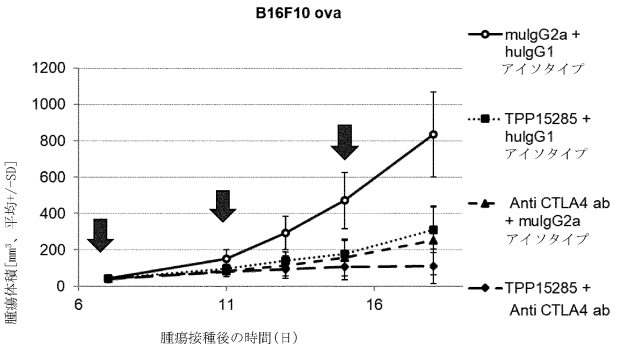
【図５８】



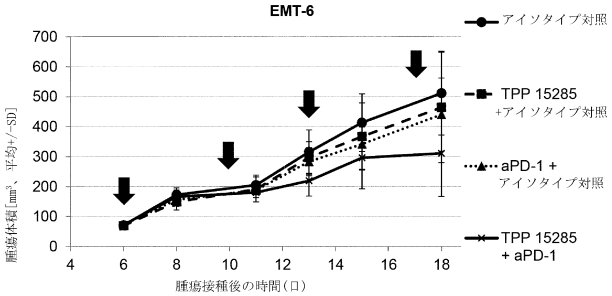
【図５９】



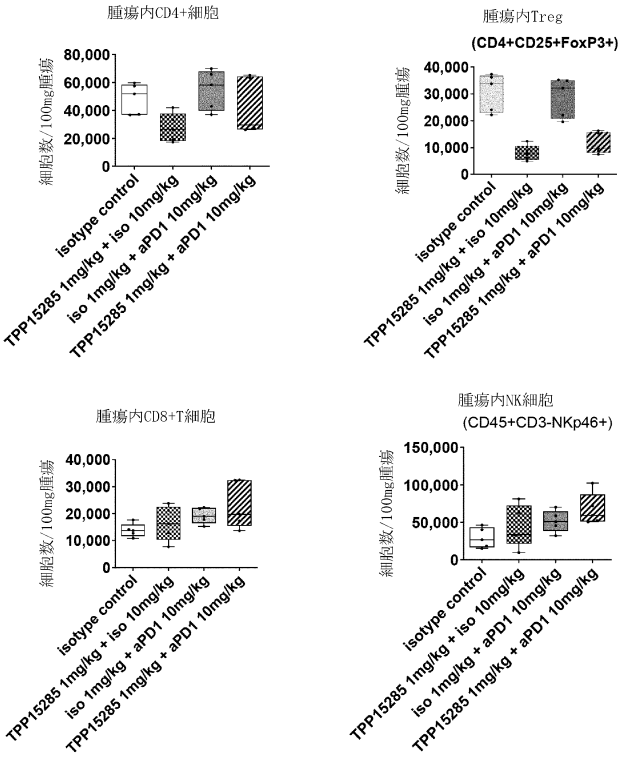
【図６０】



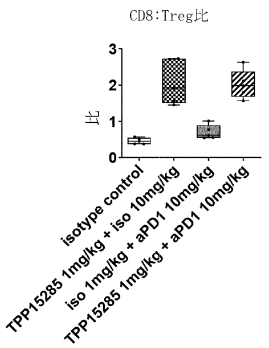
【図６１】



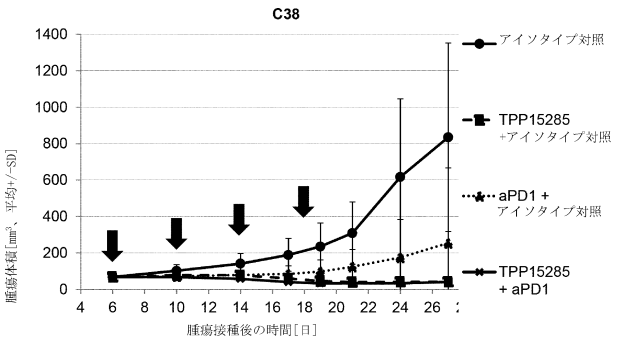
【図６２－１】



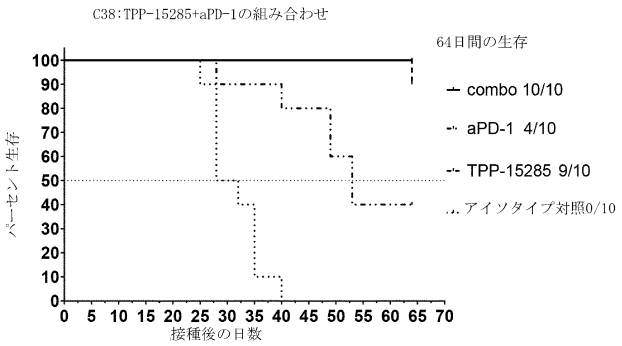
【図６２－２】



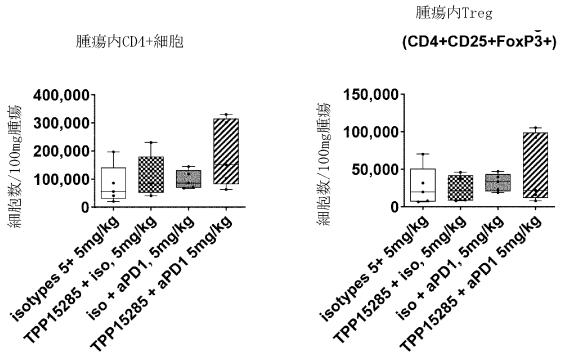
【図６３ａ】



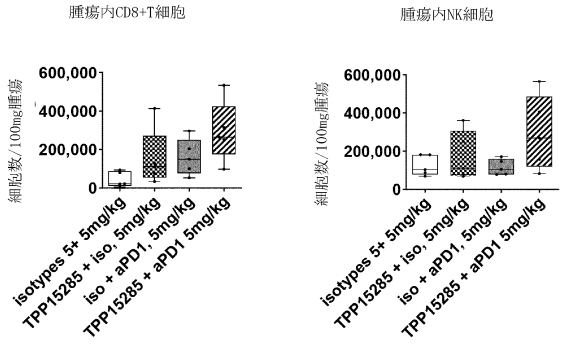
【図６３ｂ】

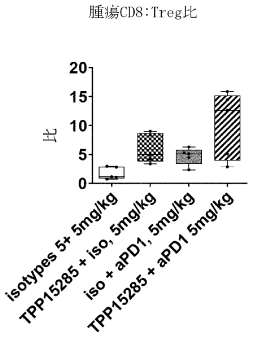


【図６４－１】

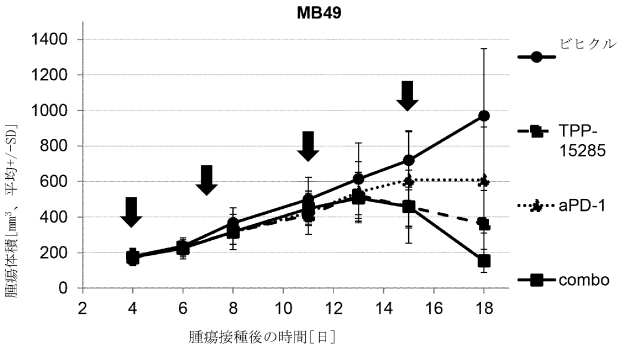


【図６４－２】

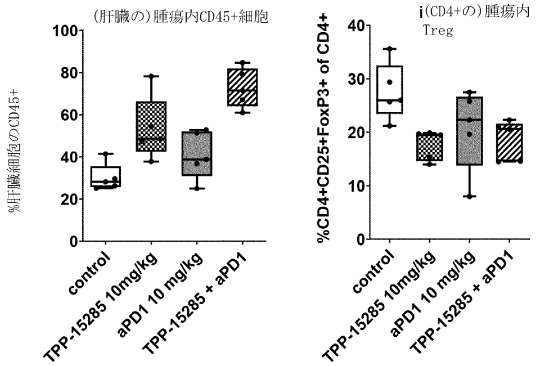




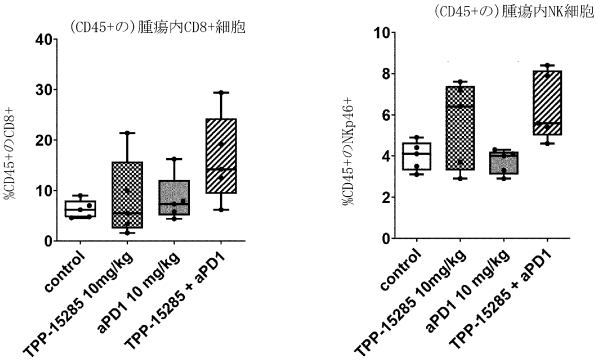
【図６５】

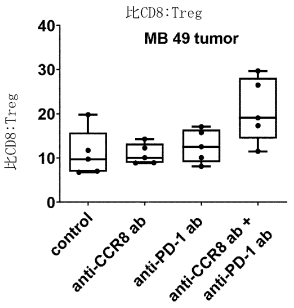


【図６６－１】

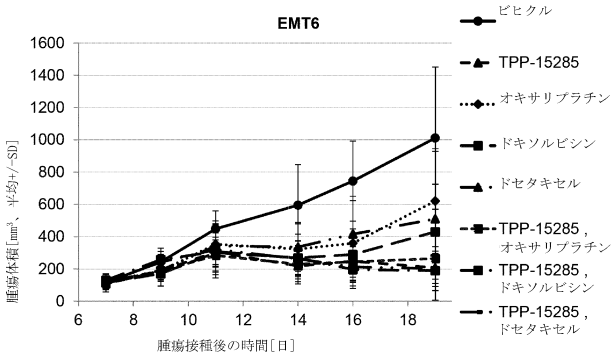


【図６６－２】

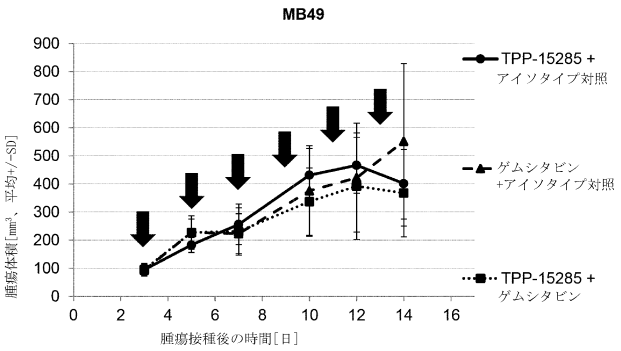




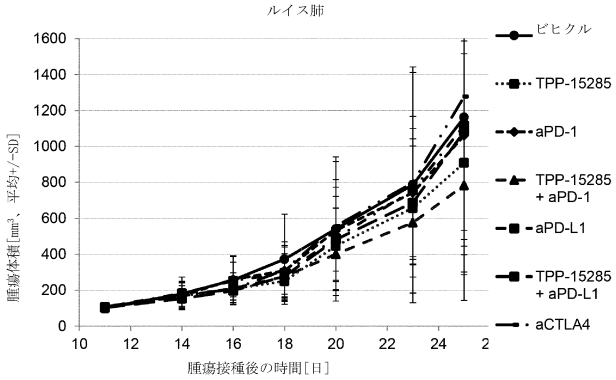
【図６７】



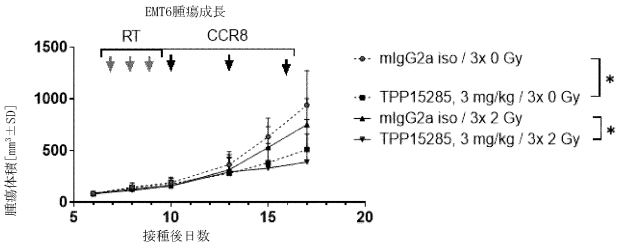
【図６８】



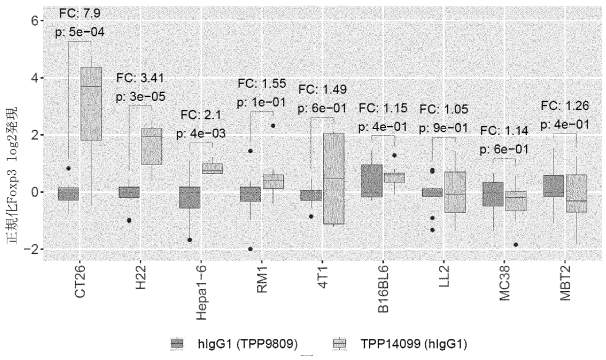
【図６９】



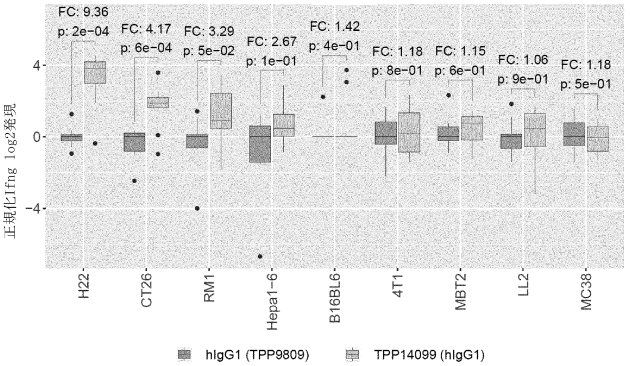
【図７０】



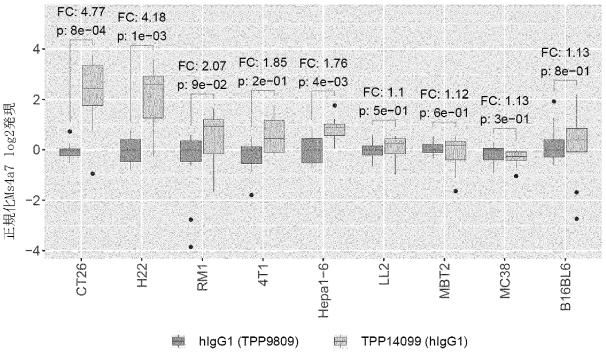
【図７１】



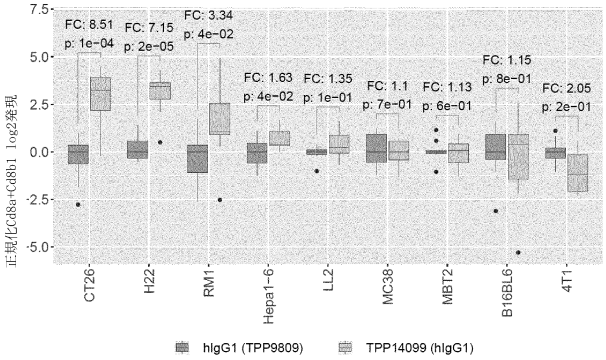
【図７２】



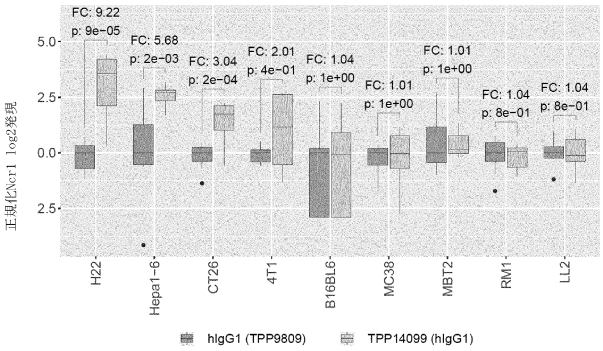
【図７３】



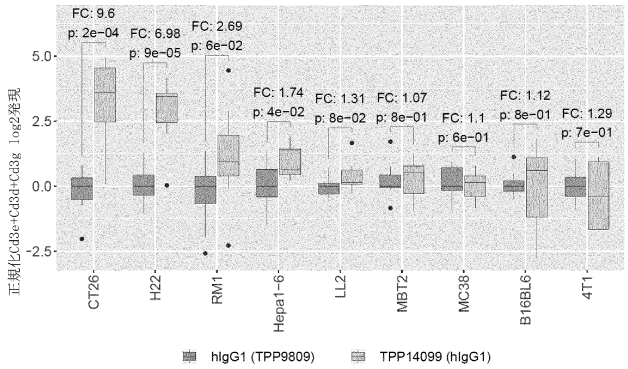
【図７４】



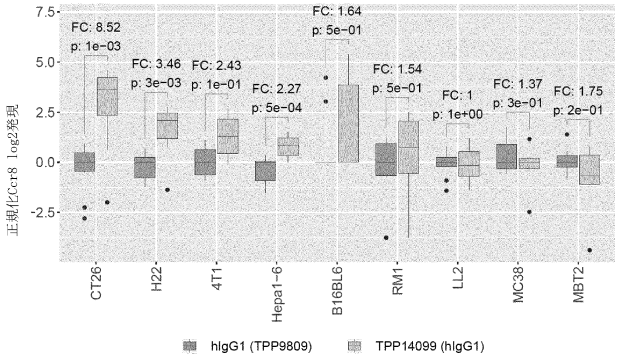
【図７５】



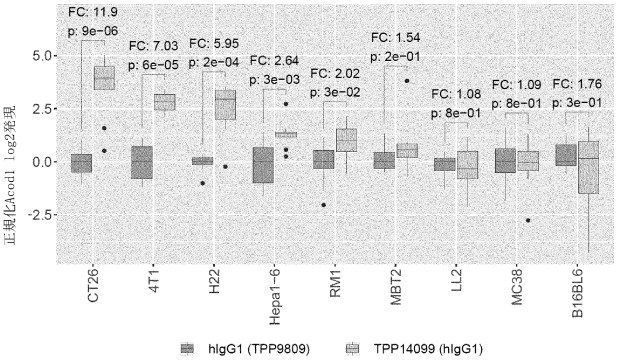
【図７６】



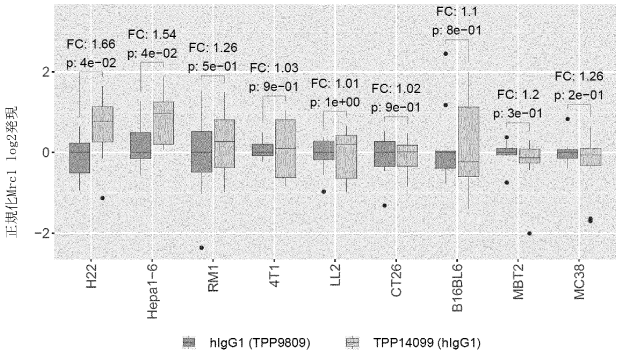
【図７７】



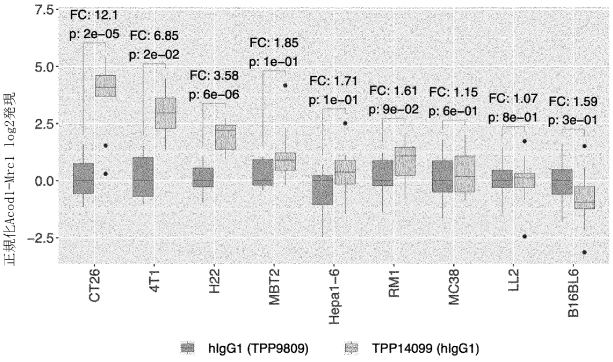
【図７８ａ】



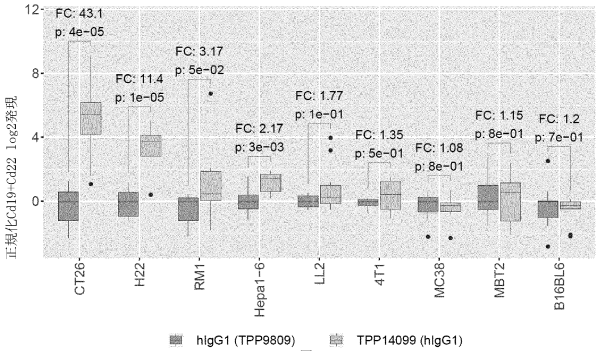
【図７８ｂ】



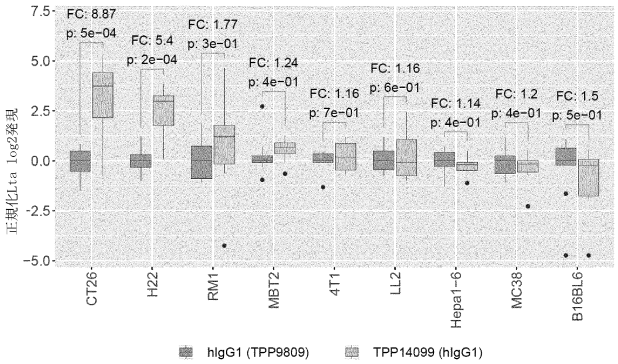
【図７９】



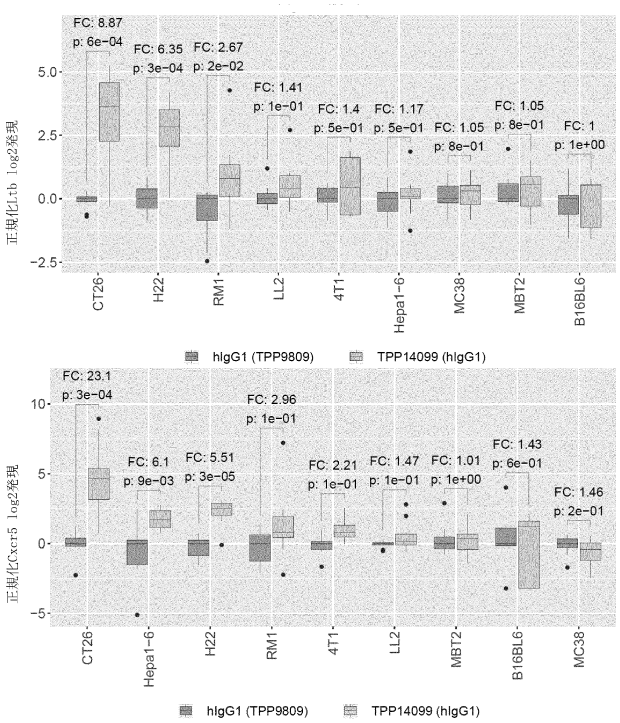
【図８０】



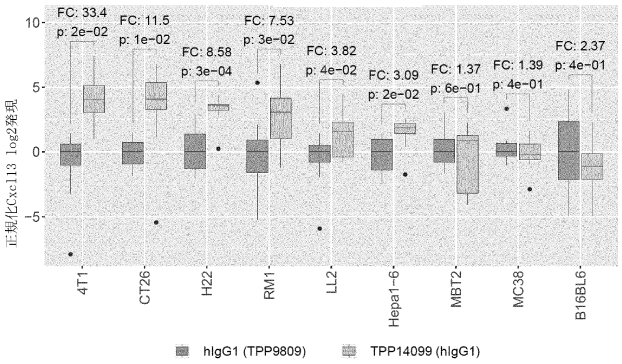
【図８１－１】



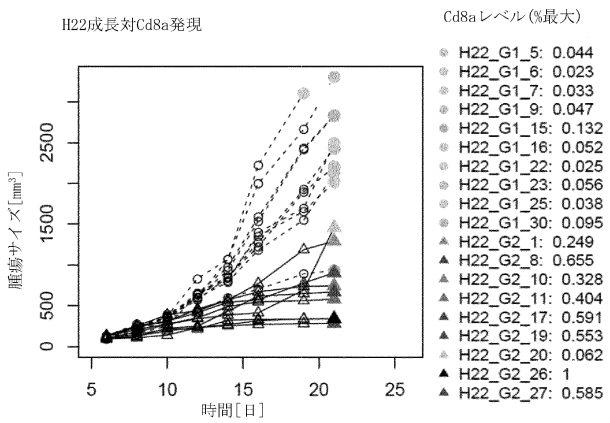
【図８１－２】



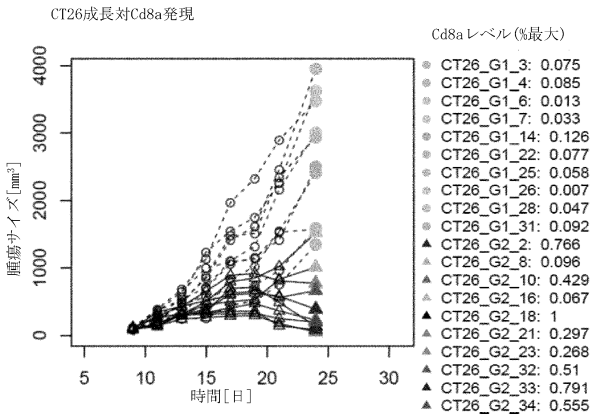
【図８１－３】



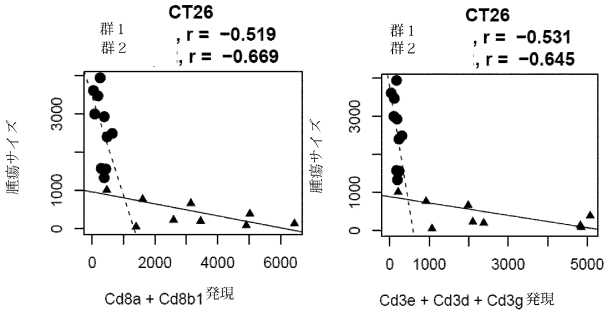
【図８２－１】



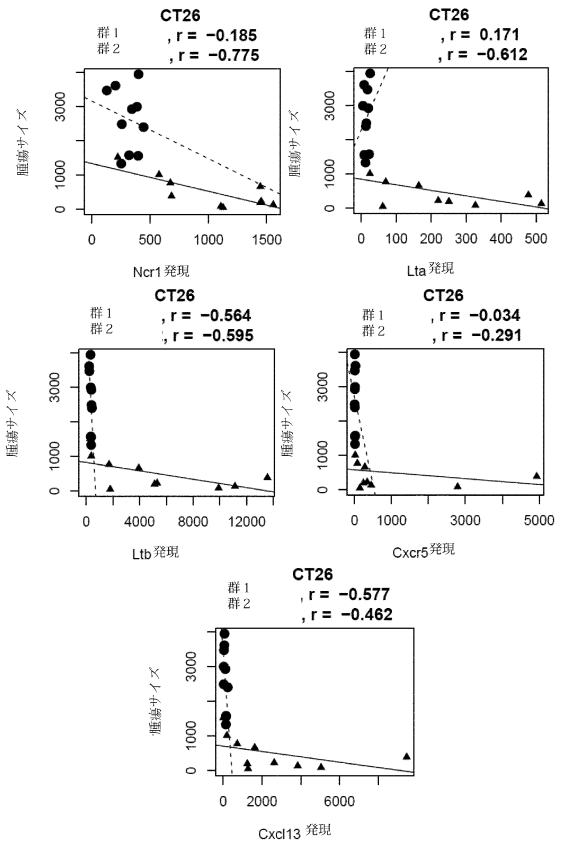
【図８２－２】



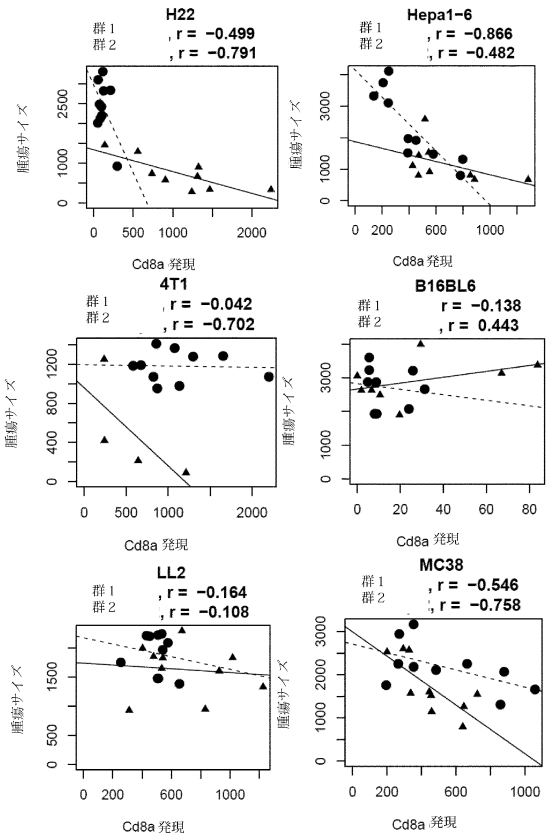
【図８３－１】



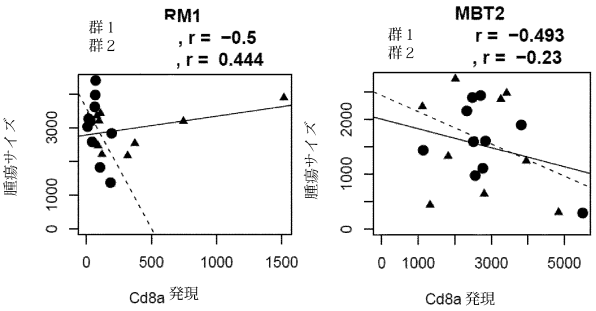
【図８３－２】



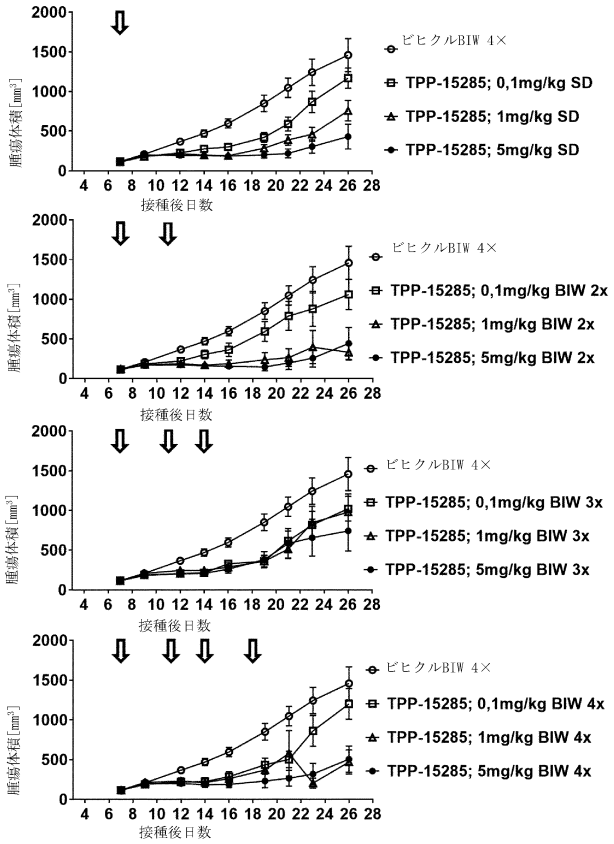
【図８４－１】



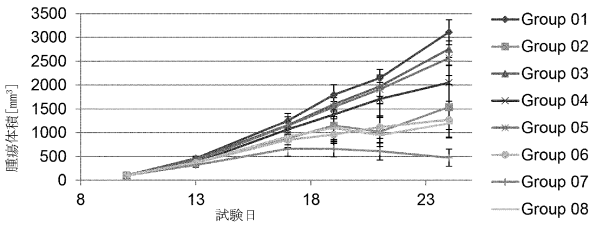
【図８４－２】



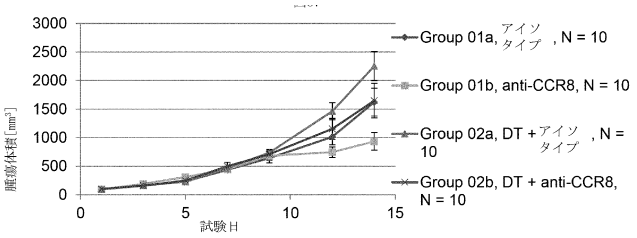
【図８５】



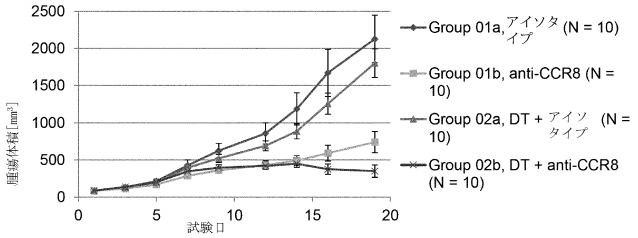
【図８６】



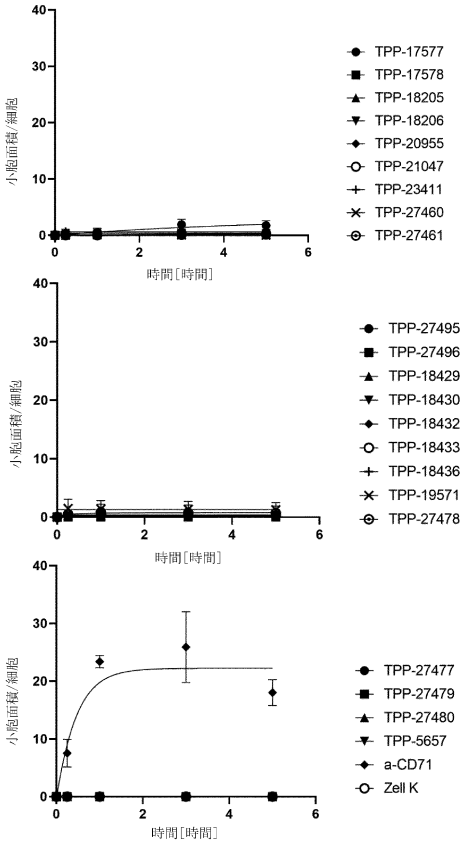
【図８７】



【図８８】



【図８９】



【配列表】

202353198900000 1.app

【手続補正書】
【提出日】令和5年2月24日(2023.2.24)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又は抗原結合断片が、非内在化であるか、又は前記アイソタイプ対照の内在化の１．５、２、３、４、５、６、７若しくは１０倍よりも低い内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とする、単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２】
ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又は断片が、１０～３４％のチロシン及び／又は２～２０％のヒスチジンを含むＨＣＤＲ３領域を特徴とする、単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３】
前記抗体がヒト由来ＣＤＲを含む、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項４】
前記抗体又は抗原結合断片が、好ましくはヒト、カニクイザル及びマウスから選択される少なくとも２つの種からのＣＣＲ８に対して交差反応性であり、最も好ましくは前記抗体又は抗原結合断片がヒト及びカニクイザルＣＣＲ８に対して交差反応性である、ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５】
ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、
前記抗体又は抗原結合断片が、
ａ．ＣＣＬ１誘導性β－アレスチンシグナル伝達を遮断しない、及び／又は
ｂ．ＥＲＫ１／２リン酸化を誘導しない、及び／又は
ｃ．ＡＫＴリン酸化を誘導しない、
単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６】
ＣＣＲ８に特異的に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、
前記抗体又は抗原結合断片がアフコシル化されており、
ａ．ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し、
ｂ．ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導し、
ｃ．ヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞の最大ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰ誘導性ｉｎ　ｖｉｔｒｏ枯渇が、少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％又は９９％である、
単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項７】
前記抗体又は抗原結合断片が、非内在化であるか、又は前記アイソタイプ対照の内在化の１．５、２、３、４、５、６、７若しくは１０倍よりも低い内因性標的発現を有する細胞への内在化を特徴とする、請求項２～６のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。
【請求項８】
前記抗体又は抗原結合断片が、１０～３４％のチロシン及び／又は２～２０％のヒスチ

ジンを含むＨＣＤＲ３領域を特徴とする、請求項１、又は３～７のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項９】

前記抗体がヒト由来のＣＤＲを含む、請求項１～２、又は４～８のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項１０】

前記抗体又は抗原結合断片が、好ましくはヒト、カニクイザル及びマウスから選択される少なくとも２つの種からのＣＣＲ８に対して交差反応性であり、最も好ましくは前記抗体又は抗原結合断片がヒト及びカニクイザルＣＣＲ８に対して交差反応性である、請求項１～３又は５～９のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項１１】

前記抗体又は抗原結合断片が、第１の解離定数ＫＤで第１の種由来の前記ＣＣＲ８に結合し、第２の解離定数ＫＤで第２の種由来の前記ＣＣＲ８に結合し、前記第１及び第２の解離定数が同程度の大きさである、請求項１～１０のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項１２】

前記抗体又は抗原結合断片が、

ａ．ＣＣＬ１誘導性β－アレスチンシグナル伝達を遮断しない、及び／又は

ｂ．ＥＲＫ１／２リン酸化を誘導しない、及び／又は

ｃ．ＡＫＴリン酸化を誘導しない、

請求項１～４、又は６～１１のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項１３】

前記抗体又は抗原結合断片が、

ａ．ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し、

ｂ．ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導し、

ｃ．ヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞の最大ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰ誘導性ｉｎ　ｖｉｔｒｏ枯渇が、少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％又は９９％であってもよい、

請求項１～５又は７～１２のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項１４】

前記抗体又は抗原結合断片が、ＣＣＲ８の硫酸チロシンリッチドメインに特異的に結合する、請求項１～１３のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項１５】

（ｉ）＜１５ｎＭ、＜１０ｎＭ、＜５ｎＭ、＜１ｎＭ若しくは＜０．６ｎＭのＥＣ５０で、

ａ．Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、ヒトＣＣＲ８及び／若しくは配列番号４６に記載の単離されたポリペプチド、並びに／若しくは

ｂ．Ｙ３、Ｙ１５及びＹ１７の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、カニクイザルＣＣＲ８及び／若しくは配列番号４７に記載の単離されたポリペプチド、並びに／若しくは

ｃ．Ｙ３、Ｙ１４及びＹ１５の少なくとも２つ若しくは全てが硫酸化されている、マウスＣＣＲ８及び／若しくは配列番号４８に記載の単離されたポリペプチド

に特異的に結合し、並びに／又は

（ｉｉ）＜５０ｎＭ、＜２５ｎＭ、＜１５ｎＭ若しくは＜１０ｎＭのＥＣ５０で活性化ヒト制御性Ｔ細胞

に特異的に結合する、請求項１～１４のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

【請求項１６】
ａ．前記抗体又は抗原結合断片が、５３０ｎＭ、５００ｎＭ、４５０ｎＭ、４００ｎＭ、３００ｎＭ若しくは２００ｎＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマ受容体ＩＩＩＡ変異体Ｖ１７６（ＣＤ１６ａ）に結合し、及び／又は
ｂ．前記抗体又は抗原結合断片が、３０μＭ、２０μＭ、１０μＭ、５μＭ若しくは１μＭ未満の解離定数（ＫＤ）でヒトＦｃガンマＲＩＩＡ（ＣＤ３２ａ）に結合する、
請求項１～１５のいずれかに記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１７】
前記抗体又は抗原結合断片が、アフコシル化されている、請求項１～１６のいずれかに記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１８】
前記抗体又は抗原結合断片が、
ａ．ヒトＮＫ細胞等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導し、及び／又は
ｂ．ヒトマクロファージ等のヒトエフェクター細胞を介してヒトＣＣＲ８を発現する標的細胞において抗体依存性細胞媒介食作用（ＡＤＣＰ）を誘導し、好ましくは、
ｃ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＣ誘導性最大枯渇は、少なくとも２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９８％若しくは９９％であり、及び／又は
ｄ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＰ誘導性最大枯渇は、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、４０％若しくは５０％であり、及び／又は
ｅ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞の最大ＡＤＣＣ及びＡＤＣＰ誘導性ｉｎ　ｖｉｔｒｏ枯渇は、少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％若しくは９９％である、
請求項１～１７のいずれかに記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１９】
ａ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＣ誘導性枯渇に対する抗体若しくは抗原結合断片のＥＣ５０が、１００ｐＭ、５０ｐＭ、２５ｐＭ、１２．５ｐＭ、１０ｐＭ若しくは５ｐＭ未満であり、及び／又は
ｂ．活性化ヒト制御性Ｔ細胞のＡＤＣＰ誘導性枯渇に対する抗体若しくは抗原結合断片のＥＣ５０が、５００ｐＭ、２５０ｐＭ、２００ｐＭ、１５０ｐＭ、１００ｐＭ、７５ｐＭ、５０ｐＭ若しくは２５ｐＭ未満である、
請求項１～１８のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。
【請求項２０】
有効量の前記抗体又は抗原結合断片が、
ａ．ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくは対象において活性化若しくは腫瘍内制御性Ｔ細胞の数を５０％、４０％、３０％、２５％、２０％、１０％、５％若しくは１％未満に減少させる、及び／又は
ｂ．ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくは対象における腫瘍内Ｔｒｅｇに対する腫瘍内ＣＤ８＋Ｔ細胞の比を少なくとも５、１０、１５、２０、２５、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１５０、２００若しくはそれを超えて増加させる、及び／又は
ｃ．ｉｎ　ｖｉｔｒｏ若しくは対象における腫瘍内ＣＤ４＋Ｔ細胞の制御性Ｔ細胞のパーセンテージを３０％未満、２０％未満、１０％未満若しくは５％未満に減少させる、
請求項１～１９のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。
【請求項２１】
有効量の前記抗体又は抗原結合断片が腫瘍における三次リンパ系構造の形成を誘導する、請求項１～２０のいずれかに記載の単離された抗体又は抗原結合断片。
【請求項２２】
前記抗体が、ＩｇＧ抗体、好ましくはヒトＩｇＧ１若しくはマウスＩｇＧ２ａであり、及び又は前記抗原結合断片がｓｃＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’若しくはＦ（ａｂ’）２断片であ

る、請求項１～２１のいずれかに記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２３】
請求項１～２２のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片を含むコンジュゲートであって、好ましくは、前記コンジュゲートが、
ａ．放射性元素、
ｂ．オーリスタチン、メイタンシノイド、キネシンスピンドルタンパク質阻害剤、ニコチンアミドホスホリボシルトランスフェラーゼ阻害剤若しくはピロロベンゾジアゼピン誘導体等の細胞傷害剤、
ｃ．更なる抗体若しくは抗原結合断片、又は
ｄ．キメラ抗原受容体、
を含む、コンジュゲート。
【請求項２４】
請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は請求項２３に記載のコンジュゲートを含む、医薬組成物。
【請求項２５】
好ましくは、以下から選択される１つ以上の更なる治療活性化合物を含む、請求項２４に記載の医薬組成物：
ａ．ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１若しくはＣＴＬＡ－４等のチェックポイントタンパク質を標的とする抗体若しくは化合物
（好ましくは、チェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は化合物は、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、ドスタリマブ又はイピリムマブである）、
ｂ．ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体、
ｃ．ＨＥＲ２及び／若しくはＥＧＦＲを標的とする抗体若しくは小分子、
ｄ．頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌及び食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、並びに／若しくは前立腺癌のいずれかに対する標準治療、
ｅ．化学療法剤、好ましくはタキサン、パクリタキセル、ドキソルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン若しくはゲムシタビン、
ｅ．抗ＣＤ１９抗体若しくは抗ＣＤ２０抗体等のＢ細胞枯渇剤並びに／又は
ｆ．ソラフェニブ、レゴラフェニブ若しくはＭＥＫｉ－１等の標的化キナーゼ阻害剤。
【請求項２６】
請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は請求項２３に記載のコンジュゲート、又は請求項２４若しくは２５に記載の医薬組成物を含む、医薬品。
【請求項２７】
ＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞等のＣＣＲ８陽性細胞を特徴とする腫瘍又は疾患の処置に使用するための医薬組成物であって、請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は請求項２３に記載のコンジュゲートを含む医薬組成物、又は請求項２４若しくは２５に記載の医薬組成物。
【請求項２８】
ＣＣＲ８陽性制御性Ｔ細胞等のＣＣＲ８陽性細胞を特徴とする腫瘍又は疾患の処置において、
（ｉ）好ましくは、
ａ．ＰＤ１、ＰＤ－Ｌ１若しくはＣＴＬＡ－４等のチェックポイントタンパク質を標的とする抗体若しくは小分子（好ましくは、チェックポイントタンパク質を標的とする抗体又は小分子が、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、ドスタリマブ又はイピリムマブである）、
ｂ．ＣＣＲ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣ

Ｒ８、ＣＣＲ９、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５、ＣＸＣＲ６、ＣＸ３ＣＲ１若しくはＣＸＣＲ１等の更なるケモカイン受容体を標的とする抗体、

ｃ．腫瘍細胞によって特異的に発現されるタンパク質を標的とする抗体、

ｄ．ＨＥＲ２及び／若しくはＥＧＦＲを標的とする抗体若しくは小分子、

ｅ．頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、及び／若しくは前立腺癌のいずれかに対する標準治療、

ｆ．化学療法剤、好ましくはタキサン、パクリタキセル、ドキソルビシン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン若しくはゲムシタビン、並びに／若しくは

ｇ．ソラフェニブ、レゴラフェニブ若しくはＭＥＫｉ－１等の標的化キナーゼ阻害剤

から選択される１つ以上の更なる治療活性化合物と、並びに／又は

（ｉｉ）放射線療法と、並びに／又は

（ｉｉｉ）腫瘍内Ｂ細胞の枯渇と、

同時、別々又は逐次の組み合わせで使用するための医薬組成物であって、請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は請求項２３に記載のコンジュゲートを含む医薬組成物、又は請求項２４若しくは２５に記載の医薬組成物。

【請求項２９】

前記腫瘍が、Ｔ細胞急性リンパ芽球性白血病、乳癌、トリプルネガティブ乳癌、トリプルポジティブ乳癌、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、小細胞肺癌（ＳＣＬＣ）、精巣癌、胃癌、頭頸部扁平上皮癌、胸腺腫、食道腺癌、結腸直腸癌、膵臓腺癌、卵巣癌若しくは子宮頸癌、急性骨髄性白血病、腎臓癌、膀胱癌、皮膚癌、黒色腫、甲状腺癌、中皮腫、肉腫及び前立腺癌、Ｂ細胞リンパ腫、Ｔ細胞リンパ腫、又はＣＣＲ８発現細胞を伴う任意の他の癌の群から選択され、好ましくは前記腫瘍が、頭頸部癌、乳癌、胃癌、肺癌、扁平上皮癌、食道腫瘍、黒色腫、膀胱癌、肝臓癌、前立腺癌、Ｂ細胞リンパ腫及びＴ細胞リンパ腫から選択される、請求項２７又は２８に記載の医薬組成物。

【請求項３０】

前記使用が、

ａ．腫瘍浸潤リンパ球の存在若しくは量、

ｂ．マクロファージ及び／若しくはＮＫ細胞の存在若しくは量、

ｃ．ＣＣＲ８陽性若しくはＦＯＸＰ３陽性制御性Ｔ細胞の存在若しくは量、

ｄ．腫瘍突然変異負荷、

ｅ．癌の病期分類、

ｆ．インターフェロン刺激遺伝子若しくはタンパク質の存在、レベル若しくは活性化、

ｇ．ＣＣＲ８発現、

ｈ．補体因子タンパク質、セルピン、及び／若しくはＭＨＣ成分の存在若しくは量、

ｉ．炎症性若しくは抑制性サイトカイン等のサイトカインの存在若しくは量、

ｊ．免疫遺伝子発現の活性化、並びに／又は

ｋ．ＰＤ－（Ｌ）１若しくはＣＴＬＡ４発現等の免疫チェックポイント（タンパク質）発現、

ｌ．腫瘍浸潤ＣＤ１９＋Ｂ細胞の存在若しくは量、

ｍ．腫瘍浸潤ＣＤ８＋Ｔ細胞の存在若しくは量、

を処置の成功を予測又はモニターするために決定することを含む、請求項２６～２９に記載の医薬組成物。

【請求項３１】

請求項１～２２のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片をコードするポリヌクレオチド。

【請求項３２】

請求項３１に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項３３】

請求項１～２２のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片の製造のために構成された、

単離細胞。

【請求項３４】

請求項３３に記載の細胞を培養することと、抗体又は抗原結合断片を精製してもよいことを含む、請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は請求項２３に記載のコンジュゲートを製造する方法。

【請求項３５】

ｉｎ ｖｉｖｏ又はｉｎ ｖｉｔｒｏで診断剤として使用するための、請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項２３に記載のコンジュゲートを含む、医薬組成物。

【請求項３６】

請求項１～２２のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片、又は請求項２３に記載のコンジュゲート、又は請求項２４若しくは２５に記載の医薬組成物を使用説明書と共に含む、キット。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/067579

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K38/00 C07K16/24
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

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

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/044756 A2 (ICOS CORP [US]; RAPORT CAROL J [US]; EDWARDS ANA [US]) 19 April 2007 (2007-04-19) cited in the application the whole document	1-5,7-36
X	CHRISTOPH SEIBERT ET AL: "Toward a framework for sulfoproteomics: Synthesis and characterization of sulfotyrosine-containing peptides", BIOPOLYMERS, vol. 90, no. 3, 6 August 2007 (2007-08-06), pages 459-477, XP055007755, ISSN: 0006-3525, DOI: 10.1002/bip.20821 table 1	14

-/--

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

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
24 January 2022	02/02/2022
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Scheffzyk, Irmgard

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/067579

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	WO 2021/142002 A1 (VACCINEX INC [US]) 15 July 2021 (2021-07-15) paragraph [0376] -----	4,7-36
X	WO 2018/181425 A1 (SHIONOGI & CO [JP]; UNIV OSAKA [JP]) 4 October 2018 (2018-10-04) cited in the application -----	1-5,7-36
X	Anonymous: "BIOLEGEND: Purified anti-human CD198 (CCR8) Antibody", , 10 September 2013 (2013-09-10), pages 1-3, XP055852187, Retrieved from the Internet: URL:https://www.biolegend.com/en-us/search -results/purified-anti-human-cd198-ccr8-an tibody-8945?Clone=L263G8 the whole document -----	1-5,7-36
X	Anonymous: "Purified anti-mouse CD198 (CCR8) Antibody", Biolegend - Product sheet, 16 December 2015 (2015-12-16), pages 1-2, XP055768629, Retrieved from the Internet: URL:https://www.biolegend.com/en-us/produc ts/purified-anti-mouse-cd198-ccr8-antibody -12025 [retrieved on 2021-01-26] the whole document -----	1-5,7-36
X	"Monoclonal anti-human CCR antibody", INTERNET CITATION, 8 July 2003 (2003-07-08), XP002430338, Retrieved from the Internet: URL:http://www.rndsystems.com [retrieved on 2007-04-19] the whole document -----	1-5,7-36
X	Fabien Dépis ET AL: "Abstract 4532: Preclinical evaluation of JTX-1811, an antiCCR8 antibody with enhanced ADCC activity, for preferential depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells", Cancer Res. Proceedings: AACR Annual Meeting, 27 April 2020 (2020-04-27), XP055768627, DOI: 10.1158/1538-7445.AM2020-4532Published Retrieved from the Internet: URL:https://cancerres.aacrjournals.org/con tent/80/16_Supplement/4532 [retrieved on 2021-01-26] the whole document -----	1-5,7-36
	-/--	

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/067579

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GUTIERREZ JULIO ET AL: "Analysis of post-translational CCR8 modifications and their influence on receptor activity", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 279, no. 15, 1 April 2004 (2004-04-01), pages 14726-14733, XP002459212, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.M309689200 the whole document -----	1-5,7-36
A	DANIEL O. VILLARREAL ET AL: "Targeting CCR8 Induces Protective Antitumor Immunity and Enhances Vaccine-Induced Responses in Colon Cancer", CANCER RESEARCH, vol. 78, no. 18, 15 September 2018 (2018-09-15), pages 5340-5348, XP055631142, US ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1119 the whole document -----	1-5,7-36
A	D. B. HOELZINGER ET AL: "Blockade of CCL1 Inhibits T Regulatory Cell Suppressive Function Enhancing Tumor Immunity without Affecting T Effector Responses", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 184, no. 12, 7 May 2010 (2010-05-07), pages 6833-6842, XP055306968, US ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.0904084 -----	1-5,7-36
X	Anonymous: "BIOLEGEND: Purified anti-human CD198 (CCR8) Antibody", , 10 September 2013 (2013-09-10), pages 1-3, XP55852187, Retrieved from the Internet: URL:https://www.biolegend.com/en-us/search-results/purified-anti-human-cd198-ccr8-antibody-8945?Clone=L263G8 the whole document -----	1-5,7-36

-/--

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/067579

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DAL CORSO ALBERTO ET AL: "A non-internalizing antibody-drug conjugate based on an anthracycline payload displays potent therapeutic activity in vivo", JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, vol. 264, 1 October 2017 (2017-10-01), pages 211-218, XP55838929, AMSTERDAM, NL ISSN: 0168-3659, DOI: 10.1016/j.jconrel.2017.08.040 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/pmc/articles/PMC5844458/pdf/emss-76515.pdf> -----	1,8-36

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2021/067579

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007044756 A2	19-04-2007	NONE	
WO 2021142002 A1	15-07-2021	US 2021238292 A1	05-08-2021
		WO 2021142002 A1	15-07-2021
WO 2018181425 A1	04-10-2018	AU 2018243020 A1	12-09-2019
		CA 3057274 A1	04-10-2018
		CN 110573180 A	13-12-2019
		DK 3431105 T3	09-03-2020
		DK 3616720 T3	29-03-2021
		EP 3431105 A1	23-01-2019
		EP 3616720 A1	04-03-2020
		EP 3858860 A1	04-08-2021
		ES 2776926 T3	03-08-2020
		ES 2863412 T3	11-10-2021
		HU E054316 T2	30-08-2021
		JP 6501171 B2	17-04-2019
		JP 6557827 B2	14-08-2019
		JP 6656565 B2	04-03-2020
		JP 6712701 B2	24-06-2020
		JP 2019073542 A	16-05-2019
		JP 2019163313 A	26-09-2019
		JP 2020055876 A	09-04-2020
		JP WO2018181425 A1	11-04-2019
		KR 20190140917 A	20-12-2019
		PL 3431105 T3	02-11-2020
		PL 3616720 T3	20-09-2021
		PT 3431105 T	11-03-2020
		PT 3616720 T	11-03-2021
		RU 2730984 C1	26-08-2020
		US 2019071508 A1	07-03-2019
		US 2020222463 A1	16-07-2020
		US 2020232973 A1	23-07-2020
		US 2021047421 A1	18-02-2021
		US 2021115148 A1	22-04-2021
		WO 2018181425 A1	04-10-2018

International Application No. PCT/EP2021/067579

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1(completely); 8-36(partially)

Antibody exhibiting the properties recited in claim 1

---

2. claims: 2(completely); 7, 9-36(partially)

Antibody exhibiting the properties recited in claim 2

---

3. claims: 3(completely); 7, 8, 10-36(partially)

Antibody exhibiting the properties recited in claim 3

---

4. claims: 4(completely); 7-9, 11-36(partially)

Antibody exhibiting the properties recited in claim 4

---

5. claims: 5(completely); 7-11, 13-36(partially)

Antibody exhibiting the properties recited in claim 5

---

6. claims: 6(completely); 7-12, 14-36(partially)

Antibody exhibiting the properties recited in claim 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2021/067579

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

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

   a. [X] forming part of the international application as filed:

      [X] in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      [ ] on paper or in the form of an image file.

   b. [ ] furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      [ ] in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

      [ ] on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

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

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2021/067579

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

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

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

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

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

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

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

see additional sheet

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

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

3. [x] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
1-5(completely); 7-36(partially)

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

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
[x] No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI				テーマコード（参考）
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10			4H045
C07K	*16/24*	*(2006.01)*	C07K	16/24			
C07K	*19/00*	*(2006.01)*	C07K	19/00			
C12P	*21/08*	*(2006.01)*	C12P	21/08			
A61K	*47/68*	*(2017.01)*	A61K	47/68			
A61P	*43/00*	*(2006.01)*	A61P	43/00	121		
A61K	*45/00*	*(2006.01)*	A61K	45/00			
A61K	*39/395*	*(2006.01)*	A61K	39/395		T	
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61K	39/395		E	
A61P	*35/02*	*(2006.01)*	A61P	35/00			
A61K	*49/00*	*(2006.01)*	A61P	35/02			
			A61K	49/00			

(32)優先日　令和2年11月3日(2020.11.3)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人　100143823
弁理士　市川 英彦
(74)代理人　100183519
弁理士　櫻田 芳恵
(74)代理人　100196483
弁理士　川嵜 洋祐
(74)代理人　100160749
弁理士　飯野 陽一
(74)代理人　100160255
弁理士　市川 祐輔
(74)代理人　100172683
弁理士　綾 聡平
(74)代理人　100219265
弁理士　鈴木 崇大
(74)代理人　100146318
弁理士　岩瀬 吉和
(74)代理人　100127812
弁理士　城山 康文
(72)発明者　バーント，サンドラ
ドイツ国、１６５４０・ホーエン・ノイエンドルフ、ケーテシュトラーセ・９
(72)発明者　フィラルスキー，カタリーナ
ドイツ国、４０６２７・デュッセルドルフ、ヴェンシュトラーセ・１０５アー
(72)発明者　エリンガー，フィリップ
ドイツ国、４２６９７・ゾーリンゲン、ブラウプフェイルヴェーク・２９
(72)発明者　ステルト－ルートヴィヒ，ベアトリクス
ドイツ国、４２４８９・ヴュルフラート、ゲルツハイデ・１０エフ
(72)発明者　ホフ，サビーネ

ドイツ国、１４４７８・ポツダム、ブルンネンアレー・１１アー
(72)発明者　ロイダー，ヘルゲ
ドイツ国、１６５４０・ホーエン・ノイエンドルフ、パンコヴァー・シュトラーセ・１９
(72)発明者　ウェーバー，エルンスト
ドイツ国、４０７６４・ランゲンフェルト、ヘルマン－ケール－シュトラーセ・１
(72)発明者　トラウトヴァイン，マルク
ドイツ国、４２４８９・ヴュルフラート、ナルツィッセンヴェーク・４
(72)発明者　ヴォツマイアー，クリスティアン
ドイツ国、３３１０２・パーダーボルン、テーゲルヴェーク・８
(72)発明者　パーロヴスキー，ニコラウス
ドイツ国、５０９３９・ケルン、レーンドルファー・シュトラーセ・１４ベー
(72)発明者　グリツァン，ウーヴェ
ドイツ国、５０８２３・ケルン、シマーシュトラーセ・２０
(72)発明者　ブフマン，パスカル
ドイツ国、５１３８１・レーバークーゼン、パストルスカンプ・３１
(72)発明者　ベルトリング，クリスティアン
ドイツ国、４２１０５・ヴッパータール、ホムビュッフェル・３８
(72)発明者　フォン・アーセン，オリバー
ドイツ国、１３４６５・ベルリン、ゴランツシュトラーセ・１３９
(72)発明者　ナドラー，ヴィープケ・マリア
ドイツ国、４０７６４・ランゲンフェルト、クリスト－ケーニヒ－ヴェーク・１４
(72)発明者　ツェン，スーイー
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４１１６、サン・フランシスコ、４５アベニュー・２４４６
(72)発明者　パズ，ペドロ
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４５４７、ハーキュレス、ロッキー・ポイント・コート・１３３
(72)発明者　オー，ファイク・リン
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４６０８、エメリーヴィル、クリスティー・アベニュー・６４００・アパートメント・ナンバー４１２４
(72)発明者　ジョーンズ，パトリック
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４５０１、アラメダ、スタントン・ストリート・１７２０
(72)発明者　ゴルヤナツ，マティアス
ドイツ国、１３４６５・ベルリン、グルネマンツプファート・６７

Ｆターム（参考）　4B064　AG27 CA19 CC24 DA01
4B065　AA01X AA57X AA72X AA90X AB01 BA02 CA25 CA44
4C076　AA95 CC27 EE41 EE59 FF68
4C084　AA19 NA05 ZB261 ZB262 ZB271 ZB272 ZC751
4C085　AA13 AA14 AA16 AA19 BB36 BB41 BB43 CC01 CC03 DD23 DD31 DD62 EE01 EE03 KA03 LL18
4H045　AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 BA71 BA72 DA76 EA20 FA50 FA72 FA74