

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7261379号

(P7261379)

(45)発行日 令和5年4月20日(2023.4.20)

(24)登録日 令和5年4月12日(2023.4.12)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/13

Z N A

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

C 0 7 K 16/28

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 0 7 K 16/46

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 15/63

Z

請求項の数 15 (全340頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-518160(P2019-518160)

(86)(22)出願日 平成29年6月20日(2017.6.20)

(65)公表番号 特表2019-528083(P2019-528083
A)

(43)公表日 令和1年10月10日(2019.10.10)

(86)国際出願番号 PCT/GB2017/051796

(87)国際公開番号 WO2017/220990

(87)国際公開日 平成29年12月28日(2017.12.28)

審査請求日 令和2年6月17日(2020.6.17)

(31)優先権主張番号 62/352,291

(32)優先日 平成28年6月20日(2016.6.20)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 15/211,504

(32)優先日 平成28年7月15日(2016.7.15)

最終頁に続く

(73)特許権者 512006066

カイマブ・リミテッド

イギリス・C B 2 2・3 A T・ケンブリ

ッジ・バブラハム・リサーチ・キャンパ

ス・ザ・ベネット・ビルディング・(B

9 3 0)

(74)代理人 100127926

弁理士 結田 純次

(74)代理人 100140132

弁理士 竹林 則幸

(74)代理人 100216105

弁理士 守安 智

(72)発明者 キャンベル, ジェイミー

イギリス、バブラハム シービー 2 2 3

エーティー、バブラハム リサーチ キャ

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗PD-L1抗体

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

V_Hドメイン、V_Lドメイン及びADCC活性を有する定常領域を含んでなり、hPD-L1に特異的に結合し、PD-L1のPD-1への結合を阻害する抗体又はその抗原結合断片であって、

a)前記V_Hドメインが配列番号33のアミノ酸配列を含み、前記V_Lドメインが配列番号43のアミノ酸配列を含むか、

b)前記V_Hドメインが配列番号33と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含み、前記V_Lドメインが配列番号43と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を含み、前記抗体又はその抗原結合断片が配列番号29若しくは32のCDRH3配列、及び配列番号27若しくは30のCDRH1配列、及び配列番号28若しくは31のCDRH2配列、及び配列番号37若しくは40のCDRL1配列、及び配列番号38若しくは41のCDRL2配列、及び配列番号39若しくは42のCDRL3配列を含むか、

c)前記V_Hドメインが配列番号47のV_Hドメインのアミノ酸配列を含み、前記V_Lドメインが配列番号43のアミノ酸配列を含むか、

d)前記V_Hドメインが配列番号48のV_Hドメインのアミノ酸配列を含み、前記V_Lドメインが配列番号43のアミノ酸配列を含むか、

e)前記V_Hドメインが配列番号49のV_Hドメインのアミノ酸配列を含み、前記V_Lドメインが配列番号43のアミノ酸配列を含むか、

f)前記V_Hドメインが配列番号342のV_Hドメインのアミノ酸配列を含み、前記V_Lド

メインが配列番号 43 のアミノ酸配列を含むか、

g) 前記 V_Hドメインが配列番号 33 のアミノ酸配列を含み、前記 V_Lドメインが配列番号 50 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含むか、

h) 前記 V_Hドメインが配列番号 47 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、前記 V_Lドメインが配列番号 50 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含むか、

i) 前記 V_Hドメインが配列番号 48 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、前記 V_Lドメインが配列番号 50 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含むか、

j) 前記 V_Hドメインが配列番号 49 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、前記 V_Lドメインが配列番号 50 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含むか、

k) 前記 V_Hドメインが配列番号 342 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、前記 V_Lドメインが配列番号 50 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含むか、

l) 前記 V_Hドメインが配列番号 33 のアミノ酸配列を含み、前記 V_Lドメインが配列番号 51 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含むか、

m) 前記 V_Hドメインが配列番号 47 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、前記 V_Lドメインが配列番号 51 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含むか、

n) 前記 V_Hドメインが配列番号 48 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、前記 V_Lドメインが配列番号 51 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含むか、

o) 前記 V_Hドメインが配列番号 49 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、前記 V_Lドメインが配列番号 51 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含むか、又は

p) 前記 V_Hドメインが配列番号 342 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、前記 V_Lドメインが配列番号 51 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含む、抗体又は抗原結合断片。

【請求項 2】

h P D - L 1 に特異的に結合し、P D - L 1 の P D - 1 への結合を阻害する抗体であって、前記抗体が重鎖及び軽鎖を含んでなり、

前記重鎖の定常領域は、A D C C 活性を有し、

a) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 35 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 45 のアミノ酸配列を含むか、

b) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 35 と少なくとも 90 % 同一であるアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 45 と少なくとも 90 % 同一であるアミノ酸配列を含み、前記抗体が配列番号 29 若しくは 32 の C D R H 3 配列、及び配列番号 27 若しくは 30 の C D R H 1 配列、及び配列番号 28 若しくは 31 の C D R H 2 配列、及び配列番号 37 若しくは 40 の C D R L 1 配列、及び配列番号 38 若しくは 41 の C D R L 2 配列、及び配列番号 39 若しくは 42 の C D R L 3 配列を含むか、

c) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 47 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 45 のアミノ酸配列を含むか、

d) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 48 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 45 のアミノ酸配列を含むか、

e) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 49 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 45 のアミノ酸配列を含むか、

f) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 342 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 45 のアミノ酸配列を含むか、

g) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 35 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 50 のアミノ酸配列を含むか、

h) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 47 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 50 のアミノ酸配列を含むか、

i) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 48 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 50 のアミノ酸配列を含むか、

j) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 49 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 50 のアミノ酸配列を含むか、

k) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 342 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ

10

20

30

40

50

酸配列が配列番号 50 のアミノ酸配列を含むか、

l) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 35 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 51 のアミノ酸配列を含むか、

m) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 47 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 51 のアミノ酸配列を含むか、

n) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 48 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 51 のアミノ酸配列を含むか、

o) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 49 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 51 のアミノ酸配列を含むか、又は

p) 前記重鎖のアミノ酸配列が配列番号 342 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖のアミノ酸配列が配列番号 51 のアミノ酸配列を含む、抗体。

10

【請求項 3】

h P D - L 1 に特異的に結合し、P D - L 1 の P D - 1 への結合を阻害する抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体が

a) 配列番号 27 若しくは配列番号 30 の C D R H 1 アミノ酸配列、配列番号 28 若しくは配列番号 31 の C D R H 2 アミノ酸配列、配列番号 29 若しくは配列番号 32 の C D R H 3 アミノ酸配列、配列番号 37 若しくは配列番号 40 の C D R L 1 アミノ酸配列、配列番号 38 若しくは配列番号 41 の C D R L 2 アミノ酸配列、及び配列番号 39 若しくは配列番号 42 の C D R L 3 アミノ酸配列を含むか；又は

b) 配列番号 27 若しくは配列番号 30 の C D R H 1 アミノ酸配列、配列番号 28 若しくは配列番号 31 の C D R H 2 アミノ酸配列、配列番号 29 若しくは配列番号 32 の C D R H 3 アミノ酸配列、配列番号 37 若しくは配列番号 40 の C D R L 1 アミノ酸配列、配列番号 50 の V L 配列から K a b a t 若しくは I M G T システムにより規定される C D R L 2 アミノ酸配列、及び配列番号 39 若しくは配列番号 42 の C D R L 3 アミノ酸配列を含む、

20

抗体又は抗原結合断片。

【請求項 4】

配列番号 2 で規定されるカニクイザル P D - L 1 に特異的に結合する請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項 5】

前記定常領域がヒト若しくはマウスの I g G 4 定常領域又はヒト若しくはマウスの I g G 1 定常領域である、請求項 1 に記載の抗体又は抗原結合断片。

30

【請求項 6】

請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の抗体又は抗原結合断片を含む二重特異性抗体又は融合タンパク質。

【請求項 7】

二重特異性フォーマットが D V D - I g (商標)、m A b²、F I T - I g (商標)、m A b - d A b、ドック・ロック、S E E D b o d y、s c D i a b o d y - F c、d i a b o d y - F c、t a n d e m s c F v - F c、F a b - s c F v - F c、F a b - s c F v、細胞内抗体、B i T E (商標)、ダイアボディ、D A R T (商標)、T a n d A b (商標)、s c D i a b o d y、s c D i a b o d y - C H₃、D i a b o d y - C H₃、ミニボディ、ノブ・イン・ホール、共通軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖及び電荷対を有するノブ・イン・ホール、電荷対、共通の軽鎖を有する電荷対から選択される請求項 6 に記載の二重特異性抗体。

40

【請求項 8】

標的抗原が、以下の(1)～(3)：

(1) P D - 1、C T L A - 4、T I G I T、T I M - 3、L A G - 3 及び V I S T A から選択される免疫チェックポイント阻害剤；

(2) B T L A、h H V E M、C S F 1 R、C C R 4、C D 3 9、C D 4 0、C D 7 3、C D 9 6、C X C R 2、C X C R 4、C D 2 0 0、G A R P、S I R P α、C X C L 9、C

50

X C L 1 0、C D 1 5 5 及び C D 1 3 7 から選択される免疫調節剤;又は
(3) C D 1 3 7、G I T R、O X 4 0、C D 4 0 及び C X C R 3 から選択される免疫賦活剤
から選択される、請求項 7 に記載の二重特異性抗体。

【請求項 9】

ヒトにおける h P D - L 1 媒介性疾患又は病的状態を治療又は予防するためにヒトへ投与する医薬品の製造における、請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の抗体又は抗原結合断片の使用であって、前記 h P D - L 1 媒介性疾患又は病的状態が、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌(扁平上皮癌及び非扁平上皮癌)、腎細胞癌、膀胱癌、頭部頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌、軟部肉腫、血液系腫瘍から選択される腫瘍性疾患又は悪性腫瘍である、使用。

10

【請求項 10】

請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の抗体又は抗原結合断片と、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、又は担体とを含んでなる医薬組成物。

【請求項 11】

前記組成物が、h P D - L 1 媒介性病的状態又は疾患を治療及び/又は予防するためのものであり、前記 h P D - L 1 媒介性疾患又は病的状態が、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌(扁平上皮癌及び非扁平上皮癌)、腎細胞癌、膀胱癌、頭部頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌、軟部肉腫、血液系腫瘍から選択される腫瘍性疾患又は悪性腫瘍である、請求項 10 に記載の医薬組成物、又は請求項 10 に記載の医薬組成物を含むキット。

【請求項 12】

20

ヒトにおける前記疾患若しくは病的状態の治療及び/若しくは予防に使用するためのラベル若しくは説明書と組み合わせられた請求項 10 又は 11 に記載の医薬組成物、又は、ヒトにおける前記疾患若しくは病的状態の治療及び/若しくは予防に使用するためのラベル若しくは説明書を含んでなる請求項 11 に記載のキット。

【請求項 13】

請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の抗体の重鎖及び軽鎖をコードする核酸。

【請求項 14】

請求項 13 に記載の核酸を含んでなるベクター。

【請求項 15】

請求項 13 に記載の核酸又は請求項 14 に記載のベクターを含んでなる宿主細胞。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

抗体およびその抗体を使用する方法が記載される。特に、ヒト P D - L 1 抗原に特異的に結合する抗体、および様々な疾患の治療におけるそれらの使用が記載される。

【背景技術】

【0002】

免疫サイトカイン(抗体-サイトカイン融合タンパク質)は、1990年代初期の文献において最初に報告され、リンホトキシン(TNF- α)またはインターロイキン2(IL-2)等のサイトカインとの全抗体融合からなっていた。マウスにおけるGD2発現腫瘍モデルの後続の研究は、ch14.18抗体およびch14.18-IL2免疫サイトカインの両方が抗腫瘍活性を有したが、遊離IL-2と組み合わせたときでさえも免疫サイトカインが抗体よりもはるかに強力であることを示した(Sabzevari H et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994, 91:9626-30、Pancook JD, et al., Cancer Immunol. Immunother., 1996, 42:88-92、Becker JC, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93:2702-7を参照されたい)。さらに、免疫サイトカインで処置されたが抗体およびIL-2では処置されていない免疫応答性マウスは、CD8⁺ T細胞に依存する適応免疫応答を発達させ、これはその後の腫瘍負荷を防止した(Becker JC, et al., J. Exp. Med.,

40

50

1996, 183:2361-6、Becker JC, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93:7826-31)。このように、腫瘍微小環境へのIL-2の標的化は、単独で、または遊離サイトカインと一緒に、抗体では不可能である抗腫瘍ワクチン効果を誘導する。関連するヒト化免疫サイトカインhu 14.18-IL2は、単独療法として再発性の非巨大神経芽腫における臨床的な概念証明を果たし、他の治療選択のない患者において有意な数の完全奏功を誘導した (Shusterman et al., Journal of Clinical Oncology, 2010, 28(33), 4969-4975)。いくつかの刊行物は、この分子が免疫系のいくつかの成分を活性化させて腫瘍細胞（特に、NK細胞およびCD8⁺ T細胞）を殺滅し、その後の腫瘍負荷に抵抗するためにT細胞メモリーを発達させる能力について記載している (Yamane et al. 2009; Expert Opin. Invest. Drugs, 18(7):991-1000、Neal et al., 2004, Clin. Cancer Res., 1010, 4839-4847)。

【0003】

IL-2に基づく免疫サイトカインは著しい副作用を有し得るため、近年は効能を維持しながら毒性を低減させることに努力の焦点が当てられている。一例はセレクチン (EMD 521873) であり、これは、IL-2Rβの結合における重要な残基であるIL-2の20位のトレオニンについてアスパラギン酸の置換を有する (Gillies et al., Clinical Cancer Research, 2011, 17(11), 3673-3685)。壊死組織に結合するセレクチンは、第I相試験における、中間IL-2Rを上回る高親和性IL-2Rに対するその選択性、および良好な忍容性にもかかわらず、良好な抗腫瘍活性を有することが示されている (Laurent et al., Journal of Translational Medicine, 2013, 11(1), 5. <http://doi.org/10.1186/1479-5876-11-5>)。

【0004】

WO2012/178137 (Gillies) および関連する雑誌論文 (Gillies, Protein Engineering, Design and Selection, 2013, 26(10), 561-569) は、腫瘍標的化抗体との軽鎖免疫サイトカイン融合について、およびIL-2Rβγを通したシグナル伝達を減少させるサイトカインのN末端部分におけるランケーションの導入によるIL-2活性の調節について記載している。IL-2Rβγを特異的に標的とするIL-2融合タンパク質は、野生型 (Vasquez-Lombardi et al. Nat Comm, 2017, DOI: 10.1038/ncomms15373) と比較して増加した毒性を有することが示されており、これは、IL-2Rβγ結合を減少させることが副作用の点で有益であり得るという概念を支持する。

【0005】

適応免疫応答は、T細胞およびB細胞と呼ばれる2つの主要クラスのリンパ球の活性化、選択、およびクローン増殖を含む。抗原に遭遇した後、T細胞は増殖し、抗原特異的エフェクター細胞に分化する一方、B細胞は増殖し、抗体分泌細胞に分化する。T細胞活性化は、T細胞と抗原提示細胞 (APC) との間のいくつかのシグナル伝達事象を必要とする多段階プロセスである。T細胞活性化が起こるためには、休止T細胞に2種類のシグナルを送達しなければならない。第1の種類は、抗原特異的T細胞受容体 (TCR) によって媒介され、免疫応答に対する特異性を付与する。第2のシグナルである共刺激型シグナルは、応答の大きさを制御し、T細胞上のアクセサリ受容体を介して送達される。

【0006】

一次共刺激シグナルは、そのリガンドB7-1またはB7-2の関与の際に、活性化CD28受容体を介して送達される。対照的に、同じB7-1またはB7-2リガンドによる抑制性CTLA-4受容体の関与は、T細胞応答の減弱をもたらす。したがって、CTLA-4シグナルはCD28によって媒介される共刺激に拮抗する。高抗原濃度では、C

10

20

30

40

50

D28の共刺激は、CTLA-4の阻害効果を無効にする。CD28およびCTLA-4発現の一次的な制御は、自己免疫の発達を保護しながら、活性化シグナルと阻害シグナルとの間のバランスを維持し、有効な免疫応答の発達を確実にする。

【0007】

プログラム死1 (PD-1) は、CD28ファミリーのメンバーである50~55 kDaのI型膜貫通受容体である。PD-1は、T細胞活性化の制御に関与し、T細胞、B細胞、および骨髄細胞上に発現される。PD-1に対する2つのリガンドであるPDリガンド1 (PD-L1) およびリガンド2 (PD-L2) が同定されており、これらは共刺激特性を有する。

【0008】

分化のクラスター (CD274) またはB7ホモログ1 (B7-H1) としても知られているプログラム細胞死1リガンド1 (PD-L1) は、PD-1受容体の活性化または阻害を調節するB7ファミリーのメンバーである。PD-L1のオープンリーディングフレームは、2つの細胞外Igドメイン (N末端V様ドメインおよびIg C様ドメイン) と、疎水性膜貫通ドメインと、30アミノ酸の細胞質側末端とを含む、290アミノ酸の推定1型膜貫通タンパク質をコードする。30アミノ酸の細胞内 (細胞質) ドメインは、明らかなシグナル伝達モチーフを含まないが、タンパク質キナーゼCリン酸化の潜在的部位を有する。

【0009】

PD-L1の完全なアミノ酸配列は、NCBI参照配列NP_054862.1 (配列番号1) に見出すことができ、これは、例えば、Dong, H., et al. (1999), 「PD-L1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion」 Nat. 「Med.」 5 (12), 1365-1369を含む多くの雑誌論文に言及する。PD-L1遺伝子は、チンパンジー、アカゲザル、イヌ、ウシ、マウス、ラット、ニワトリ、およびゼブラフィッシュにおいて保存されている。PD-L1のマウス形態は、PD-L1のヒト形態と69%のアミノ酸同一性を有し、また保存構造も共有する。

【0010】

ヒトにおいて、PD-L1は、活性化およびアネルギー性/枯渇T細胞を含むいくつかの免疫細胞型上、ナイーブおよび活性化B細胞上、ならびに骨髄樹状細胞 (DC)、単球、およびマスト細胞上に発現される。PD-L1はまた、脾臓、肝臓のクッパー細胞、血管内皮および選択された上皮、例えば気道上皮および尿細管上皮を含む非免疫細胞上で発現され、その発現は炎症エピソード中に増強される。PD-L1発現はまた、乳癌 (トリプルネガティブ乳癌および炎症性乳癌を含むがこれらに限定されない)、卵巣癌、子宮頸癌、結腸癌、結腸直腸癌、非小細胞肺癌を含む肺癌、腎細胞癌腫を含む腎癌、胃癌、食道癌、膀胱癌、肝細胞癌、頭頸部の扁平上皮癌 (SCCHN)、ならびに脾臓癌、黒色腫、およびブドウ膜黒色腫を含むいくつかの腫瘍上で増加したレベルで見出された。

【0011】

PD-1 / PD-L1シグナル伝達は、T細胞応答を負に制御することによって、免疫系内で重大な非重複機能を果たすと考えられている。この制御は、胸腺におけるT細胞の発生、慢性炎症反応の制御、ならびに末梢寛容および免疫特権の両方の維持に関与する。PD-L1の上方制御は、癌が宿主免疫系を回避することを可能にし得、多くの癌において、PD-L1の発現は、生存率の低下および予後不良に関連付けられる。PD-1 / PD-L1経路を遮断することができる治療用モノクローナル抗体は、癌患者の抗腫瘍免疫応答を増強し得る。公開された臨床データは、臨床応答とPD-L1の腫瘍膜性発現との間の相関関係 (Brahmer et al., Journal of Clinical Oncology, 2010, Topalian et al., NEJM, 2012)、および臨床応答の欠如と、膜に局在化したPD-L1タンパク質の欠如との間のより強い相関関係 (Brahmer et al., Journal of Clinical

10

20

30

40

50

Oncology, 2010, Topalian et al., NEJM, 2012) を示している。したがって、腫瘍または腫瘍浸潤白血球におけるPD-L1発現 (Herbst RS, et al., 「Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients」, Nature, 2014, Nov 27, 515 (7528): 563-7, doi:10.1038/nature14011) は、免疫療法、例えば抗PD-L1抗体を使用する免疫療法のための患者の選択に使用するための候補分子マーカーである。PD-L1の表面発現に基づく患者の濃縮は、PD-1/PD-L1経路を標的とする薬物による治療の臨床的成功を有意に高めることができる。腫瘍浸潤CD8⁺ T細胞等の進行中の免疫応答、またはIFN γ 等のサイトカイン活性化の兆候の存在の証拠もまた存在する。

10

【0012】

PD-L1発現のさらなる証拠および疾患との相関は、多数の進行中の臨床試験から明らかになるであろう。アテゾリズマブは最も進歩したものであり、第II相試験からの最近のデータは、転移性尿路上皮癌およびNSCLC、特に腫瘍微小環境におけるPD-L1⁺免疫細胞による治療効果を示す (Fehrenbacher et al., 2016, The Lancet, [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00587-0](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00587-0)、Rosenberg et al., 2016, The Lancet, [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00561-4](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00561-4)を参照されたい)。1225人のNSCLC患者の第III相試験の最近の結果は、PD-L1の腫瘍発現にかかわらず、化学療法と比較して、アゼリズマブを服用している患者における生存率の改善を示した (Rittmeyer et al., 2017, The Lancet, 389 (10066), 255-265)。

20

【発明の概要】

【0013】

抗体

PD-L1に特異的に結合する抗体およびその抗原結合断片が本明細書に開示される。一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、表面発現PD-L1に特異的に結合する。

【0014】

第1の構成では、配列番号1によって定義されるhPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体1D05と競合する抗体またはその断片であって、当該抗体または断片が、モチーフX₁GSGX₂YGX₃X₄FDを含むCDRH3を含むV_Hドメインを含み、式中、X₁、X₂、およびX₃が独立して任意のアミノ酸であり、X₄が存在するかまたは存在しないかのいずれかであり、存在する場合、任意のアミノ酸であり得る、抗体またはその断片が提供される。

30

【0015】

第2の構成では、hPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体1D05と競合する抗体またはその断片であって、当該抗体または断片が、配列番号29もしくは32のCDRH3配列、または6個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号29もしくは32のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含む、抗体またはその断片が提供される。

40

【0016】

第3の構成では、抗体1D05が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片が提供される。

【0017】

第4の構成では、hPD-L1への結合について抗体1D05と競合する、抗体またはその断片が提供される。

【0018】

第5の構成では、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体またはその断片

50

を含む、二重特異性抗体または融合タンパク質が提供される。

【0019】

第6の構成では、hPD-L1媒介性疾患または病的状態の治療または予防における使用のための、他の任意の構成、実施形態、または概念に記載の抗体または断片が提供される。

【0020】

第7の構成では、ヒトにおけるhPD-L1媒介性疾患または病的状態を治療または予防するためにヒトに投与するための医薬品の製造における、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体または断片が提供される。

【0021】

第8の構成では、ヒトにおけるhPD-L1媒介性疾患または病的状態を治療または予防する方法であって、治療有効量の、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体または断片を当該ヒトに投与することを含み、当該hPD-L1媒介性疾患または病的状態が、それにより治療または予防される、方法が提供される。

【0022】

第9の構成では、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の断片の抗体と、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体と、を含む、医薬組成物が提供される。

【0023】

第10の構成では、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の断片の抗体と、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体と、を含む、医薬組成物を含むキットが提供される。

【0024】

第11の構成では、患者におけるPD-1/PD-L1相互作用を調節する方法であって、有効量の、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体または断片を当該患者に投与することを含む、方法が提供される。

【0025】

第12の構成では、患者におけるPD-L1活性を阻害する方法であって、有効量の、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体または断片を当該患者に投与することを含む、方法が提供される。

【0026】

第13の構成では、動物（例えば、ヒト）における増殖性疾患を治療する方法であって、有効量の、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体または断片を当該患者に投与することを含む、方法が提供される。

【0027】

第14の構成では、試料中のPD-L1発現を検出する方法であって、試料を、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体または断片と接触させることを含む、方法が提供される。

【0028】

第15の構成では、生体試料を、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体または断片と接触させて、試料中に存在するPD-L1との複合体を形成することと、生体試料中の複合体の存在、不在、またはレベルを測定することと、を含む、方法が提供される。

【0029】

第16の構成では、試料中のPD-L1発現を検出する方法であって、試料を、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体または断片と接触させることを含む、方法が提供される。

【0030】

第17の構成では、生体試料を、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体または断片と接触させて、試料中に存在するPD-L1との複合体を形成することと、生体試料中の複合体の存在、不在、またはレベルを測定することと、を含む、方法が提供さ

10

20

30

40

50

れる。

【0031】

第18の構成では、PD-L1のための結合パートナーを同定するための方法であって、当該方法は、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体または断片を使用して、PD-L1を含む無傷のタンパク質複合体を免疫沈降することを含む、方法が提供される。

【0032】

第19の構成では、変化したPD-L1発現に関連するヒト対象における疾患を診断する方法であって、当該ヒト対象からの生体試料を、他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体と接触させて、抗体と試料中に存在するPD-L1との複合体を形成するステップと、複合体の量を検出するステップと、を含む、方法が提供される。

10

【0033】

第20の構成では、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体または断片のCDRH3をコードする核酸が提供される。

【0034】

第21の構成では、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の抗体または断片のVHドメインおよび／またはVLドメインをコードする核酸が提供される。

【0035】

第22の構成では、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の核酸を含むベクターであって、任意に、当該ベクターはCHOまたはHEK293ベクターであってもよい、ベクターが提供される。

20

【0036】

第23の構成では、任意の他の構成、実施形態、または概念に記載の核酸、または任意の他の構成、実施形態、または概念に記載のベクターを含む宿主が提供される。

【0037】

免疫サイトカイン

第1の構成では、免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む免疫サイトカインであって、重鎖が、N末端からC末端方向に、

a) CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含むVHドメインと、

b) 重鎖定常領域と、を含み、

30

軽鎖が、N末端からC末端方向に、

c) CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含むVLドメインと、

d) 軽鎖定常領域(CL)と、

e) 任意に、リンカー(L)と、

f) IL-2サイトカインと、を含み、

VHドメインおよびVLドメインが、配列番号1によって定義されるhPD-L1に特異的に結合する抗原結合部位によって構成され、hPD-L1への結合について抗体1D05と競合し、

免疫サイトカインが、モチーフX₁GSGX₂YGX₃X₄FDを含むCDRH3を含むVHドメインを含み、式中、X₁、X₂、およびX₃が独立して任意のアミノ酸であり、X₄が存在するかまたは存在しないかのいずれかであり、存在する場合、任意のアミノ酸であり得る、免疫サイトカインが提供される。

40

【0038】

第2の構成では、免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む免疫サイトカインであって、重鎖が、N末端からC末端方向に、

a) CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含むVHドメインと、

b) 重鎖定常領域と、を含み、

軽鎖が、N末端からC末端方向に、

c) CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含むVLドメインと、

d) 軽鎖定常領域(CL)と、

50

- e) 任意に、リンカー (L) と、
- f) IL-2 サイトカインと、を含み、

V_HドメインおよびV_Lドメインが、hPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体1D05と競合する抗原結合部位によって構成され、当該抗体または断片が、配列番号29もしくは32のCDRH3配列、または6個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号29もしくは32のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含む、抗体またはその断片が提供される。

【0039】

第3の構成では、免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む免疫サイトカインであって、重鎖が、N末端からC末端方向に、

- a) CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含むV_Hドメインと、
- b) 重鎖定常領域と、を含み、

軽鎖が、N末端からC末端方向に、

- c) CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含むV_Lドメインと、
- d) 軽鎖定常領域 (C_L) と、
- e) 任意に、リンカー (L) と、
- f) IL-2 サイトカインと、を含み、

V_HドメインおよびV_Lドメインが、hPD-L1に特異的に結合する抗原結合部位によって構成され、

V_Hドメインが、12～20個のアミノ酸のCDRH3を含み、ヒトV_H遺伝子セグメント、ヒトD遺伝子セグメント、およびヒトJ_H遺伝子セグメントの組換えに由来し、当該ヒトJ_H遺伝子セグメントが、IGHJ5 (例えば、IGHJ5*02) である、免疫サイトカインが提供される。

【0040】

第4の構成では、免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む免疫サイトカインであって、重鎖が、N末端からC末端方向に、

- a) CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含むV_Hドメインと、
- b) 重鎖定常領域と、を含み、

軽鎖が、N末端からC末端方向に、

- c) CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含むV_Lドメインと、
- d) 軽鎖定常領域 (C_L) と、
- e) 任意に、リンカー (L) と、
- f) IL-2 サイトカインと、を含み、

V_HドメインおよびV_Lドメインが、抗体1D05が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する抗原結合部位によって構成されている、免疫サイトカインが提供される。

【0041】

第5の構成では、免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む免疫サイトカインであって、重鎖が、N末端からC末端方向に、

- a) CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含むV_Hドメインと、
- b) 重鎖定常領域と、を含み、

軽鎖が、N末端からC末端方向に、

- c) CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含むV_Lドメインと、
- d) 軽鎖定常領域 (C_L) と、
- e) 任意に、リンカー (L) と、
- f) IL-2 サイトカインと、を含み、

V_HドメインおよびV_Lドメインが、hPD-L1への結合について抗体1D05と競合する抗原結合部位によって構成されている、免疫サイトカインが提供される。

【0042】

第6の構成では、hPD-L1媒介性疾患または病的状態の治療または予防における使

10

20

30

40

50

用のための、他の任意の構成、実施形態、または態様に記載の免疫サイトカインが提供される。

【0043】

第7の構成では、ヒトにおけるhPD-L1媒介性疾患または病的状態を治療または予防するためにヒトに投与するための医薬品の製造における、任意の他の構成、実施形態、または態様に記載の免疫サイトカインが提供される。

【0044】

第8の構成では、ヒトにおけるhPD-L1媒介性疾患または病的状態を治療または予防する方法であって、治療有効量の、任意の他の構成、実施形態、または態様に記載の免疫サイトカインを当該ヒトに投与することを含み、当該hPD-L1媒介性疾患または病的状態が、それにより治療または予防される、方法が提供される。

【0045】

第9の構成では、任意の他の構成、実施形態、または態様に記載の免疫サイトカインと、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体と、を含む、医薬組成物が提供される。

【0046】

第10の構成では、任意の他の構成、実施形態、または態様に記載の免疫サイトカインと、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体と、を含む、医薬組成物を含むキットが提供される。

【0047】

第11の構成では、任意の他の構成、実施形態、または態様に記載の免疫サイトカインの重鎖および／または軽鎖をコードする核酸が提供される。

【0048】

第12の構成では、任意の他の構成、実施形態、または態様に記載の免疫サイトカインの重鎖および／または軽鎖をコードする核酸を含むベクターが提供される。

【0049】

第13の構成では、任意の他の構成、実施形態、または態様に記載の核酸、または任意の他の構成、実施形態、または態様に記載のベクターを含む宿主が提供される。

【0050】

抗ICOS二重特異性抗体

第1の構成では、ICOS（例えば、ヒトICOS）と別の標的抗原とを結合させる（任意に、それらに対する特異性を有していてもよい）多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体または二重結合抗体）が提供される。

【0051】

第2の構成では、本明細書に記載される多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体と、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体と、を含む組成物が提供される。

【0052】

第3の構成では、神経疾患、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫（例えば、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫、または例えばウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）および軟部肉腫）から選択される、疾患または病的状態の治療または予防における使用のための、本明細書に記載される多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体が提供される。

【0053】

第4の構成では、神経疾患、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、および

10

20

30

40

50

びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（例えば、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫、または例えばウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）および軟部肉腫）から選択される、ヒトにおける疾患または病的状態の治療または予防のための当該ヒトへの投与のための医薬品の製造における、本明細書に記載される多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体の使用が提供される。

【0054】

第5の構成では、神経疾患、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫（例えば、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫、または例えばウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）および軟部肉腫）から選択される、ヒトにおける疾患または病的状態を治療または予防する方法であって、治療有効量の、本明細書に記載される多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体を当該ヒトに投与することを含み、当該疾患または病的状態が、それにより治療または予防される、方法が提供される。

【0055】

第6の構成では、本明細書に記載される多重特異性抗体の重鎖および／または軽鎖をコードする核酸が提供される。

【0056】

第7の構成では、本明細書に記載される多重特異性抗体の重鎖および／または軽鎖をコードする核酸を含むベクターが提供される。

【図面の簡単な説明】

【0057】

【図1】樹状細胞-T細胞混合リンパ球反応における選択された抗体の分析。同種異系の精製されたCD3⁺ T細胞の添加および抗体の滴定の前に、単球をGM-CSFおよびIL-4と共に7日間培養した。IFN γ 産生の分析のために5日目に上清を採取した。1回の実験からのデータを示す。84G09について、1つの複製が失敗したため、濃度当たり単一の点が存在することに留意されたい。

【図2】PD-1受容体を用いたPD-L1の直接中和ELISA。ベンチマーク抗PD-L1抗体およびアイソタイプ対照と比較した、1D05および84G09の中和プロファイル。データは、3つの独立した実験を代表する

【図3】PD-1受容体によるヒトPD-L1 CHO-S FACSの中和。ベンチマーク抗PD-L1抗体およびアイソタイプ対照と比較した、1D05および84G09の中和プロファイル。データは、3つの独立した実験を代表する

【図4】CD80受容体によるヒトPD-L1 CHO FACSの中和。ベンチマーク抗PD-L1抗体およびアイソタイプ対照と比較した、1D05および84G09の中和プロファイル。データは、3つの独立した実験を代表する

【図5】PD-L1に結合するが、PD-L2に結合しない鉛抗体。鉛抗体は、プレートに結合したPD-L1に結合する（図5a）が、PD-L2には結合しない（図5b）。抗PD-L2抗体を対照として使用した。データは、615nmでの時間分解蛍光単位として表される。データは、2つの独立した実験を代表する

【図6】鉛抗体は、樹状細胞-T細胞混合リンパ球反応においてIFN γ 産生を誘導する。未成熟樹状細胞を、抗体の存在下で同種異系CD4⁺ T細胞と共に5日間共培養した。IFN γ をELISAによって上清中で測定した。データは、3つの独立した実験を代表する。B1は、ベンチマーク抗体を指す

【図7】鉛抗体は、樹状細胞上の天然に発現されたPD-L1に結合する。樹状細胞は、GM-CSFおよびIL-4を有する単球前駆体から生成され、鉛抗体（a）1D05お

10

20

30

40

50

よび (b) 84G09 で染色され、アイソタイプ対照は、AlexaFluor647 で直接標識された。示されたデータは、4 人のドナーを代表する 1 人のドナーからのデータである

【図 8 a】PD-1 受容体を用いた PD-L1 の直接中和 ELISA。ベンチマーク抗 PD-L1 抗体およびアイソタイプ対照と比較した、KM121 ヒットの中和プロファイル。データは、3 つの独立した実験を代表する

【図 8 b】PD-1 受容体を用いた PD-L1 の直接中和 ELISA。ベンチマーク抗 PD-L1 抗体と比較した、KM122 鉛候補分子の中和プロファイル。データは、単一の実験からのものである

【図 8 c】PD-1 受容体を用いた PD-L1 の直接中和 ELISA。ベンチマーク抗 PD-L1 抗体と比較した、KM122 鉛候補分子 416E01 の中和プロファイル。データは、単一の実験からのものである

10

【図 9 a】CD80 受容体を用いた PD-L1 の直接中和 ELISA。ベンチマーク抗 PD-L1 抗体およびアイソタイプ対照と比較した、KM121 ヒットの中和プロファイル。データは、3 つの独立した実験を代表する

【図 9 b】CD80 受容体を用いた PD-L1 の直接中和 ELISA。ベンチマーク抗 PD-L1 抗体と比較した、KM122 鉛候補分子の中和プロファイル。データは、単一の実験からのものである

【図 9 c】CD80 受容体を用いた PD-L1 の直接中和 ELISA。ベンチマーク抗 PD-L1 抗体と比較した、KM122 鉛候補分子 416E01 の中和プロファイル。データは、単一の実験からのものである

20

【図 10】第 1 の抗原として PD-L1、および第 2 の抗原として TIGIT を用いた、SPR による二重特異性結合。A) 二重特異性 1、B) 二重特異性 2、C) 二重特異性 3、D) 二重特異性 4。各二重特異性構築物の詳細な構築情報については、表 6 を参照されたい。

【図 11】第 1 の抗原として TIGIT、および第 2 の抗原として PD-L1 を用いた、SPR による二重特異性結合。A) 二重特異性 1、B) 二重特異性 2、C) 二重特異性 3、D) 二重特異性 4。各二重特異性構築物の詳細な構築情報については、表 6 を参照されたい。

【図 12 (a)】遊離 IL-2 の等モル濃度と比較した、IL-2R $\alpha\beta\gamma$ 発現 TF-1 細胞の増殖を誘導する免疫サイトカイン構築物の能力。示されたデータは、3 つの実験を代表する単一の実験からのものである

30

【図 12 (b)】遊離 IL-2 の等モル濃度と比較した、IL-2R $\beta\gamma$ 発現 TF-1 細胞の増殖を誘導する免疫サイトカイン構築物の能力。示されたデータは、4 つの実験を代表する単一の実験からのものである

【図 13 (a)】中和 ELISA で測定した場合、PD-1 と PD-L1 との間の相互作用を中和する 1D05 抗体の能力は、IL-2 の抗体への融合による影響を受けない。示されたデータは、3 つの実験を代表する単一の実験からのものである

【図 13 (b)】中和 ELISA で測定した場合、CD80 と PD-L1 との間の相互作用を中和する 1D05 抗体の能力は、IL-2 の抗体への融合による影響を受けない。示されたデータは、3 つの実験を代表する単一の実験からのものである

40

【図 14】NOD/SCID: Xenograft のインビボ有効性研究についての、平均群および個々の動物の成長曲線

【図 14 (a)】群平均 ($n=8/9$) 腫瘍成長曲線を示し、このグラフでは、動物が腫瘍サイズのために研究から除外された場合、最後の読み取りが残りの研究に用いられる。斜線部分は、最後の読み取りが使用されている領域を示している

【図 14 (b) - (e)】は、各群の個々の動物の腫瘍成長曲線を示す。(b) A375 腫瘍のみ、(c) 6:1 の比率で CD4⁺/8⁺ T 細胞と同時注射された A375 腫瘍。パネル (d) および (e) について、A375 腫瘍細胞は、6:1 の比率で CD4⁺/8⁺ T 細胞と同時注射された。(d) 10mg/kg のアイソタイプ対照抗体、および (e)

50

）10mg/kgでの抗PD-L1抗体1D05。投薬は、腫瘍/T細胞移植の1時間後、ならびにグラフ上に点線で示される3、6、8、および10日目に行われた。

【図15】未だに研究中である動物の数を示す、NOD/SCID: Xenograftのインビボ有効性研究のKaplan-Meierプロット。このプロットは、腫瘍細胞単独のA375群（n=9）と比較した、CD4⁺/CD8⁺ T細胞が腫瘍細胞（T細胞/A375）と同時に注入した場合（n=9）の研究時間のわずかな増加を示す。アイソタイプ対照（T細胞/A375-アイソタイプ（n=8））による治療は、抗体を伴わずに腫瘍細胞と同時に注射されたT細胞と比較した場合、生存期間に影響を及ぼさなかった。10mg/kgの抗PD-L1抗体1D05（T細胞/A375-抗PD-L1）（n=8）での治療は、アイソタイプ対照群と比較した場合、研究時間を有意に増加させた。投薬は、T細胞/腫瘍細胞の注射の1時間後、ならびにグラフ上に点線で示される3、6、8、および10日目に行われた。

10

【図16】免疫サイトカインでの投薬に応答したリンパ球の増殖。空腹時血液試料を、治療前（0）、ならびに治療後2、5、および7日目にEDTA処置管に採取した。細胞数をBayer Advia 120によって測定した。結果は、リンパ球数の倍数変化として表される

【図17】免疫サイトカインでの投薬に応答した標準的な血液学的パラメータの分析。空腹時血液試料を、治療前および治療後7日目にEDTA処置管に採取した。ヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球数、および血小板数の分析は、Bayer Advia 120を使用して行った。結果は、投薬後7日目のパラメータにおけるパーセント変化として表される

20

【図18】免疫サイトカイン分子を投薬したカニクイザルの血漿中のサイトカインレベル。血漿試料を、治療前（PT）および投薬後3日目（D3）に得て、a) TNF- α 、b) IL-8、c) IL-6、d) IFN γ 、e) G-CSF、およびf) IL-2のレベルについてMSDによって分析した。棒が含まれていない場合、サイトカインレベルはアッセイの定量限界以下であった。いずれの時点でも、IL4、IL-5、およびIL-1 β はいずれの試料においても検出されなかったため、グラフに含まれていない

【図19】免疫サイトカイン分子を投薬したカニクイザルの血漿中の可溶性CD25のレベル。血漿試料を、治療前（PT）および投薬後3日目（D3）に得て、市販のELISAキットを使用して分析した。*は、定量限界（20,000pg/mL）を超えるレベルを示す

30

【図20】PBMCサブセットのフローサイトメトリー解析。赤血球溶解および固定の前に、a) T細胞、ならびにb) B細胞、NK細胞、好中球、および単球のマーカーについて全血を染色した。データは、投薬後5日目の細胞数の倍数変化として表される。使用不可能な試料のために、1D05 LC D9-7 ICKのデータが欠落している

【図21】免疫サイトカインの薬物動態（PK）解析。96時間にわたる様々な時点で採取した血液試料から血清を調製した。パネルa) およびb) では、血清を、PD-L1でコーティングしたプレート上でインキュベートし、ビオチン化抗ヒトFc検出抗体およびストレプトアビジン標識ユーロピウムで検出した免疫サイトカインを検出した。パネルc) およびd) では、血清を、PD-L1でコーティングしたプレート上でインキュベートし、ビオチン化抗ヒトIL-2抗体およびストレプトアビジン標識ユーロピウムで検出した免疫サイトカインを検出した。結果は、ng/mLとして表される

40

【図22a】ヒトIgG1フォーマットの抗PD-L1抗体による単球-T細胞共培養アッセイにおけるIFN γ 産生の誘導。各データ点は、少なくとも3つの独立した実験からの平均倍数誘導 $\pm$ 標準誤差を表す

【図22b】ヒトIgG4（PE）フォーマットの抗PD-L1抗体による単球-T細胞共培養アッセイにおけるIFN γ 産生の誘導。各データ点は、2つの独立した実験からの平均倍数誘導 $\pm$ 標準偏差を表す

【図23（a）】マウスT細胞ハイブリドーマアッセイにおけるIL-2の誘導。上清の回収およびIL-2放出の分析の前に、ヒトPD-L1でトランスフェクトされたLK3

50

5. 2細胞にオボアルブミンペプチドを添加し、抗PD-L1抗体または対照の存在下でDO-11-10 T細胞ハイブリドーマ細胞と一晚共培養した。各データ点は、3つの独立した実験からの、バックグラウンド補正された平均IL-2放出±標準偏差を示す

【図23(b)】マウスT細胞ハイブリドーマアッセイにおけるIL-2の誘導。上清の回収およびIL-2放出の分析の前に、ヒトPD-L1でトランスフェクトされたLK35.2細胞にオボアルブミンペプチドを添加し、ICOS/PD-L1二重特異性分子または個々の抗体の存在下でDO-11-10 T細胞ハイブリドーマ細胞と一晚共培養した。各データ点は、3つの独立した実験からの、バックグラウンド補正された平均IL-2放出±標準偏差を示す

【図24(a)】DC-T細胞MLRアッセイにおけるIFN γ の誘導。単球由来樹状細胞(DC)を大腸菌LPSで活性化し、同種異系CD3⁺ T細胞と1:1の比率で共培養した。5日間の共培養後、IFN γ をDELFIAアッセイによって測定した。データは、単一の実験からのものである

【図24(b)】DC-T細胞MLRアッセイにおけるIL-2の誘導。単球由来樹状細胞(DC)を大腸菌LPSで活性化し、同種異系CD3⁺ T細胞と1:1の比率で共培養した。3日間の共培養後、IL-2をDELFIAアッセイによって測定した。データは、単一の実験からのものである

【図25】方法1を使用したPD-L1/TIGIT AlphaScreen (登録商標) 結合アッセイにおけるFIT-Ig分子、親単一特異性抗体、および対照抗体の滴定。抗体をPD-L1およびTIGITタンパク質と共に1時間インキュベートした後に、AlphaScreen (登録商標) アクセプタービーズを1時間添加し、続いて蛍光検出の前にAlphaScreen (登録商標) ドナービーズをさらに1時間添加した。A) FIT-Ig分子の滴定、B) 単一特異性抗体の滴定。示されたデータは、唯一の実験の代表である

【図26】方法2を使用したPD-L1/TIGIT AlphaScreen (登録商標) 結合アッセイにおけるFIT-Ig分子、親単一特異性抗体、および対照抗体の滴定。AlphaScreen (登録商標) ドナーおよびアクセプタービーズを、PD-L1およびTIGITタンパク質でそれぞれ1時間コーティングした後、抗体を1時間添加し、続いて蛍光を検出した。A) FIT-Ig分子の滴定、B) 単一特異性抗体の滴定。示されたデータは、唯一の実験の代表である

【図27】フローサイトメトリーによるPD-L1 / TIGIT細胞動員アッセイにおけるFIT-Ig分子および対照抗体の滴定。CHOヒトPD-L1およびHEKヒトTIGITをそれぞれCellTrace (商標) Far RedおよびCellTrace (商標) Violetで染色し、蛍光検出および二重陽性集団の同定の前に抗体の存在下で共培養した。示されたデータは、唯一の実験の代表である

【図28】免疫サイトカインでの投薬に応答したリンパ球の増殖。空腹時血液試料を、治療前(0)、ならびに治療後2、5、および7、10、14、および23日目にEDTA処置管に採取した。細胞数をBayer Advia 120によって測定した。結果は、リンパ球数の倍数変化として表される

【図29】免疫サイトカイン分子を投薬したカニクイザルの血漿中の可溶性CD25のレベル。血漿試料を、治療前(0)、ならびに投薬後3、7、および10日目に得て、市販のELISAキットを使用して分析した。

【図30】免疫サイトカインでの投薬に応答した標準的な血液学的パラメータの分析。空腹時血液試料を、治療前(0)、ならびに治療後2、5、7、10、14、および23日目にEDTA処置管に採取した。A) ヘモグロビン、B) ヘマトクリット、C) 赤血球数、およびD) 血小板数の分析は、Bayer Advia 120を使用して行った。結果は、各時点のパラメータにおける倍数変化として表される

【図31】免疫サイトカイン分子を投薬したカニクイザルの血漿中のサイトカインレベル。血漿試料を、治療前(0)、ならびに投薬後1、3、7、10、14、および23日目に得て、a) TNF- α 、b) IL-8、c) IL-6、d) IFN γ 、e) G-CSF

10

20

30

40

50

、f) IL-2、g) IL-4、およびh) IL-5のレベルについてMSDによって分析した。棒が含まれていない場合、サイトカインレベルはアッセイの定量限界以下であった。IL-1 β はいずれの試料においても検出されなかったため、グラフに含まれていない

【図32】免疫サイトカインの薬物動態(PK)解析。96時間にわたる様々な時点で採取した血液試料から血清を調製した。血清を、PD-L1でコーティングしたプレート上でインキュベートし、ビオチン化抗ヒトFc γ R1抗体およびストレプトアビジン標識ユーロピウムで検出した免疫サイトカインを検出した。結果は、ピーク濃度%として表される

【図33】ICK分子による特異的T細胞サブセットの増殖。全血を染色のための抗体と共にインキュベートした後に、赤血球溶解、固定、およびフローサイトメトリーによる分析を行った。結果は、各時点での(a)CD4⁺T細胞および(b)CD8⁺T細胞の絶対数における倍数変化として表される。

【図34】レポーター細胞アッセイにおける鉛抗体のエフェクター機能。PD-L1抗体の存在下で、NFAT誘導ルシフェラーゼおよびFc γ RIIIaを発現するように操作されたJurkat細胞と共にPD-L1発現標的細胞(ES2)を一晩共培養した。各データ点は、相対発光量(relative light units)の平均倍数誘導 $\pm$ 標準偏差を示す。データは、3つの独立した実験のうちの1つの代表的な実験からのものである

【図35】細胞発現カニクイザルPD-L1への鉛抗体の結合。抗体を、カニクイザルPD-L1を発現するCHO細胞上で滴定し、結合した抗体を抗ヒトIgG AlexaFluor 647で検出した。データは、単一の実験からのものである

【図36(a)] PD-1受容体によるヒトPD-L1 CHO-S FACSの中和。ベンチマーク抗PD-L1抗体およびアイソタイプ対照と比較した、鉛抗体の中和プロファイル。2つの独立した実験を表すデータ

【図36(b)] CD80受容体によるヒトPD-L1 CHO-S FACSの中和。ベンチマーク抗PD-L1抗体およびアイソタイプ対照と比較した、鉛抗体の中和プロファイル。2つの独立した実験を表すデータ

【図37】ヒトIgG1フォーマットの抗PD-L1抗体による単球-T細胞共培養アッセイにおけるIFN γ 産生の誘導。各データ点は、少なくとも3つの独立した実験からのIFN γ の平均倍数誘導 $\pm$ 標準誤差を表す

【発明を実施するための形態】

【0058】

1. 定義

本明細書において別途定義されない限り、科学的小および技術的小用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有するものとする。さらに、文脈によって別途要求されない限り、単数形的小用語は複数形を含み、複数形的小用語は単数形を含むものとする。

【0059】

単数形的小用語「a」、「an」、および「the」は、文脈が別途明確に示さない限り、複数の指示対象を含む。同様に、「または」という語は、文脈が別途明確に示さない限り、「および」を含むことが意図される。本明細書に記載されるものと同様または等価である方法および材料が本開示の実践または試験において使用され得るものの、好適な方法および材料が以下に記載される。略語「例えば(e.g.)」は、ラテン語のexempli gratiaに由来し、本明細書において非限定的な例を示すために使用される。したがって、略語「e.g.」は、「例えば(for example)」という用語と同義である。

【0060】

明細書および特許請求の範囲において、「約」という用語は、例えば、本開示の実施形態に記載する際に使用される組成物中の成分の量、濃度、容積、処理温度、処理時間、収率、流速、圧力、および同様の値、ならびにそれらの範囲を修飾するために使用される。

「約」という用語は、例えば、化合物、組成物、濃縮物、または使用製剤を作製するための典型的な測定および取り扱い手順を通して、これらの手順における偶発的なエラーを通

10

20

30

40

50

して、製造、供給源、または当該方法を実施するために使用される開始材料または成分中の純度の違い、および同様の直接的な検討事項を通して生じ得る数量の変化を指す。「約」という用語はまた、特定の初期濃度または混合物を有する製剤の老化によって異なる量、および特定の初期濃度または混合物を有する製剤を混合または処理することによって異なる量も包含する。「約」という用語によって修飾されている場合、添付の特許請求の範囲は、これらの量と等価のものを含む。

【0061】

本明細書で使用される場合、「投与する」または「投与」は、粘膜送達、皮内送達、静脈内送達、筋肉内送達、および／または本明細書に記載されるかもしくは当該技術分野で既知である任意の他の方法によって、体外に存在する物質（例えば、本明細書に提供される抗h p D - L 1抗体）を患者に注射するか、または別様に物理的に送達する行為を指す。疾患またはその症状が治療される場合、物質の投与は、典型的には、疾患またはその症状の発症後に起こる。疾患またはその症状が予防される場合、物質の投与は、典型的には、疾患またはその症状の発症前に起こる。

【0062】

「抗体」、「免疫グロブリン」、または「Ig」という用語は、本明細書において交換可能に使用されてもよく、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、または前述のもの組み合わせ等の標的を認識し、免疫グロブリン分子の可変領域内の少なくとも1つの抗原認識部位でそれに特異的に結合する免疫グロブリン分子を意味する。本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、無傷のポリクローナル抗体、無傷のモノクローナル抗体、抗体断片（例えば、Fab、Fab'、F(ab')₂、およびFv断片）、一本鎖Fv(scFv)変異体、二重特異性抗体（二重結合抗体を含む）等の多重特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、抗体の抗原決定部分を含む融合タンパク質、ならびに所望の生物活性を呈する限り、抗原認識部位を含む任意の他の修飾免疫グロブリン分子を包含する。「抗体」という用語はまた、4つのポリペプチド鎖（2つの軽(L)鎖および2つの重(H)鎖）からなる約150kDaの分子量を有するY字形の糖タンパク質も指すことができる。アルファ(α)、デルタ(δ)、イプシロン(ε)、ガンマ(γ)、およびミュー(μ)のギリシャ文字で表される、5種類の哺乳動物Ig重鎖アイソタイプが存在する。重鎖のタイプは、抗体のクラス、すなわち、それぞれIgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMを定義する。γおよびαクラスは、定常ドメイン配列および機能の違いに基づき、サブクラス、例えば、IgG1、hIgG2、mIgG2A、mIgG2B、IgG3、IgG4、IgA1、およびIgA2にさらに分けられる。哺乳動物では、λとκの2種類の免疫グロブリン軽鎖が存在する。抗体の「可変領域」または「可変ドメイン」とは、抗体の重鎖または軽鎖のアミノ末端ドメインを指す。重鎖および軽鎖の可変ドメインは、それぞれ「V_H」および「V_L」と表すことができる。これらのドメインは、一般に、抗体の最も可変性の部分であり（同じクラスの他の抗体と比較して）、抗原結合部位を含有する。

【0063】

本明細書に記載される抗体は、オリゴクローナル抗体、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体（全長モノクローナル抗体を含む）、ラクダ化(camelised)抗体、キメラ抗体、CDR移植抗体、多重特異性抗体、二重特異性抗体（二重結合抗体を含む）、触媒抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、完全ヒト抗体、抗イディオタイプ抗体であり得、これらには、可溶性形態もしくは結合形態で標識され得る抗体、ならびにそれらの断片、変異型、または誘導体が、単独かまたは既知の技術によって提供される他のアミノ酸配列と組み合わせるかのいずれかで含まれ得る。抗体は、任意の種由来であってもよい。本明細書に記載される抗体は、裸であってもよく、または他の分子、例えば毒素、放射性同位体等にコンジュゲートされてもよい。

【0064】

「抗原結合ドメイン」、「抗原結合領域」、「抗原結合断片」という用語、および同様の用語は、抗原と相互作用し、抗原に対するその特異性および親和性を結合剤に付与する

10

20

30

40

50

アミノ酸残基を含む抗体の部分（例えば、相補性決定領域（CDR））を指す。抗原結合領域は、例えば、げっ歯類（例えば、ウサギ、ラット、またはハムスター）およびヒト等の任意の動物種に由来し得る。好ましくは、抗原結合領域は、ヒト起源のものである。

【0065】

本明細書に記載される抗原結合断片には、一本鎖Fv（scFv）、一本鎖抗体、ドメイン抗体、Fv断片、Fab断片、F(ab')断片、F(ab')₂断片、所望の生物活性を呈する抗体断片、ジスルフィド安定化可変領域(dsFv)、二量体可変領域（ダイアボディ）、抗イディオタイプ（抗Id）抗体（例えば、抗体に対する抗Id抗体）、細胞内抗体、直鎖抗体、一本鎖抗体分子、ならびに上記のいずれかの抗体断片およびエピトープ結合断片から形成された多重特異性抗体が含まれ得る。特に、本明細書に記載される抗体および抗体断片には、免疫グロブリン分子、および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な断片、すなわち抗原結合部位を含有する分子が含まれ得る。酵素パパイニンによる抗体の消化は、抗原結合活性を有さないが結晶化する能力を有する、「Fab」断片としても知られる2つの同一の抗原結合断片をもたらす。本明細書で使用される場合、「Fab」は、重鎖および軽鎖の各々の1つの定常ドメインおよび1つの可変ドメインを含む抗体の断片をいう。本明細書における「Fc領域」という用語は、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義し、天然配列Fc領域および可変Fc領域を含む。「Fc断片」とは、ジスルフィドによって共に保持された両方のH鎖のカルボキシ末端部分を指す。抗体のエフェクター機能は、Fc領域中の配列によって決定され、この領域はまた、特定の種類の細胞上に見出されるFc受容体（FcR）によって認識される。酵素ペプシンによる抗体の消化は、抗体分子の2つのアームが結合したままであり、2つの抗原結合部位を含む、F(ab')₂断片をもたらす。F(ab')₂断片は、抗原を架橋する能力を有する。

【0066】

本明細書で使用される場合、「Fv」とは、抗原認識および抗原結合部位の両方を保持する抗体の最小断片を指す。この領域は、密に非共有または共有会合した、1つの重鎖および1つの軽鎖可変ドメインのダイマーからなる。この構成において、各可変ドメインの3つのCDRが相互作用して、V_H-V_L二量体の表面上の抗原結合部位を定義する。集合的に、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、単一の可変ドメイン（または抗原に特異的な3つのCDRのみを含むFvの半分）でさえも、結合部位全体よりも低い親和性ではあるものの、抗原を認識し、結合する能力を有する。

【0067】

本明細書で使用される場合、「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均質な抗体の集団から得られた抗体を指し、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、少量で存在し得る天然型の変異および／または翻訳後修飾（例えば、異性化、アミド化）の可能性を除いて同一である。モノクローナル抗体は高度に特異的であり、単一の抗原決定基またはエピトープに向けられている。対照的に、ポリクローナル抗体調製物は、典型的に、異なる抗原決定基（またはエピトープ）に向けられた異なる抗体を含む。本明細書で使用される場合、「モノクローナル抗体」という用語は、無傷および全長のモノクローナル抗体の両方、ならびに抗体断片（例えば、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv）、一本鎖（scFv）変異体、抗体部分を含む融合タンパク質、および抗原認識部位を含む任意の他の修飾免疫グロブリン分子を包含する。さらに、「モノクローナル抗体」とは、ハイブリドーマ、ファージ選択、組換え発現、およびトランスジェニック動物を含むがこれらに限定されない任意の数の方法で作成された抗体を指す。

【0068】

本明細書におけるモノクローナル抗体には、重鎖および／または軽鎖の一部が、特定の抗体クラスまたはサブクラスに属する特定の種に由来する抗体中の対応する配列と同一または相同である一方で、残りの鎖（複数可）は、別の抗体クラスまたはサブクラスに属する別の種に由来する抗体中の対応する配列と同一または相同である、「キメラ」抗体（免疫グロブリン）、ならびに所望の生物活性を呈するかかる抗体の断片が含まれ得る。

【0069】

「ヒト化抗体」という用語は、非ヒト免疫グロブリン（ドナー抗体）由来の「超可変領域」が、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）における超可変領域由来の残基に取って代わる、キメラ抗体のサブセットを指す。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変領域のうちの実質的に全てを含み、超可変ループのうちの実質的に全てが、非ヒト免疫グロブリン配列のものに対応し、フレームワーク領域の全てまたは実質的に全てが、ヒト免疫グロブリン配列のものであるが、ただし、フレームワーク領域は、抗体性能、例えば結合親和性、異性化、免疫原性等を改善する1つ以上の置換を含み得る。

【0070】

「二重特異性抗体」という用語は、2つの標的分子に対する特異性を含む抗体を意味し、DVD-Ig (DiGiammarino et al., 「Design and generation of DVD-Ig (商標) molecules for dual-specific targeting」, Meth. Mo. Biol., 2012, 889, 145-156を参照されたい)、mAb² (WO2008/003103を参照されたい、mAb²型の記載が本明細書に参照により組み込まれる)、FIT-Ig (WO2015/103072、FIT-Ig骨格の記載が本明細書に参照により組み込まれる)、mAb-dAb、ドック・ロック、Fab-アーム交換、SEEDbody、Triomab、LUZ-Y、Fcab、κλ-body、直交Fab、scDiabody-Fc、diabody-Fc、tandem scFv-Fc、Fab-scFv-Fc、Fab-scFv、細胞内抗体、BiTE、ダイアボディ、DART、TandAb、scDiabody、scDiabody-CH₃、Diabody-CH₃、トリプルボディ (Triple body)、ミニ抗体、ミニボディ、TriBiミニボディ、scFv-CH₃ KIH、scFv-CH-CL-scFv、F(ab')₂-scFv、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、4価のHCab、ImmTAC、ノブ・イン・ホール (knobs-in-holes)、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、電荷対、共通の軽鎖を有する電荷対、DT-IgG、DutaMab、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、IgG(L,H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgG(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv₄-Ig、ならびにzybody等のフォーマットが含まれるが、これらに限定されない。二重特異性のフォーマットの概説については、Spiess, C., et al., Mol. Immunol. (2015)を参照されたい。別の実施形態では、二重特異性分子は、別の非Igフォーマット、例えば、T細胞受容体結合ドメイン、免疫グロブリンスーパーファミリードメイン、無顎類可変リンパ球受容体、フィブロネクチンドメイン (例えば、Adnectin (商標))、抗体定常ドメイン (例えば、CH₃ドメイン、例えば、Fcab (商標)のCH₂および/またはCH₃) (当該定常ドメインは、機能的CH₁ドメインではない)、scFv、(scFv)₂、sc-diabody、scFab、CTLA-4から選択される骨格に由来するセンチリン (centyrin) およびエピトープ結合ドメイン (Evibody (商標))、リポカリンドメイン、タンパク質AのZドメイン等のタンパク質A (例えば、Affibody (商標) またはSpA)、Aドメイン (例えば、Avimer (商標) またはMaxibody (商標))、熱ショックタンパク質 (GroEIおよびGroESに由来するエピトープ結合ドメイン等)、トランスフェリンドメイン (例えば、トランスボディ)、アンキリンリピートタンパク質 (例えば、DARPin (商標))、ペプチドアプタマー、C型レクチンドメイン (例えば、Tetranectin (商標))、ヒトγ-クリスタリンまたはヒトユビキチン (アフィリン)、PDZドメイン、サソリ毒、ならびにヒトプロテアーゼ阻害剤のクーニッツ型ドメインに融合した抗体を含む。

【0071】

一実施形態では、二重特異性抗体は、mAb²である。mAb²は、修飾された定常領

10

20

30

40

50

域に融合した、無傷抗体由来の V_H および V_L ドメインを含み、これは、「Fcab」として知られる抗原結合部位を形成するように操作されている。Fcab/mAb²フォーマットの背景にある技術は、WO2008/003103により詳細に記載され、mAb²フォーマットの記載は、本明細書に参照により組み込まれている。

【0072】

一実施形態では、「二重特異性抗体」は、FIT-Igフォーマットを含まない。一実施形態では、「二重特異性抗体」は、mAb²フォーマットを含まない。一実施形態では、「二重特異性抗体」は、FIT-IgフォーマットまたはmAb²フォーマットのいずれも含まない。

【0073】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、「二重結合抗体」である。本明細書で使用される場合、「二重結合抗体」とは、両方の抗原結合ドメインが V_H/V_L 対によって形成されている二重特異性抗体であり、これには、FIT-Ig（本明細書に参照により組み込まれるWO2015/103072を参照されたい）、mAb-dAb、ドック・ロック、Fab-アーム交換、SEEDbody、Triomab、LUZ-Y、Fcab、 κ λ -body、直交Fab、scDiabody-Fc、diabody-Fc、tandem scFv-Fc、Fab-scFv-Fc、Fab-scFv、細胞内抗体、BiTE、ダイアボディ、DART、TandAb、scDiabody、scDiabody-CH3、Diabody-CH3、トリプルボディ（Triple body）、ミニ抗体、ミニボディ、scFv-CH3 KIH、scFv-CH-CL-scFv、F(ab')₂-scFv、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、4価のHCab、ImmTAC、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、電荷対、共通の軽鎖を有する電荷対、DT-IgG、DutaMab、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、IgG(L,H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgG(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、ならびにscFv4-Ig等が含まれるが、これらに限定されない。

【0074】

「超可変領域」、「CDR領域」、または「CDR」という用語は、配列が超可変性であり、及び／又は構造的に画定されたループを形成する抗体可変ドメインの領域を指す。一般に、抗体の抗原結合部位は、6つの超可変領域（ V_H において3つ（CDRH1、CDRH2、CDRH3）および V_L において3つ（CDRL1、CDRL2、CDRL3））を含む。抗体の重鎖および軽鎖のこれらの領域は、抗原結合特異性を抗体に付与する。CDRは、Kabatシステムに従って定義され得る（Kabat, E. A. et al., 1991, 「Sequences of Proteins of Immunological Interest」, 5th edit., NIH Publication no. 91-3242, U. S. Department of Health and Human Servicesを参照されたい）。Chothiaらによって考案されたシステム（Chothia, C. & Lesk, A. M., 1987, 「Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins」, J. Mol. Biol., 196, 901-917を参照されたい）およびIMGTシステム（Lefranc, M. P., 1997, 「Unique database numbering system for immunogenetic analysis」, Immunol. Today, 18, 50を参照されたい）等の他のシステムを使用してCDRを定義してもよい。抗体は、典型的には、3つの重鎖CDRおよび3つの軽鎖CDRを含む。CDR（複数可）という用語は、これらの領域の1つまたはいくつかを示すためにここで使用される。当業者は、命名法の異なるシステムを容易に比較し、特定の配列がCDRとして定義され得るかどうかを判定することができる。

10

20

30

40

50

【0075】

「ヒト抗体」は、ヒトによって産生された抗体のものに対応するアミノ酸配列を保有し、及び／又はヒト抗体を作製するための技術のいずれかを使用して作製された抗体であり、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を除外する。「特異的に結合する」という用語は、生物学的分子を含む分子の均質な集団の存在下で標的の存在を決定する、標的と抗体との間の結合等の測定可能および再現可能な相互作用を指す。例えば、標的（エピトープであり得る）に特異的に結合する抗体は、それが他の標的に結合するよりも大きい親和性、結合力で、より容易に、及び／又はより長くこの標的に結合する抗体である。一実施形態では、例えば、放射免疫測定法（RIA）によって測定した場合、無関係の標的に対する抗体の結合の程度は、標的に対する抗体の結合の約10%未満である。

10

【0076】

hPD-L1 抗原に特異的に結合する抗体またはその断片は、関連する抗原と交差反応性であり得る。好ましくは、hPD-L1 抗原に特異的に結合する抗体またはその断片は、他の抗原と交差反応しない（しかし、任意に、異なる種、例えばアカゲザルまたはマウスのPD-L1 と交差反応し得てもよい）。hPD-L1 抗原に特異的に結合する抗体またはその断片は、例えば、免疫アッセイ、BIACore（商標）、または当該技術分野で既知の他の技術によって同定され得る。抗体またはその断片は、放射免疫測定法（RIA）および酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）等の実験技術を使用して判定した場合、それが任意の交差反応性抗原に対するよりも高い親和性でhPD-L1 抗原に結合するときに、PD-L1 抗原に特異的に結合する。典型的には、特異的または選択的反応は、少なくとも2倍のバックグランドシグナルまたはノイズ、より典型的には10倍超（例えば、15倍超、20倍超、50倍超、または100倍超）のバックグラウンドである。抗体特異性に関する考察については、例えば、Paul, ed., 1989, *Fundamental Immunology Second Edition*, Raven Press, New Yorkの332～336頁を参照されたい。

20

【0077】

「脂肪族アミノ酸」という用語は、アミノ酸R基が非極性および疎水性であることを意味する。疎水性は、炭化水素鎖中のC原子の数が増加するにつれて増加する。グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシンは、脂肪族アミノ酸である。

【0078】

「芳香族アミノ酸」という用語は、アミノ酸R基が芳香族環系を含有することを意味する。フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファンは、芳香族アミノ酸である。

30

【0079】

「ヒドロキシル含有アミノ酸」という用語は、アミノ酸R基がヒドロキシル基を含有し、親水性であることを意味する。セリン、システイン、トレオニン、およびメチオニンは、ヒドロキシル含有アミノ酸である。

【0080】

「塩基性アミノ酸」という用語は、アミノ酸R基が窒素を含有し、中性pHで塩基性であることを意味する。ヒスチジン、リジン、およびアルギニンは、塩基性アミノ酸である。

【0081】

「環状アミノ酸」という用語は、アミノ酸R基が脂肪族環状構造を有することを意味する。プロリンは、唯一の環状脂肪族アミノ酸である。

40

【0082】

「酸性アミノ酸」という用語は、アミノ酸R基が極性であり、生理学的pHで負に帯電していることを意味する。アスパラギン酸およびグルタミン酸は、酸性アミノ酸である。

【0083】

「アミドアミノ酸」という用語は、アミノ酸R基がアミド基を含有することを意味する。アスパラギンおよびグルタミンは、アミドアミノ酸である。

【0084】

本明細書で使用される場合、「承認番号」および「販売承認番号」とは、特定の医療用

50

製品および／または組成物が機関の管轄エリアにおいて販売および／または発売されてもよいとその機関が判定した際に、規制機関によって発行された番号を指す。本明細書で使用される場合、「規制機関」とは、例えば、医療用製品および／または組成物の安全性および有効性の評価、ならびに所与のエリアにおけるかかる製品および／または組成物の発売／販売の制御を担う機関のうちの1つを指す。米国における食品医薬品局（FDA）および欧州における欧州医薬品庁（EMA）は、かかる規制機関のほんの2つの例に過ぎない。他の非限定的な例としては、SDA、MPA、MHPRA、IMA、ANMAT、Hong Kong Department of Health-Drug Office、CDSCO、Medsafe、およびKFDAが挙げられ得る。

【0085】

本明細書で使用される場合、「バイオマーカー」という用語は、目的の疾患を有する個体において差次的に発現される遺伝子、例えば、癌を有する個体において差次的に発現される遺伝子を指す。一実施形態では、PD-L1は、腫瘍中のその発現が、患者が特定の種類の治療に応答するかどうか、具体的には、患者がPD-L1を標的とする治療、例えば、抗PD-L1抗体を使用した免疫療法に応答するかどうかを示し得るバイオマーカーである。一実施形態では、PD-L1は、腫瘍中のその発現が、患者が特定の種類の治療に応答するかどうか、具体的には、患者がPD-1を標的とする治療、例えば、抗PD-1抗体を使用した免疫療法に応答するかどうかを示し得るバイオマーカーである。別の実施形態では、PD-L1は、遊離であってもよく、膜結合していてもよい。別の実施形態では、PD-L1は、固定されていても固定されていなくてもよい。

【0086】

本明細書で使用される場合、「緩衝液」とは、pHの強い変動を経ることなく、ある特定の量の酸または塩基を吸収することができる化学薬剤を指す。

【0087】

本明細書で使用される場合、「担体」という用語は、治療剤と共に投与される、希釈剤、アジュバント（例えば、フロイントアジュバント（完全および不完全））、賦形剤、またはビヒクルを指す。かかる薬学的担体は、滅菌液、例えば、石油、動物、植物、または合成起源のものを含む、水および油、例えばピーナツ油、大豆油、鉱物油、ゴマ油等であり得る。水は、医薬組成物が静脈内投与される場合の好ましい担体である。生理食塩水、ならびにデキストロースおよびグリセロール水溶液も、特に注射液用の液体担体として使用することができる。

【0088】

「化学療法剤」または「化学療法」という用語は、典型的には、腫瘍細胞が成長または増殖する能力を妨げることによって、癌細胞を破壊することを主な目的とする治療剤を指す。多くの異なる種類の化学療法剤が存在し、50種類を超える承認された化学療法剤が利用可能である。化学療法薬は、それらがどのように作用するかに基づいて分類され得る。アルキル化剤は、遺伝子の遺伝物質であるDNAを直接攻撃することによって癌細胞を殺滅する。シクロホスファミドは、アルキル化剤である。代謝拮抗剤は、DNAの産生を妨げ、細胞の成長および増殖を抑制する。代謝拮抗物質の例は、5-フルオロウラシル（5-FU）である。抗腫瘍抗生物質は、土壌中の真菌等の天然物質から作られる。それらは、DNAおよび細胞タンパク質の産生を含む重要な細胞機能を妨げる。ドキソルビシンおよびブレオマイシンは、化学療法剤のこの群に属する。植物アルカロイドは、細胞が正常に分裂することを防ぐ。ビンブラスチンおよびビンクリスチンは、ツルニチニソウの植物から得られる植物アルカロイドである。ステロイドホルモンは、ホルモンに依存するいくつかの癌の成長を遅らせる。例えば、タモキシフェンは、成長のためにホルモンエストロゲンに依存する乳癌を治療するために使用される。PARP阻害剤等のDNA損傷応答（DDR）阻害剤は、一本鎖または二本鎖切断後のDNA修復機構を遮断する。

【0089】

化学療法剤の例としては、アドリマイシン、ドキソルビシン、5-フルオロウラシル、シトシンアラビノシド（Ara-C）、シクロホスファミド、チオテパ、タキソテール

10

20

30

40

50

(ドセタキセル)、ブスルファン、シトキシン (Cytosine)、タキソール、メトトレキサート、シスプラチン、メルファラン、ビンブラスチン、ブレオマイシン、エトポシド、イホスファミド、マイトマイシンC、ミトキサントロン、ビンクレイステイン (Vincristine)、ビノレルビンカルボプラチン、テニポシド、ダウノマイシン、カルミノマイシン、アミノプテリン、ダクチノマイシン、マイトマイシン、エスペラミシン (米国特許第4,675,187号を参照されたい)、メルファラン、および他の関連するナイトロジェンマスタードが挙げられる。好適な毒素および化学療法剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Ed. (MacK Publishing Co. 1995) および Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 7th Ed. (MacMillan Publishing Co. 1985) に記載されている。化学療法剤の別の例は、抗体とコンジュゲートされた毒素のクラスであり、ピロロベンゾジアゼピン、マイタンサノイド (maytansanoid)、カリケアマイシン等が含まれるがこれらに限定されない。他の好適な毒素および／または化学療法剤は、当業者に既知である。

【0090】

本明細書で使用される場合、「組成物」という用語は、任意に指定の量であってもよい指定の成分 (例えば、本発明の抗体) を含有する生成物、および任意に指定の量であってもよい指定の成分の組み合わせから直接または間接的にもたらされる任意の生成物を包含することが意図される。

【0091】

本明細書中で使用される場合、「含む (comprising)」または「含む (comprises)」という用語は、方法または組成物に不可欠である抗体、断片、使用、組成物、方法、およびそのそれぞれの成分 (複数可) に関して使用されるが、不可欠であるかどうかを問わず未指定の要素を含む余地がある。

【0092】

「からなる」という用語は、その実施形態の記載に引用されていない任意の要素を一切含まない、本明細書に記載される抗体、断片、使用、組成物、方法、およびそのそれぞれの成分を指す。

【0093】

本明細書で使用される場合、「から本質的になる」という用語は、所与の実施形態に必要とされる要素を指す。この用語は、その実施形態の基本的で新規または機能的な特徴 (複数可) に重大な影響を与えない要素の存在を許容する。

【0094】

本明細書で使用される場合、ポリペプチドの文脈において、「誘導体」という用語は、hPD-L1ポリペプチドのアミノ酸配列を含むポリペプチド、hPD-L1ポリペプチドの断片、またはアミノ酸残基の置換、欠失、もしくは付加の導入によって改変された、hPD-L1ポリペプチドに特異的に結合する抗体を指す。本明細書で使用される場合、「誘導体」という用語はまた、hPD-L1ポリペプチド、hPD-L1ポリペプチドの断片、または例えば、ポリペプチドへの任意の種類の分子の共有結合によって化学修飾された、hPD-L1ポリペプチドに特異的に結合する抗体を指す。例えば、限定することなく、hPD-L1ポリペプチド、hPD-L1ポリペプチドの断片、またはhPD-L1抗体は、例えば、糖鎖付加、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、既知の保護／ブロック基による誘導体化、タンパク質切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質への結合等によって化学修飾され得る。誘導体は、結合した分子の種類または位置のいずれかが天然のまたは開始ペプチドまたはポリペプチドとは異なっている様式で修飾される。誘導体は、ペプチドまたはポリペプチド上に天然に存在する1つ以上の化学基の欠失をさらに含む。hPD-L1ポリペプチド、hPD-L1ポリペプチドの断片、またはhPD-L1抗体の誘導体は、特異的切断、アセチル化、製剤化、ツニカマイシンの代謝合成等を含むがこれらに限定されない、当業者に既知の技術を使用した化学修飾によって化学修

飾され得る。さらに、h P D - L 1 ポリペプチド、h P D - L 1 ポリペプチドの断片、またはh P D - L 1 抗体の誘導体は、1つ以上の非古典的アミノ酸を含有し得る。ポリペプチド誘導体は、本明細書に記載されるh P D - L 1 ポリペプチド、h P D - L 1 ポリペプチドの断片、またはh P D - L 1 抗体と同様または同一の機能を保有する。

【0095】

本明細書で使用される場合、「エフェクター機能」という用語は、抗体依存性細胞傷害活性（ADCC）、補体依存性細胞傷害活性（CDC）媒介性応答、Fc媒介性食作用または抗体依存性細胞食作用（ADCP）、およびFcRn受容体を介して再循環する抗体のうちの1つ以上を指すように意図される。

【0096】

「有効量」とは、治療効果または予防効果を含む所望の効果を達成するために必要な投与量および期間で有効な量を指す。「治療有効量」とは、特定の障害の測定可能な改善または予防を達成するために必要な最小濃度を指す。本明細書における治療有効量は、患者の病期、年齢、性別、および体重、ならびに抗体が個体において所望の応答を引き出す能力等の要因に応じて変動し得る。治療有効量はまた、治療に有益な効果が抗体の毒作用または有害作用に勝るものである。「予防有効量」とは、所望の予防効果を達成するために必要な投与量および期間で有効な量を指す。いくつかの実施形態では、本発明の抗体の有効量は、約0.1mg/kg（対象の体重1kg当たりの抗体のmg）～約100mg/kgである。ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体の有効量は、約0.1mg/kg、約0.5mg/kg、約1mg/kg、3mg/kg、5mg/kg、約10mg/kg、約15mg/kg、約20mg/kg、約25mg/kg、約30mg/kg、約35mg/kg、約40mg/kg、約45mg/kg、約50mg/kg、約60mg/kg、約70mg/kg、約80mg/kg、約90mg/kg、または約100mg/kg（またはこの中の範囲）である。いくつかの実施形態では、本明細書で使用される場合、「有効量」はまた、指定の結果（例えば、細胞のh P D - L 1 生物活性の阻害）を達成するための、本発明の抗体の量を指す。

【0097】

本発明で使用される場合、「エピトープ」という用語は、抗体の1つ以上の抗原結合領域に結合することができ、動物、好ましくは哺乳動物、最も好ましくはヒトにおいて抗原性または免疫原性活性を有し、そして免疫応答を引き出すことができる、h P D - L 1 ポリペプチドまたはh P D - L 1 ポリペプチド断片等の抗原の表面上の局在化した領域を指す。免疫原性活性を有するエピトープは、動物において抗体応答を引き出すポリペプチドの一部である。抗原性活性を有するエピトープは、当該技術分野で周知の任意の方法によって、例えば本明細書に記載される免疫アッセイによって判定されるように、抗体が特異的に結合するポリペプチドの一部である。抗原性エピトープは、必ずしも免疫原性でなくてもよい。エピトープは、通常、アミノ酸または糖側鎖等の分子の化学的に活性な表面基からなり、特異的な三次元構造特性、ならびに特異的な電荷特性を有する。エピトープに気よするポリペプチドの領域は、ポリペプチドの連続したアミノ酸であってもよく、またはエピトープは、ポリペプチドの2つ以上の連続していない領域から集合してもよい。エピトープは、抗原の三次元表面特徴であってもなくてもよい。ある特定の実施形態では、h P D - L 1 エピトープは、h P D - L 1 ポリペプチドの三次元表面特徴である（例えば、三量体形態のh P D - L 1 ポリペプチドにおいて）。他の実施形態では、h P D - L 1 エピトープは、h P D - L 1 ポリペプチドの線状特徴である（例えば、三量体形態または単量体形態のh P D - L 1 ポリペプチドにおいて）。本明細書に提供される抗体は、単量体（変性）形態のh P D - L 1 のエピトープ、三量体（天然）形態のh P D - L 1 のエピトープ、または単量体（変性）形態および三量体（天然）形態の両方のh P D - L 1 のエピトープに特異的に結合し得る。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、三量体形態のh P D - L 1 のエピトープに特異的に結合するが、単量体形態のh P D - L 1 には特異的に結合しない。

【0098】

本明細書で使用される場合、「賦形剤」という用語は、一般に、薬物のための希釈剤、ビヒクル、保存剤、結合剤、または安定剤として使用される不活性物質を指し、これには、タンパク質（例えば、血清アルブミン等）、アミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニン、グリシン、ヒスチジン等）、脂肪酸およびリン脂質（例えば、アルキルスルホン酸塩、カプリル酸塩等）、界面活性剤（例えば、SDS、ポリソルベート、非イオン性界面活性剤等）、糖類（例えば、スクロース、マルトース、トレハロース等）、ならびにポリオール（例えば、マンニトール、ソルビトール等）が含まれるが、これらに限定されない。また、本明細書に参照によりその全体が組み込まれている、Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, Pa. も参照されたい。

10

【0099】

本明細書で使用される場合、「固定された」または「固定」という用語は、自己融解または腐敗を防止するために、生物学的組織が防腐される化学プロセスを指す。一般に、固定は、組織を化学的化合物、例えばアルコールまたはホルムアルデヒド等のアルデヒドに晒して、進行中の生化学反応を停止させることを含む。いくつかの例では、固定はまた、処置された組織の力学的強度および安定性を増加させることもできる。「固定されていない」という用語は、組織の腐敗を防止するための化学プロセスに供されていない組織を指す。本明細書で使用される場合、「表面発現」とは、タンパク質が細胞膜中に包埋されているかもしくは細胞膜を貫通しているか、または細胞膜中に包埋されているかもしくは細胞膜を貫通するタンパク質と結合している（すなわち、膜結合タンパク質）ことを意味する。一実施形態では、表面発現タンパク質は、1つ以上の膜貫通ドメインを含む。別の実施形態では、タンパク質は、別の膜貫通タンパク質との結合を介して間接的に細胞膜の外表面または内表面に結合している（すなわち、表面発現タンパク質は、細胞膜自体を貫通していない）。一般に、細胞膜内に組み込まれたか細胞内で内因的に発現された表面発現タンパク質は、同じタンパク質の組換え生成された遊離形態よりも正しい構造で折り畳む可能性が高い。

20

【0100】

本明細書で使用される場合、ペプチドまたはポリペプチドの文脈において、「断片」という用語は、全長未満のアミノ酸配列を含むペプチドまたはポリペプチドを指す。かかる断片は、例えば、アミノ末端でのトランケーション、カルボキシ末端でのトランケーション、および／またはアミノ酸配列からの残基（複数可）の内部欠失から生じ得る。断片は、例えば、代替的なRNAスプライシングから、またはインビボプロテアーゼ活性からもたらされる場合がある。ある特定の実施形態では、PD-L1断片は、hPD-L1ポリペプチドまたはhPD-L1ポリペプチドに特異的に結合する抗体のアミノ酸配列の、少なくとも5個の連続したアミノ酸残基、少なくとも10個の連続したアミノ酸残基、少なくとも15個の連続したアミノ酸残基、少なくとも20個の連続したアミノ酸残基、少なくとも25個の連続したアミノ酸残基、少なくとも40個の連続したアミノ酸残基、少なくとも50個の連続したアミノ酸残基、少なくとも60個の個の連続したアミノ酸残基、少なくとも70個の連続したアミノ酸残基、少なくとも80個の連続したアミノ酸残基、少なくとも90個の連続したアミノ酸残基、連続した少なくとも100個のアミノ酸残基、少なくとも125個の連続したアミノ酸残基、少なくとも150個の連続したアミノ酸残基、少なくとも175個の連続したアミノ酸残基、少なくとも200個の連続したアミノ酸残基、または少なくとも250個の連続したアミノ酸残基アミノ酸配列を含むポリペプチドを含む。特定の実施形態では、hPD-L1ポリペプチドまたはhPD-L1抗原に特異的に結合する抗体の断片は、ポリペプチドまたは抗体の少なくとも1つ、少なくとも2つ、または少なくとも3つの機能を保持する。

30

40

【0101】

「遊離」という用語は、緩衝液と組み合わせられた、ポリペプチド、例えばPD-L1、またはその断片および変異型を指し、ポリペプチドは、細胞表面または細胞膜に結合していない。したがって、「遊離」という用語は、表面発現が可能である（すなわち、1つ以

50

上の膜貫通ドメインまたは膜結合ドメインを含む) が、その現在の状態では細胞の表面上に発現されていないか、または細胞の表面上に発現されたタンパク質に結合していない、ポリペプチドを指すことができる。遊離ポリペプチドはまた、遊離の組換えまたは天然または非結合ポリペプチドを指すことができる。ファージ提示の文脈において、遊離抗原は、溶液中で選択され得る(本明細書において「可溶性選択」と称される)か、または表面に吸着され得、例えば、96ウェルプレートの表面に吸着され得る(本明細書において「バイオパニング選択」と称される)。

【0102】

本明細書で使用される場合、「融合タンパク質」という用語は、抗体のアミノ酸配列および異種のポリペプチドまたはタンパク質(すなわち、通常は抗体の一部ではないポリペプチドまたはタンパク質(例えば、非抗hPD-L1抗原抗体))のアミノ酸配列を含むポリペプチドを指す。「融合」という用語は、hPD-L1または抗hPD-L1抗体に関連して使用される場合、ペプチドもしくはポリペプチド、またはその断片、変異型、および/もしくは誘導体の、異種のペプチドまたはポリペプチドとの接合を指す。好ましくは、融合タンパク質は、hPD-L1または抗hPD-L1抗体の生物活性を保持する。ある特定の実施形態では、融合タンパク質は、hPD-L1抗体のVHドメイン、VLドメイン、VH CDR(1つ、2つ、または3つのVH CDR)、および/またはVL CDR(1つ、2つ、または3つのVL CDR)を含み、融合タンパク質は、hPD-L1エпитープに特異的に結合する。

【0103】

「重鎖」という用語は、抗体に関連して使用される場合、重鎖定常ドメインのアミノ酸配列に基づいてアルファ(α)、デルタ(δ)、イプシロン(ϵ)、ガンマ(γ)、およびミュー(μ)と呼ばれる、5つの異なる種類を指す。これらの異なる種類の重鎖は周知であり、そこから5つのクラスの抗体、IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMがそれぞれ生じ、IgGの4つのサブクラス、すなわち、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4が含まれる。好ましくは、重鎖は、ヒト重鎖である。ヒト集団において、各免疫グロブリンまたは免疫グロブリンサブクラスの複数の重鎖定常領域対立遺伝子が存在する。これらの対立遺伝子変異型のヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、IMGT、ENSEMBL Swiss-Prot、およびUniProt等の公的に利用可能なデータベース上でアクセス可能である。対立遺伝子変異型はまた、様々なゲノム配列決定プロジェクトにおいて同定され得る。一実施形態では、本明細書に開示される抗体および抗体断片は、ヒトIGHG1*01(配列番号340、341、および537)、IGHG1*02(配列番号340、341、および537)、IGHG1*03(配列番号523および524)、IGHG1*04(配列番号525および526)、ならびにIGHG1*05(配列番号340、341、および537)を含むがこれらに限定されないIgG1定常領域対立遺伝子によってコードされる重鎖を含む。一実施形態では、本明細書に開示される抗体および抗体断片は、ヒトIGHG2*01(配列番号527および528)、IGHG2*02(配列番号529および530)、IGHG2*03(配列番号527および528)、IGHG2*04(配列番号531および532)、IGHG2*05(配列番号527および528)、ならびにIGHG2*06(配列番号533および534)を含むがこれらに限定されないIgG2定常領域対立遺伝子によってコードされるタンパク質を含む。一実施形態では、本明細書に開示される抗体および抗体断片は、ヒトIGHG3*01、IGHG3*02、IGHG3*03、IGHG3*04、IGHG3*05、IGHG3*06、IGHG3*07、IGHG3*08、IGHG3*09、IGHG3*10、IGHG3*11、IGHG3*12、IGHG3*13、IGHG3*14、IGHG3*15、IGHG3*16、IGHG3*17、IGHG3*18、およびIGHG3*19を含むがこれらに限定されないIgG3定常領域対立遺伝子によってコードされるタンパク質を含む。一実施形態では、本明細書に開示される抗体および抗体断片は、ヒトIGHG4*01(配列番号192および193)、IGHG4*02(配列番号194および195)、IGHG4*03(配列番号196および

10

20

30

40

50

197)、ならびにIGHG4*04(配列番号192 & 193)を含むがこれらに限定されないIgG4定常領域対立遺伝子によってコードされるタンパク質を含む。別の例では、重鎖は、欠損したIgGアイソタイプ、例えば、欠損したIgG4である。ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、ヒトガンマ4定常領域を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Fc-γ受容体に結合せず、例えば、Leu235Glu変異を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、安定性を増加させるために、Ser228Pro変異を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、IGHG4-PE(配列番号199である。別の実施形態では、本明細書に開示される抗体および抗体断片は、マウスIGHG1*01またはIGHG1*02を含むがこれらに限定されないマウスIgG1定常領域対立遺伝子によってコードされた重鎖定常領域を含む。一実施形態では、本明細書に開示される抗体および抗体断片は、マウスIGHG2A*01、IGHG2A*02、IGHG2B*01、IGHG2B*02、IGHG2C*01、IGHG2C*02、またはIGHG2C*03を含むがこれらに限定されないマウスIgG2定常領域対立遺伝子によってコードされた重鎖定常領域を含む。一実施形態では、本明細書に開示される抗体または抗体断片は、マウスIGHG3*01を含むがこれに限定されないマウスIgG3定常領域対立遺伝子によってコードされたタンパク質を含む。

10

【0104】

本明細書で使用される場合、「宿主」という用語は、動物、好ましくは哺乳動物、最も好ましくはヒトを指す。

【0105】

本明細書で使用される場合、「宿主細胞」という用語は、核酸分子でトランスフェクトされた特定の対象細胞、およびかかる細胞の子孫または潜在的な子孫を指す。かかる細胞の子孫は、その後の世代で生じ得る変異もしくは環境的影響、または宿主細胞ゲノムへの核酸分子の組み込みに起因して、核酸分子でトランスフェクトされた親細胞と同一ではない場合がある。

20

【0106】

本明細書で使用される場合、「IL-2サイトカイン」という用語は、野生型IL-2と同様の活性を有するサイトカイン様分子を指す。それは、高(αβγ)親和性のIL-2受容体および/または中親和性(αβ)IL-2受容体で活性を有し得る。サイトカインは、1つ以上のアミノ酸欠失、置換、または付加を有する変異型IL-2サイトカインであり得る。変異型サイトカインは、本明細書において以下により詳細に記載される。

30

【0107】

本明細書で使用される場合、「免疫調節剤」および免疫調節剤を含むがこれに限定されないその変形は、宿主の免疫系を調節する薬剤を指す。ある特定の実施形態では、免疫調節剤は、免疫抑制剤である。ある特定の他の実施形態では、免疫調節剤は、免疫刺激剤である。本発明によれば、本発明の併用療法において使用される免疫調節剤は、抗hPD-L1抗体または抗原結合断片を含まない。免疫調節剤には、小分子、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、融合タンパク質、抗体、無機分子、模倣剤、および有機分子が含まれるが、これらに限定されない。

【0108】

他の療法剤の投与の文約における「組み合わせて」という用語は、2つ以上の療法剤の使用を指す。「組み合わせて」という用語の使用は、疾患を有する対象に療法剤が投与される順序を制限しない。第1の療法剤は、hPD-L1媒介性疾患を有したか、有するか、またはそれに罹患しやすい対象への第2の療法剤の投与前(例えば、1分、45分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、もしくは12週間)、それと同時に、またはその後(例えば、1分、45分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、または12週間)に投与され得る。任意の追加の療法剤は、他の追加の療法剤と共に任意の順序で投与され得る。あ

40

50

る特定の実施形態では、本発明の抗体は、1つ以上の療法剤（例えば、h P D - L 1 媒介性疾患を予防、治療、管理、および／または改善するために現在投与されている本発明の抗体ではない療法剤）と組み合わせて投与され得る。本発明の抗体と組み合わせて投与され得る療法剤の非限定的な例としては、鎮痛剤、麻酔剤、抗生物質、もしくは免疫調節剤、または米国薬局方および／もしくは医師用添付文書集に列挙される任意の他の薬剤が挙げられる。

【0109】

本明細書で使用される場合、「免疫サイトカイン」という用語は、サイトカイン分子に融合した抗体フォーマットを指す。抗体フォーマットは、本明細書に記載されるもののいずれかであり得、サイトカインは、直接、または抗体フォーマットの重鎖もしくは軽鎖のN末端もしくはC末端へのリンカーもしくは化学的コンジュゲーションを介して融合され得る。

10

【0110】

本明細書で使用される場合、「注射デバイス」とは、注射を実施するために設計されているデバイスを指し、注射は、注射デバイスを人物の組織、典型的には非組織に、一時的に流体的に繋ぐステップを含む。注射は、ある量の液体薬物を組織内に投与し、注射デバイスを組織から分離させるかまたは取り外すことをさらに含む。いくつかの実施形態では、注射デバイスは、標的組織が循環系内の血液、例えば、静脈の血管であるときに使用される注射デバイスの種類である、静脈内デバイスまたはI Vデバイスであり得る。注射装置の一般的であるが非限定的な例は、針および注射器である。

20

【0111】

本明細書で使用される場合、「説明書」とは、物品の直接容器上の文書、印刷物、または図形物、例えば、薬学的活性剤を含有するバイアル上に表示された文書、または目的の組成物を含有するキットに含まれる目的の製品の組成および使用についての詳細の表示を指す。説明書は、投与または実施されることが企図される治療の方法を記載する。

【0112】

「単離された」または「精製された」抗体またはタンパク質は、その産生環境の成分（例えば、天然または組換え）から同定、分離、および／または回収されたものである。例えば、抗体またはタンパク質は、抗体が由来する細胞もしくは組織源からの細胞物質もしくは他の汚染タンパク質を実質的に含まないか、または化学的に合成されている場合には化学的前駆体もしくは他の化学物質を実質的に含まない。「細胞物質を実質的に含まない」という表現は、抗体が、単離または組換え生成された細胞の細胞成分とは分離されている、抗体の調製物を含む。したがって、細胞物質を実質的に含まない抗体は、約30%、20%、10%、または5%（乾燥重量による）未満の異種タンパク質（本明細書において「汚染タンパク質」とも呼ばれる）を含む。抗体が組換え生成されている場合、抗体はまた、好ましくは培養培地も実質的に含まず、すなわち、培養培地は、タンパク質調製物の体積の20%、10%、または5%未満を占める。抗体が化学合成によって産生される場合、抗体は、好ましくは化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まず、すなわち、抗体は、タンパク質の合成に関与する化学的前駆体または他の化学物質から分離されている。したがって、抗体のかかる調製物は、約30%、20%、10%、5%（乾燥重量による）未満の、目的の抗体以外の化学的前駆体または化合物を有する。好ましい実施形態では、本発明の抗体は、単離または精製されている。

30

40

【0113】

「K a b a t 付番」という用語および同様の用語は、当該技術分野で認識されており、抗体の重鎖可変領域またはその抗原結合部分において他のアミノ酸残基よりも可変である（すなわち、超可変）アミノ酸残基を付番するシステムを指す（K a b a t e t a l . , (1971) Ann. NY Acad. Sci. , 190:382-391およびK a b a t e t a l . (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH

50

Publication No. 91-3242)。重鎖可変領域の場合、超可変領域は、典型的には、CDR1についてアミノ酸31～35位、CDR2についてアミノ酸50～65位、およびCDR3についてアミノ酸95～102位の範囲である。

【0114】

本明細書で使用される場合、「標識」または「標識された」とは、ポリペプチドへの検出可能な部分、例えば、放射標識、蛍光標識、酵素標識、化学発光標識、またはビオチニル基もしくは金の付加を指す。評者性同位体または放射性核種には、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{115}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I が含まれ得、蛍光標識には、ローダミン、ランタニド蛍光体、またはFITCが含まれ得、構想標識には、西洋ワサビペルオキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリフォスファターゼが含まれ得る。さらなる標識には、制限的ではなく例示目的で、グルコース-6-リン酸脱水酵素（「G6PDH」）、アルファ-D-ガラクトシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、グルコースアミラーゼ、炭酸脱水酵素、アセチルコリンエステラーゼ、リゾチーム、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、およびペルオキシダーゼ等の酵素；色素（例えば、シアニン色素、例えば、Cy5（商標）、Cy5.5（商標）、またはCy7（商標））；フルオレセインおよびその誘導体、蛍光色素、GFP（「緑色蛍光タンパク質」のGFP）、他の蛍光タンパク質（例えば、mCherry、mTomato）、ダンシル、ウンベリフェロン、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o-フタルデヒド（phthaldehyde）、およびフルオレスカミン等の追加の蛍光標識または蛍光体；ランタニドクリプテートおよびキレート等のフルオロフォア、例えば、ユーロピウム等（パーキンエルマーおよびシスビオ（Cisbio）アッセイ）；イソルミノール、ルミノール、およびジオキセタン等の化学蛍光標識または化学蛍光体；増感剤；補酵素；酵素基質；ラテックスまたは炭素粒子等の粒子；金属ゾル；微結晶；リポソーム；細胞等が含まれ、これらは、色素、触媒、または他の検出可能な基；ビオチン、ジゴキシゲニン、または5-ブロモデオキシウリジン等の分子；例えば、Pseudomonas菌外毒素（PEまたはその細胞毒性断片もしくは変異体）、Diphtheria毒素またはその細胞毒性断片もしくは変異体、ボツリヌス毒素A、B、C、D、E、またはF、リシンまたはその細胞毒性断片、例えば、リシンA、アブリンまたはその細胞毒性断片、サポリンまたはその細胞毒性断片、ヤマゴボウ抗ウイルス毒素またはその細胞毒性断片、およびブリオジン（bryodin）1またはその細胞毒性断片からなる群から選択される毒素部分等の毒素部分でさらに標識され得る。

【0115】

抗体に関連して使用される場合、「軽鎖」という用語は、免疫グロブリン軽鎖を指し、これには、哺乳動物においてラムダ（ λ ）およびカッパ（ κ ）の2種類が存在する。好ましくは、軽鎖は、ヒト軽鎖である。好ましくは、軽鎖定常領域は、ヒト定常領域である。ヒト集団において、複数の軽鎖定常領域対立遺伝子が存在する。これらの対立遺伝子変異型のヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、IMGT、ENSEMBL Swiss-Prot、およびUniProt等の公的に利用可能なデータベース上でアクセス可能である。一実施形態では、本明細書に開示される抗体および抗体断片は、IGKC*01（配列番号206および207）、IGKC*02（配列番号208および209）、IGKC*03（配列番号210および211）、IGKC*04（配列番号212および213）、ならびにIGKC*05（配列番号214および215）を含むがこれらに限定されないヒト κ 定常領域対立遺伝子によってコードされるタンパク質を含む。一実施形態では、本明細書に開示される抗体および抗体断片は、IGLC1*01（配列番号216および217）、IGLC1*02（配列番号218、219、および220）、IGLC2*01（配列番号221、222、および538）、IGLC2*02（配列番号224および225）、IGLC2*03（配列番号224および225）、IGLC3*01（配列番号226および227）、IGLC3*02（配列番号22および229）、IGLC3*03（配列番号230および231）、IGLC3*04（配列番号232および233）、IGLC6*01（配列番号234および235）、IGLC7*01（

10

20

30

40

50

配列番号 236 および 237)、I G L C 7 * 0 2 (配列番号 236 および 237)、I G L C 7 * 0 3 (配列番号 535 および 536) を含むがこれらに限定されないヒト入定常領域対立遺伝子によってコードされるタンパク質を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される抗体および抗体断片は、I G K C * 0 1、I G K C * 0 3、または I G K C * 0 3 を含むがこれらに限定されないマウスκ 定常領域対立遺伝子によってコードされた軽鎖定常領域を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される抗体および抗体断片は、I G L C 1 * 0 1、I G L C 2 * 0 1、または I G L C 3 * 0 1 を含むがこれらに限定されないマウスλ 定常領域対立遺伝子によってコードされた軽鎖定常領域を含む。

【0116】

ペプチド、ポリペプチド、または抗体配列に関連する「アミノ酸配列同一性パーセント (%)」および「相同性」は、最大の配列同一パーセントを達成するために配列を整列させ、必要であればギャップを導入した後に、そしていかなる保存的置換も配列同一性の一部と見なさずに、特定のペプチドまたはポリペプチド配列と同一である、候補配列中のアミノ酸残基の割合として定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを判定する目的のための整列は、当該技術分野の範囲内である様々な方法で、例えば、B L A S T、B L A S T - 2、A L I G N、または M E G A L I G N (商標) (D N A S T A R) ソフトウェア等の公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して達成することができる。一実施形態では、相同性%は、約 70 % である。一実施形態では、相同性%は、約 75 % である。一実施形態では、相同性%は、約 80 % である。一実施形態では、相同性%は、約 85 % である。一実施形態では、相同性%は、約 90 % である。一実施形態では、相同性%は、約 92 % である。一実施形態では、相同性%は、約 95 % である。一実施形態では、相同性%は、約 97 % である。一実施形態では、相同性%は、約 98 % である。一実施形態では、相同性%は、約 99 % である。一実施形態では、相同性%は、100 % である。

【0117】

生体物質、例えば核酸分子、ポリペプチド、宿主細胞に関連して使用される場合、「天然型の」または「天然」という用語は、天然に見出され、人間によって操作されていないものを指す。

【0118】

本明細書で使用される場合、「包装」とは、構成要素が分配および／または使用のために適したユニット内にまとめられ、及び／又は抑制される方法を指す。包装には、例えば、滅菌、ラベル付け等を維持するための、箱、袋、注射器、アンプル、バイアル、チューブ、クラムシェル包装、バリア、及び／又は容器が含まれ得る。

【0119】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」という用語は、動物、より具体的にはヒトにおける使用について、連邦政府もしくは州政府の規制機関によって承認されているか、または米国薬局方、欧州薬局方、もしくは他の一般的に認識された薬局方に列挙されていることを意味する。

【0120】

本明細書で使用される場合、「ポリヌクレオチド」、「ヌクレオチド」、「核酸」、「核酸分子」という用語、および他の同様の用語は交換可能に使用され、これには D N A、R N A、m R N A 等が含まれる。

【0121】

本明細書で使用される場合、「予防する」、「予防すること」、および「予防」という用語は、本明細書に提供される療法剤または療法剤の組み合わせ（例えば、本発明の抗体等の予防剤または治療剤の組み合わせ）の投与によってもたらされる、h P D - L 1 媒介性疾患および／またはそれに関連する症状の発症、再発、または蔓延の完全または部分的な阻害を指す。

【0122】

「可溶性」という用語は、P D - L 1 およびその変異型または断片等のポリペプチドを指す。天然形態または膜結合性形態において見出される 1 つ以上の膜貫通ドメインまたは

10

20

30

40

50

細胞質ドメインを欠いている、一実施形態では、PD-L1の「可溶性」形態は、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインの両方を欠いている。

【0123】

「対象」または「患者」という用語は、哺乳動物を含むがこれに限定されない任意の動物を指す。本明細書で使用される場合、「哺乳動物」という用語は、それらの子に授乳し、そして生きた子を産むか（真獣類または有胎盤哺乳動物）、産卵するか（後獣類または非胎盤哺乳動物）のいずれかである、任意の脊椎動物を指す。哺乳動物種の例としては、ヒトおよび他の霊長類（チンパンジーおよび他の類人猿およびサル種等の非ヒト霊長類を含む）；ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、およびウマ等の家畜動物；イヌおよびネコ等の飼育哺乳動物；マウス、ラット（コットンラットを含む）、およびモルモット等のげっ歯類を含む実験動物；家禽、野禽、および猟鳥を含む、ニワトリ、シチメンチョウおよび他のキジ類のトリ、カモ、ガチョウ等のトリが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0124】

本明細書で使用される場合、「実質的に全て」とは、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%を指す。

【0125】

本明細書で使用される場合、「界面活性剤を実質的に含まない」という用語は、hPD-L1抗原に特異的に結合する抗体の製剤であって、0.0005%未満、0.0003%未満、もしくは0.0001%未満の界面活性剤、および／または0.0005%未満、0.0003%未満、もしくは0.0001%未満の界面活性剤を含有する製剤を指す。

20

【0126】

本明細書で使用される場合、「塩を実質的に含まない」という用語は、hPD-L1抗原に特異的に結合する抗体の製剤であって、0.0005%未満、0.0003%未満、または0.0001%未満の無機塩を含有する製剤を指す。

【0127】

本明細書で使用される場合、「界面活性剤」という用語は、両親媒性構造を有する有機物質を指し、すなわち、それらは反対の可溶性傾向の基、典型的には油溶性の炭化水素鎖および水溶性のイオン性基で構成されている。界面活性剤は、界面活性部分の家電に応じて、アニオン性、カチオン性、および非イオン性界面活性剤に分類され得る。界面活性剤は、多くの場合、様々な医薬組成物および生物学的物質の調製物のための湿潤剤、乳化剤、可溶化剤、および分散剤として使用される。

30

【0128】

本明細書で使用される場合、「タグ」という用語は、例えば、hD-L1もしくはPD-L1抗体またはそれらの抗原結合断片をコードするポリペプチドおよび／またはポリヌクレオチドに結合した任意の種類の部分を指す。例えば、hPD-L1、hPD-L1抗体またはそれらの抗原結合断片をコードするポリヌクレオチドは、例えば、検出可能な部分または親和性精製を補助する部分をコードする1つ以上の追加のタグコード化ヌクレオチド配列を含有し得る。翻訳されると、タグおよび抗体は、融合タンパク質の形態であり得る。タグに関する「検出可能な」または「検出」という用語は、可視化され得るか、またはタグの存在が別様に判定および／もしくは測定され得る（例えば、定量化によって）任意のタグを指す。検出可能なタグの非限定的な例は、蛍光タグである。

40

【0129】

本明細書で使用される場合、「治療剤」という用語は、hPD-L1媒介性疾患および／またはそれに関連する症状の治療、管理、または改善に使用され得る任意の薬剤を指す。ある特定の実施形態では、「治療剤」という用語は、本発明の抗体を指す。ある特定の他の実施形態では、「治療剤」という用語は、本発明の抗体以外の薬剤を指す。好ましくは、治療剤は、hPD-L1媒介性疾患および／またはそれに関連する症状の治療、管理、または改善のために有用であることが知られているか、またはそれらのために使用されてき

50

たか、もしくは現在使用されている薬剤である。特定の実施形態では、治療剤は、完全ヒト抗hPD-L1抗体、例えば、完全ヒト抗hPD-L1モノクローナル抗体である。

【0130】

本明細書で使用される場合、「療法」という用語は、hPD-L1媒介性疾患（例えば、癌）の予防、管理、治療、および／または改善に使用され得る任意のプロトコル、方法、および／または薬剤を指す。ある特定の実施形態では、「療法（複数可）」という用語は、医療関係者等の当業者に知られている、hPD-L1媒介性疾患の予防、管理、治療、および／または改善に有用な生物学的療法、支持療法、および／または他の療法を指す。

【0131】

「治療する」、「治療」、および「治療すること」という用語は、1つ以上の療法剤の投与（本発明の抗体等の1つ以上の予防剤または治療剤の投与を含むがこれに限定されない）によってもたらされる、hPD-L1媒介性疾患（例えば、癌）の進行、重度、および／または期間の低減または改善を指す。特定の実施形態では、かかる用語は、PD-1に対するhPD-L1の結合の低減もしくは阻害、CD80に対するhPD-L1の結合の低減もしくは阻害、および／または癌等のhPD-L1媒介性疾患に関連する1つ以上の症状の阻害もしくは低減を指す。特定の実施形態では、かかる用語は、PD-1および／もしくはCD80に対するhPD-L1の結合の低減もしくは阻害、ならびに／または癌等のhPD-L1媒介性疾患に関連する1つ以上の症状の阻害もしくは低減を指す。一例では、細胞は、ヒト細胞である。特定の実施形態では、予防剤は、完全ヒト抗hPD-L1抗体、例えば、完全ヒト抗hPD-L1モノクローナル抗体である。

【0132】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、軽鎖および重鎖の部分、典型的には、重鎖におけるアミノ末端側の約120～130個のアミノ酸、および軽鎖における約100～110個のアミノ酸を指し、これらは、抗体間で配列が広く異なり、各特定の抗体のそれらの特定の抗原に対する結合性および特異性において使用される。抗体の可変性は、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる領域に集中し、可変ドメイン中のより高度に保存された領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる。PD-L1および重鎖のCDRは、抗体と抗原との相互作用を主に担う。本明細書において使用されるアミノ酸位置の付番は、Kabat et al. (1991) Sequences of proteins of immunological interest. (U. S. Department of Health and Human Services, Washington, D. C.) 5th ed. (「Kabat et al.」)にあるように、EU付番に従う。好ましい実施形態では、可変領域は、ヒト可変領域である。

【0133】

細胞生物学および分子生物学における一般用語の定義は、「The Merck Manual of Diagnosis and Therapy」, 19th Edition (Merck Research Laboratories, 2006により出版) (ISBN 0-911910-19-0)、Robert S. Porter et al. (eds.), The Encyclopedia of Molecular Biology (Blackwell Science Ltd., 1994により出版) (ISBN 0-632-02182-9)、Benjamin Lewin, Genes X (Jones & Bartlett Publishing, 2009により出版) (ISBN-10: 0763766321)、Kendrew et al. (Eds.), Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference (VCH Publishers, Inc., 1995により出版) (ISBN 1-56081-569-8)、およびCurrent Protocols in Protein Sciences 2009, Wiley Intersciences, Coligan et al., eds.に見出すことができる。

【0134】

別途記載されない限り、本発明は、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (4 ed.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., USA (2012)、Davis et al., Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier Science Publishing, Inc., New York, USA (1995)、またはMethods in Enzymology: Guide to Molecular Cloning Techniques Vol. 152, S. L. Berger and A. R. Kimmel Eds., Academic Press Inc., San Diego, USA (1987)、Current Protocols in Protein Science (CPPS) (John E. Coligan, et al., ed., John Wiley and Sons, Inc.), Current Protocols in Cell Biology (CPCB) (Juan S. Bonifacino et al. ed., John Wiley and Sons, Inc.)、およびCulture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique by R. Ian Freshney, Publisher: Wiley-Liss; 5th edition (2005)、Animal Cell Culture Methods (Methods in Cell Biology, Vol. 57, Jennie P. Mather and David Barnes editors, Academic Press, 1st edition, 1998)に記載されるように、標準的な手順を使用して実施され、これらは全てそれらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0135】

他の用語は、本発明の様々な態様の説明の中で本明細書において定義される。

【0136】

2. PD-L1抗体

多くの腫瘍細胞は、癌に特異的であり、診断用および／または治療用抗体標的として機能し得る表面分子を発現する。バイオマーカーとして有用であり得る腫瘍分子によって発現される細胞表面タンパク質の例としては、タンパク質のB7ファミリーのメンバー、主要組織適合性複合体分子(MHC)、サイトカイン、および成長因子受容体、例えば、上皮成長因子(EGFR)が挙げられる。B7ファミリーは、免疫応答を制御するためにリンパ球上で受容体に結合する細胞表面タンパク質の免疫グロブリン(Ig)スーパーファミリーのメンバーであるタンパク質の群である。このファミリーは、細胞外Ig様ドメイン(免疫グロブリンの可変および定常ドメインに関連するIgVおよびIgCドメイン)を特徴とする膜貫通またはグリコシルホスファチジルイノシトール(GPI)結合性タンパク質を含む。全てのメンバーは、短い細胞質ドメインを有する。B7ファミリーには、B7-1、B7-2、PD-L1(B7-H1)、PD-L2、B7-H2、B7-H3、およびB7-H4の7つの既知のメンバーが存在する。

【0137】

PD-L1の完全なアミノ酸配列は、NCBI参照配列:NP_054862.1(配列番号1)に見出すことができ、これは、例えば、その開示全体が参照により本明細書に組み込まれているDong, H., et al. (1999), 「PD-L1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion」, Nat. 「Med.」5(12), 1365-1369を含む多くの雑誌論文に言及する。PD-L1のアミノ酸配列は、PD-L1特有の30アミノ酸長の細胞質ドメインを含み、これは、他のB7ファミリーメンバーを含め、他の分子とほとんど相同性を示さない。

【0138】

一実施形態では、抗体は、ポリクローナル抗体である。ポリクローナル抗体を生成する

ための方法は既知であり、例えば、好適な哺乳動物に抗原を接種して、動物の免疫系が注射された抗原に特異的に結合する免疫グロブリン（IgG）を産生することを誘導することを含む。好適な哺乳動物の例としては、例えば、マウス、モルモット、ハムスター、ラット、ウサギ、ヒツジ、またはヤギが挙げられる。その後、ポリクローナルIgGは、典型的には、哺乳動物の血清から精製される。一実施形態では、抗体は、表面発現タンパク質に結合するポリクローナル抗体である。別の実施形態では、抗体は、タンパク質のB7ファミリーのメンバーに特異的に結合するポリクローナル抗体である。より具体的な実施形態では、抗体は、PD-L1に特異的に結合するポリクローナル抗体である。別の実施形態では、抗体は、表面発現PD-L1に特異的に結合するポリクローナル抗体である。より特定の実施形態では、ポリクローナル抗体またはその抗原結合断片は、ヒトPD-L1に特異的に結合する。別の実施形態では、抗体は、可溶性PD-L1に特異的に結合するポリクローナル抗体である。「可溶性」という用語はまた、1つ以上の膜貫通ドメインまたは細胞質ドメインを欠くPD-L1等のタンパク質を指す。一実施形態では、PD-L1の「可溶性」形態は、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインの両方を欠いている。一実施形態では、抗体は、「遊離」PD-L1（すなわち、細胞膜または表面と直接または間接的に会合していないPD-L1）に結合するポリクローナル抗体である。

【0139】

別の実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体であり得る。モノクローナル抗体を製作する方法は既知であり、例えば、骨髄腫細胞を所望の抗原で免疫化された動物由来の細胞と融合させることを含む。他の実施形態では、モノクローナル抗体は、組換えDNA技術を使用して生成され得る。一実施形態では、抗体は、表面発現タンパク質に特異的に結合するモノクローナル抗体である。一実施形態では、抗体は、完全ヒトモノクローナル抗体である。別の実施形態では、抗体は、タンパク質のB7ファミリーのメンバーに特異的に結合するモノクローナル抗体である。より具体的な実施形態では、抗体は、PD-L1に特異的に結合するモノクローナル抗体である。別の実施形態では、抗体は、表面発現PD-L1に特異的に結合するモノクローナル抗体である。より特定の実施形態では、モノクローナル抗体またはその抗原結合断片は、ヒトPD-L1に特異的に結合する。別の実施形態では、抗体は、可溶性PD-L1に特異的に結合するモノクローナル抗体である。一実施形態では、抗体は、1つ以上の細胞膜ドメインまたは細胞質ドメインを欠く可溶性PD-L1に特異的に結合するモノクローナル抗体である。一実施形態では、抗体は、細胞膜ドメインおよび細胞質ドメインの両方を欠く可溶性PD-L1に特異的に結合するモノクローナル抗体である。一実施形態では、抗体は、「遊離」PD-L1（すなわち、細胞膜または表面と直接または間接的に会合していないPD-L1）に結合するモノクローナル抗体である。

【0140】

一例では、抗体または断片の結合部位（複数可）は、複数の結合部位（例えば、ライブラリ）から選択される。例えば、複数の結合部位は、複数の4鎖抗体またはその断片、例えば、dAbs、Fab、またはscFvを含むか、またはそれらからなる。スクリーニングのための複数の結合部位を産生するための好適な方法には、ファージディスプレイ（抗体結合部位のファージディスプレイライブラリの生成）、リボソームディスプレイ（抗体結合部位のリボソームディスプレイライブラリの生成）、酵母ディスプレイ（抗体結合部位の酵母ディスプレイライブラリの生成）、またはhPD-L1もしくはhPD-L1エピトープでの非ヒト脊椎動物（例えば月氏動物、例えばマウスまたはラット、例えば、Velocimouse（商標）、Kymouse（商標）、Xenomouse（商標）、Aliva Mouse（商標）、HuMab Mouse（商標）、Omnimouse（商標）、Omnirat（商標）、またはMeMo Mouse（商標））の免疫化、ならびに抗体産生細胞のレパートリー（例えば、B細胞、血漿細胞、もしくは形質芽球レパートリー）、および／または単離された抗体、断片、もしくは結合部位のレパートリーの単離が含まれる。

【0141】

PD-L1 結合能力、特異性、および親和性 (K_d 、 K_{off} 、および/または K_{on}) は、当該技術分野の任意の定型法によって、例えば、表面プラズモン共鳴 (SPR) によって判定することができる。本明細書で使用される場合、「 K_d 」または「 K_D 」という用語は、特定の抗体-抗原相互作用の平衡解離定数を指すことが意図される。かかる結合測定は、当該技術分野で既知の様々な結合アッセイを使用して、例えば、表面プラズモン共鳴 (SPR)、例えば、Biacore (商標) によって、または ProteOn XPR36 (商標) (Bio-Rad (登録商標)) を使用して、KinExA (登録商標) (Sapidyne Instruments, Inc) を使用して、または ForteBio Octet (Pall ForteBio Corp.) を使用して行われ得る。

【0142】

10

一実施形態では、表面プラズモン共鳴 (SPR) は、25°C で実施される。別の実施形態において、SPR は、37°C で実施される。

【0143】

一実施形態では、SPR は、生理学的 pH、例えば約 pH 7 または pH 7.6 で (例えば、pH 7.6 の HEPES 緩衝食塩水 (HBS-EP と呼ばれる)) で実施される。

【0144】

一実施形態では、SPR は、生理的塩レベル、例えば 150 mM の NaCl で実施される。

【0145】

一実施形態では、SPR は、0.05 容積% 以下の洗剤レベル、例えば、0.05% の P20 (ポリソルベート 20、例えば、Tween 20 (商標)) および 3 mM の EDTA の存在下で実施される。

20

【0146】

一例では、SPR は、pH 7.6 の緩衝液、150 mM の NaCl、0.05% の洗剤 (例えば、P20)、および 3 mM の EDTA 中、25°C または 37°C で実施される。緩衝液は、10 mM の HEPES を含有し得る。一例では、SPR は、HBS-EP 中、25°C または 37°C で実施される。HBS-EP は、Teknova Inc. (California、カタログ番号 H8022) から入手可能である。

【0147】

一例では、抗体または断片の親和性は、

1. 一級アミン結合等によって、抗マウス (または種が一致した他の関連するヒト、ラット、または非ヒト脊椎動物抗体の定常領域) IgG (例えば、Biacore (商標) BR-1008-38) をバイオセンサチップ (例えば、GLM チップ) に結合させることと、

30

2. 抗マウス IgG (または他の一致した種の抗体) を試験 IgG 抗体に曝露して、チップ上で試験抗体を捕捉することと、

3. 0 nM (すなわち、緩衝液のみ) と共に、1024 nM、256 nM、64 nM、16 nM、4 nM でチップの捕捉表面上に試験抗原を通過させることと、

4. 例えば上述の SPR 条件 (例えば、生理学的緩衝液中 25°C) 下で表面プラズモン共鳴を使用して、試験抗原に対する試験抗体の結合の親和性を判定することと、によって、SPR を使用して判定される。SPR は、任意の SPR 器具を使用して、例えば、Biacore (商標) によって、または ProteOn XPR36 (商標) (Bio-Rad (登録商標)) を使用して実施され得る。

40

【0148】

捕捉表面の再生は、pH 1.7 の 10 mM グリシンを用いて実施され得る。これにより、捕捉された抗体が除去され、表面を別の相互作用に使用することが可能となる。結合データは、標準的な技法を使用して、例えば、ProteOn XPR36 (商標) 分析ソフトウェアに固有のモデルを使用して、1:1 の固有モデルに適合させることができる。

【0149】

本発明者らは、既存の抗体よりも多くの潜在的有用性および利点を有する、hPD-L1 に対する特異性を有するいくつかの抗体を同定した。例えば、本明細書に記載される抗

50

体は、以下の特性のうちの1つ以上を有し得る：

- a. P D - L 1 のリガンドのうちの1つのみを遮断する特異性（例えば、C D 8 0 / P D - L 1 相互作用を遮断するが、P D - 1 / P D - L 1 相互作用は遮断しない）
- b. 免疫原性／副作用の欠如
- c. 可溶性
- d. 安定性
- e. 製剤化の容易さ
- f. 既存の抗 P D L 1 抗体よりも改善された半減期による、投与頻度および／または投与経路
- g. 製造性（例えば、発現、精製の容易さ、アイソフォーム）

【0150】

1 D 0 5 は、配列番号 2 7 (I M G T) または配列番号 3 0 (K a b a t) の C D R H 1 アミノ酸配列、配列番号 2 8 (I M G T) または配列番号 3 1 (K a b a t) の C D R H 2 アミノ酸配列、および配列番号 2 9 (I M G T) または配列番号 3 2 (K a b a t) の C D R H 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 3 3 の重鎖可変領域 (V _H) アミノ酸配列を有する。V _H ドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 3 4 である。1 D 0 5 は、配列番号 3 7 (I M G T) または配列番号 4 0 (K a b a t) の C D R L 1 アミノ酸配列、配列番号 3 8 (I M G T) または配列番号 4 1 (K a b a t) の C D R L 2 アミノ酸配列、および配列番号 3 9 (I M G T) または配列番号 4 2 (K a b a t) の C D R L 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 4 3 の軽鎖可変領域 (V _L) アミノ酸配列を有する。V _L ドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 4 4 である。V _H ドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 1 9 3、配列番号 1 9 5、配列番号 1 9 7、配列番号 1 9 9、配列番号 2 0 1、配列番号 2 0 3、配列番号 2 0 5、配列番号 3 4 0、配列番号 5 2 4、配列番号 5 2 6、配列番号 5 2 8、配列番号 5 3 0、配列番号 5 3 2、または配列番号 5 3 4 と組み合わせられ得る。V _L ドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 2 0 7、2 0 9、2 1 1、2 1 3、2 1 5、2 1 7、2 1 9、2 2 1、2 2 3、2 2 5、2 2 7、2 2 9、2 3 1、2 3 3、2 3 5、2 3 7、5 3 6、および 5 3 8 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 3 5 (重鎖核酸配列配列番号 3 6) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 4 5 (軽鎖核酸配列配列番号 4 6) である。

【0151】

8 4 G 0 9 は、配列番号 7 (I M G T) または配列番号 1 0 (K a b a t) の C D R H 1 アミノ酸配列、配列番号 8 (I M G T) または配列番号 1 1 (K a b a t) の C D R H 2 アミノ酸配列、および配列番号 9 (I M G T) または配列番号 1 2 (K a b a t) の C D R H 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 1 3 の重鎖可変 (V _H) 領域アミノ酸配列を有する。V _H ドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 1 4 である。8 4 G 0 9 は、配列番号 1 7 (I M G T) または配列番号 2 0 (K a b a t) の C D R L 1 アミノ酸配列、配列番号 1 8 (I M G T) または配列番号 2 1 (K a b a t) の C D R L 2 アミノ酸配列、および配列番号 1 9 (I M G T) または配列番号 2 2 (K a b a t) の C D R L 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 2 3 の軽鎖可変領域 (V _L) アミノ酸配列を有する。V _L ドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 2 4 である。V _H ドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 1 9 3、配列番号 1 9 5、配列番号 1 9 7、配列番号 1 9 9、配列番号 2 0 1、配列番号 2 0 3、配列番号 2 0 5、配列番号 3 4 0、配列番号 5 2 4、配列番号 5 2 6、配列番号 5 2 8、配列番号 5 3 0、配列番号 5 3 2、または配列番号 5 3 4 と組み合わせられ得る。V _L ドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 2 0 7、2 0 9、2 1 1、2 1 3、2 1 5、2 1 7、2 1 9、2 2 1、2 2 3、2 2 5、2 2 7、2 2 9、2 3 1、2 3 3、2 3 5、2 3 7、5 3 6、および 5 3 8 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 1 5 (重鎖核酸配列配列番号 1 6) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 2 5 (軽鎖核酸配列配列番号 2 6) である。

【0152】

1D05 HC変異体1は、配列番号27 (IMGT) または配列番号30 (Kabatt) のCDRH1アミノ酸配列、配列番号28 (IMGT) または配列番号31 (Kabatt) のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号29 (IMGT) または配列番号32 (Kabatt) のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号47の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。1D05 HC変異体1は、配列番号37 (IMGT) または配列番号40 (Kabatt) のCDRL1アミノ酸配列、配列番号38 (IMGT) または配列番号41 (Kabatt) のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号39 (IMGT) または配列番号42 (Kabatt) のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号43の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号44である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号45 (軽鎖核酸配列配列番号46) である。

10

【0153】

1D05 HC変異体2は、配列番号27 (IMGT) または配列番号30 (Kabatt) のCDRH1アミノ酸配列、配列番号28 (IMGT) または配列番号31 (Kabatt) のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号29 (IMGT) または配列番号32 (Kabatt) のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号48の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。1D05 HC変異体2は、配列番号37 (IMGT) または配列番号40 (Kabatt) のCDRL1アミノ酸配列、配列番号38 (IMGT) または配列番号41 (Kabatt) のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号39 (IMGT) または配列番号42 (Kabatt) のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号43の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号44である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号45 (軽鎖核酸配列配列番号46) である。

20

30

【0154】

1D05 HC変異体3は、配列番号27 (IMGT) または配列番号30 (Kabatt) のCDRH1アミノ酸配列、配列番号28 (IMGT) または配列番号31 (Kabatt) のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号29 (IMGT) または配列番号32 (Kabatt) のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号49の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。1D05 HC変異体3は、配列番号37 (IMGT) または配列番号40 (Kabatt) のCDRL1アミノ酸配列、配列番号38 (IMGT) または配列番号41 (Kabatt) のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号39 (IMGT) または配列番号42 (Kabatt) のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号43の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号44である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番

40

50

号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号45（軽鎖核酸配列配列番号46）である。

【0155】

1D05 HC変異体4は、配列番号27（IMGT）または配列番号30（Kabatt）のCDRH1アミノ酸配列、配列番号28（IMGT）または配列番号31（Kabatt）のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号29（IMGT）または配列番号32（Kabatt）のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号342の重鎖可変（V_H）領域アミノ酸配列を有する。1D05 HC変異体4は、配列番号37（IMGT）または配列番号40（Kabatt）のCDRL1アミノ酸配列、配列番号38（IMGT）または配列番号41（Kabatt）のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号39（IMGT）または配列番号42（Kabatt）のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号43の軽鎖可変領域（V_L）アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号44である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号45（軽鎖核酸配列配列番号46）である。

【0156】

1D05 LC変異体1は、配列番号27（IMGT）または配列番号30（Kabatt）のCDRH1アミノ酸配列、配列番号28（IMGT）または配列番号31（Kabatt）のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号29（IMGT）または配列番号32（Kabatt）のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号33の重鎖可変（V_H）領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号34である。1D05 LC変異体1は、配列番号37（IMGT）または配列番号40（Kabatt）のCDRL1アミノ酸配列、および配列番号39（IMGT）または配列番号42（Kabatt）のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号50の軽鎖可変領域（V_L）アミノ酸配列を有する。1D05 LC変異体1のCDRL2配列は、配列番号50のV_L配列からKabattまたはIMGTシステムによって定義される通りである。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号35（重鎖核酸配列配列番号36）である。

【0157】

1D05 LC変異体2は、配列番号27（IMGT）または配列番号30（Kabatt）のCDRH1アミノ酸配列、配列番号28（IMGT）または配列番号31（Kabatt）のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号29（IMGT）または配列番号32（Kabatt）のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号33の重鎖可変（V_H）領域

アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号34である。1D05 LC変異体2は、配列番号37 (IMGT) または配列番号40 (Kabatt) のCDRL1アミノ酸配列、配列番号38 (IMGT) または配列番号41 (Kabatt) のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号39 (IMGT) または配列番号42 (Kabatt) のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号51の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号35 (重鎖核酸配列配列番号36) である。

【0158】

1D05 LC変異体3は、配列番号27 (IMGT) または配列番号30 (Kabatt) のCDRH1アミノ酸配列、配列番号28 (IMGT) または配列番号31 (Kabatt) のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号29 (IMGT) または配列番号32 (Kabatt) のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号33の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号34である。1D05 LC変異体3は、配列番号37 (IMGT) または配列番号40 (Kabatt) のCDRL1アミノ酸配列、および配列番号39 (IMGT) または配列番号42 (Kabatt) のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号298の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。1D05 LC変異体3のCDRL2配列は、配列番号298のV_L配列からKabattまたはIMGTシステムによって定義される通りである。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号44である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号35 (重鎖核酸配列配列番号36) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号45 (軽鎖核酸配列配列番号46) である。

【0159】

411B08は、配列番号52 (IMGT) または配列番号55 (Kabatt) のCDRH1アミノ酸配列、配列番号53 (IMGT) または配列番号56 (Kabatt) のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号54 (IMGT) または配列番号57 (Kabatt) のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号58の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号59である。411B08は、配列番号62 (IMGT) または配列番号65 (Kabatt) のCDRL1アミノ酸配列、配列番号63 (IMGT) または配列番号66 (Kabatt) のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号64 (IMGT) または配列番号67 (Kabatt) のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号68の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号69である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載さ

れる軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号60（重鎖核酸配列配列番号61）である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号70（軽鎖核酸配列配列番号71）である。

【0160】

411C04は、配列番号72（IMGT）または配列番号75（Kabatt）のCDRH1アミノ酸配列、配列番号73（IMGT）または配列番号76（Kabatt）のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号74（IMGT）または配列番号77（Kabatt）のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号78の重鎖可変（V_H）領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号79である。411C04は、配列番号82（IMGT）または配列番号85（Kabatt）のCDRL1アミノ酸配列、配列番号83（IMGT）または配列番号86（Kabatt）のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号84（IMGT）または配列番号87（Kabatt）のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号88の軽鎖可変領域（V_L）アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号89である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号80（重鎖核酸配列配列番号81）である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号90（軽鎖核酸配列配列番号91）である。

【0161】

411D07は、配列番号92（IMGT）または配列番号95（Kabatt）のCDRH1アミノ酸配列、配列番号93（IMGT）または配列番号96（Kabatt）のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号94（IMGT）または配列番号97（Kabatt）のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号98の重鎖可変（V_H）領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号99である。411D07は、配列番号102（IMGT）または配列番号105（Kabatt）のCDRL1アミノ酸配列、配列番号103（IMGT）または配列番号106（Kabatt）のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号104（IMGT）または配列番号107（Kabatt）のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号108の軽鎖可変領域（V_L）アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号109である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号100（重鎖核酸配列配列番号101）である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号110（軽鎖核酸配列配列番号111）である。

【0162】

385F01は、配列番号112（IMGT）または配列番号115（Kabatt）のCDRH1アミノ酸配列、配列番号113（IMGT）または配列番号116（Kabatt）のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号114（IMGT）または配列番号117（Kabatt）のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号118の重鎖可変（V_H）

10

20

30

40

50

領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号119である。385F01は、配列番号122 (IMGT) または配列番号125 (Kabatt) のCDRL1アミノ酸配列、配列番号123 (IMGT) または配列番号126 (Kabatt) のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号124 (IMGT) または配列番号127 (Kabatt) のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号128の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号129である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号120 (重鎖核酸配列配列番号121) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号130 (軽鎖核酸配列配列番号131) である。

【0163】

386H03は、配列番号152 (IMGT) または配列番号155 (Kabatt) のCDRH1アミノ酸配列、配列番号153 (IMGT) または配列番号156 (Kabatt) のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号154 (IMGT) または配列番号157 (Kabatt) のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号158の重鎖可変 (V_H) 領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号159である。386H03は、配列番号162 (IMGT) または配列番号165 (Kabatt) のCDRL1アミノ酸配列、配列番号163 (IMGT) または配列番号166 (Kabatt) のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号164 (IMGT) または配列番号167 (Kabatt) のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号168の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号169である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号160 (重鎖核酸配列配列番号161) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号170 (軽鎖核酸配列配列番号171) である。

【0164】

389A03は、配列番号172 (IMGT) または配列番号175 (Kabatt) のCDRH1アミノ酸配列、配列番号173 (IMGT) または配列番号176 (Kabatt) のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号174 (IMGT) または配列番号177 (Kabatt) のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号178の重鎖可変 (V_H) 領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号179である。389A03は、配列番号182 (IMGT) または配列番号185 (Kabatt) のCDRL1アミノ酸配列、配列番号183 (IMGT) または配列番号186 (Kabatt) のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号184 (IMGT) または配列番号187 (Kabatt) のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号188の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号189である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号

203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号180（重鎖核酸配列配列番号181）である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号190（軽鎖核酸配列配列番号191）である。

【0165】

413D08は、配列番号132（IMGT）または配列番号135（Kabatt）のCDRH1アミノ酸配列、配列番号133（IMGT）または配列番号136（Kabatt）のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号134（IMGT）または配列番号137（Kabatt）のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号138の重鎖可変（V_H）領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号139である。413D08は、配列番号142（IMGT）または配列番号145（Kabatt）のCDRL1アミノ酸配列、配列番号143（IMGT）または配列番号146（Kabatt）のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号144（IMGT）または配列番号147（Kabatt）のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号148の軽鎖可変領域（V_L）アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号149である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号140（重鎖核酸配列配列番号141）である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号150（軽鎖核酸配列配列番号151）である。

【0166】

413G05は、配列番号238（IMGT）または配列番号241（Kabatt）のCDRH1アミノ酸配列、配列番号239（IMGT）または配列番号242（Kabatt）のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号240（IMGT）または配列番号243（Kabatt）のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号244の重鎖可変（V_H）領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号245である。413G05は、配列番号248（IMGT）または配列番号251（Kabatt）のCDRL1アミノ酸配列、配列番号249（IMGT）または配列番号252（Kabatt）のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号250（IMGT）または配列番号253（Kabatt）のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号254の軽鎖可変領域（V_L）アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号255である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号246（重鎖核酸配列配列番号247）である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号256（軽鎖核酸配列配列番号257）である。

10

20

30

40

50

【0167】

413F09は、配列番号258 (IMGT) または配列番号261 (Kabatt) のCDRH1アミノ酸配列、配列番号259 (IMGT) または配列番号262 (Kabatt) のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号260 (IMGT) または配列番号263 (Kabatt) のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号264の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号265である。413F09は、配列番号268 (IMGT) または配列番号271 (Kabatt) のCDRL1アミノ酸配列、配列番号269 (IMGT) または配列番号272 (Kabatt) のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号270 (IMGT) または配列番号273 (Kabatt) のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号274の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号275である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号266 (重鎖核酸配列配列番号267) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号276 (軽鎖核酸配列配列番号277) である。

10

20

【0168】

414B06は、配列番号278 (IMGT) または配列番号281 (Kabatt) のCDRH1アミノ酸配列、配列番号279 (IMGT) または配列番号282 (Kabatt) のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号280 (IMGT) または配列番号283 (Kabatt) のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号284の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号285である。414B06は、配列番号288 (IMGT) または配列番号291 (Kabatt) のCDRL1アミノ酸配列、配列番号289 (IMGT) または配列番号292 (Kabatt) のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号290 (IMGT) または配列番号293 (Kabatt) のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号294の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号295である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号286 (重鎖核酸配列配列番号287) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号296 (軽鎖核酸配列配列番号297) である。

30

40

【0169】

416E01は、配列番号343 (IMGT) または配列番号346 (Kabatt) のCDRH1アミノ酸配列、配列番号344 (IMGT) または配列番号347 (Kabatt) のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号345 (IMGT) または配列番号348 (Kabatt) のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号349の重鎖可変領域(V_H)アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号350である。416E01は、配列番号353 (IMGT) または配列番号356 (Kabatt) のCDRL1アミノ酸配列、配列番号354 (IMGT) または配列番号357 (Kabatt)

50

のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号355 (IMGT) または配列番号358 (Kabat) のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号359の軽鎖可変領域 (VL) アミノ酸配列を有する。VLドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号360である。VHドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。VLドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号351 (重鎖核酸配列配列番号352) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号361 (軽鎖核酸配列配列番号362) である。

10

【0170】

本発明の抗体は、以下の概念、態様、文、構成、および実施形態に関して記載される。別途記載されない限り、全ての概念、実施形態、文、構成、および態様は、他の概念、態様、文、構成、または実施形態と組み合わせることができるものとして読まれるべきである。

【0171】

概念1. 配列番号1によって定義されるhPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体1D05と競合する抗体またはその断片であって、当該抗体または断片が、モチーフX₁GSGX₂YGX₃X₄FDを含むCDRH3を含むVHドメインを含み、式中、X₁、X₂、およびX₃が独立して任意のアミノ酸であり、X₄が存在するかまたは存在しないかのいずれかであり、存在する場合、任意のアミノ酸であり得る、抗体またはその断片。

20

【0172】

これらの概念において、抗体または断片は、二重特異性抗体を含んでもよく、または含まなくてもよい。一実施形態では、これらの概念において、抗体または断片は、二重特異性抗体を含む。一実施形態では、二重特異性抗体は、FIT-Igフォーマットを含まない。一実施形態では、二重特異性抗体は、mAb²フォーマットを含まない。一実施形態では、二重特異性抗体は、FIT-IgフォーマットまたはmAb²フォーマットのいずれも含まない。一実施形態では、これらの概念における抗体または断片は、二重特異性抗体を含むが、FIT-Igフォーマットを有する二重特異性抗体を含まない。一実施形態では、これらの概念における抗体または断片は、二重特異性抗体を含むが、mAb²フォーマットを有する二重特異性抗体を含まない。一実施形態では、これらの概念における抗体または断片は、二重特異性抗体を含むが、FIT-IgフォーマットまたはmAb²フォーマットを有する二重特異性抗体を含まない。別の実施形態では、これらの概念において、抗体または断片は、二重結合抗体を含む。

30

【0173】

好ましくは、hPD-L1抗原に特異的に結合する抗体またはその断片は、他の抗原と交差反応しない (しかし、任意に、異なる種、例えばアカゲザル、カニクイザル、またはマウスのPD-L1と交差反応し得てもよい)。hPD-L1抗原に特異的に結合する抗体またはその断片は、例えば、免疫アッセイ、BIACore (商標)、または当該技術分野で既知の他の技術によって同定され得る。抗体またはその断片は、放射免疫測定法 (RIA) および酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) 等の実験技術を使用して判定した場合、それが任意の交差反応性抗原に対するよりも高い親和性でhPD-L1抗原に結合するときに、hPD-L1抗原に特異的に結合する。典型的には、特異的または選択的反応は、少なくとも2倍のバックグラウンドシグナルまたはノイズ、より典型的には10倍超のバックグラウンドである。抗体特異性に関する考察については、例えば、Paul, ed., 1989, Fundamental Immunology Second Ed

40

50

ition, Raven Press, New Yorkの332～336頁を参照されたい。

【0174】

一実施形態では、抗体または断片は、ヒト抗体である。一実施形態では、抗体または断片は、ヒト抗体または断片である。一実施形態では、抗体または断片は、完全ヒト抗体または断片である。一実施形態では、抗体または断片は、完全ヒトモノクローナル抗体または断片である。

【0175】

概念1a：配列番号1によって定義されるhPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体411B08と競合する抗体またはその断片であって、当該抗体または断片が、モチーフARX₁RX₂X₃SDX₄X₅Dを含むCDRH3を含むV_Hドメインを含み、式中、X₁、X₂、X₃、X₄、およびX₅が独立して任意のアミノ酸である、抗体またはその断片もまた提供される。

10

【0176】

概念1b：配列番号1によって定義されるhPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体411B08と競合する抗体またはその断片であって、当該抗体または断片が、モチーフX₁RDGSGSYを含むCDRH3を含むV_Hドメインを含み、式中、X₁が任意のアミノ酸である、抗体またはその断片もまた提供される。

【0177】

本明細書における概念または態様に提供されるように、抗PD-L1抗体または免疫サイトカインは、表面プラズモン共鳴によって判定された50nM未満、40nM未満、30nM未満のK_Dを有するPD-L1、例えばヒトPD-L1に結合し得る。別の実施形態では、抗PD-L1抗体または免疫サイトカインは、表面プラズモン共鳴によって判定された20nM未満、15nM未満、10nM未満のK_Dを有するPD-L1、例えばヒトPD-L1に結合し得る。抗PD-L1または免疫サイトカインは、表面プラズモン共鳴によって判定された8nM未満、5nM未満、4nM未満、3nM未満、2nM、または1nM未満K_Dを有するPD-L1、例えばヒトPD-L1に結合し得る。K_Dは、0.9nM以下、0.8nM以下、0.7nM以下、0.6nM以下、0.5nM以下、0.4nM以下、0.3nM以下、0.2nM以下、または0.1nM以下であり得る。

20

【0178】

別の実施形態では、K_Dは、0.01～1nMの範囲内、または0.05～2nMの範囲内、または0.05～1nMの範囲内である。K_Dは、hPD-L1、cynoPD-L1、および／またはマウスPD-L1に関するものであり得る。

30

【0179】

別の実施形態では、本明細書に記載される抗PD-L1抗体は、約0.5～10μM、例えば、約1～8μMまたは約1～7μMのK_{ON}速度（例えば、25℃または37℃でSPRによって測定される）を有する。別の実施形態では、K_{ON}速度は、約1～5μM、例えば、約1μM、約1.5μM、約2μM、約2.5μM、または約3μMである。別の実施形態では、K_{ON}速度は、約3.5μM、約4μM、約4.5、約5μM、または約5.5μMである。

40

【0180】

別の実施形態では、本明細書に記載の抗PD-L1抗体は、約0.01～100mM、例えば約0.1～50mMまたは約0.5～50mMのK_{OFF}速度（例えば25℃または37℃でSPRによって測定）を有する。別の実施形態では、K_{OFF}速度は、約0.5～10mMまたは約0.5～10mM、例えば、約1mM、約2mM、約3mM、約4mM、または約5mMである。別の実施形態では、K_{OFF}速度は、約0.6mM、約0.7mM、約0.8mM、または約0.9mMである。

【0181】

別の実施形態では、本明細書における概念および態様に記載される抗PD-L1抗体（および免疫サイトカイン）は、他の抗PD-L1抗体および免疫サイトカインよりも改善

50

された一過性発現レベルを提供する。したがって、一実施形態では、抗PD-L1抗体（または免疫サイトカイン）は、約100 µg/mL、または約100~350 µg/mLの範囲内の発現レベルで、HEK293細胞、例えば、HEK293T細胞中で発現される。別の実施形態では、発現レベルは、約350 µg/mLを超える。

【0182】

別の実施形態では、抗PD-L1抗体（または免疫サイトカイン）は、約100 µg/mL、または約100~350 µg/mLの範囲内の発現レベルで、CHO細胞、例えば、Exp1-CHO細胞中で発現される。別の実施形態では、発現レベルは、約350 µg/mLを超える。

【0183】

別の実施形態では、抗PD-L1抗体（または免疫サイトカイン）は、約100 µg/mL、または約100~350 µg/mLの範囲内の発現レベルで、CHO細胞、例えば、Exp1-CHO細胞またはCHO-E7 EBNA細胞中で発現される。別の実施形態では、発現レベルは、約350 µg/mLを超える。1D05として本明細書に記載され、CHO-E7 EBNA細胞中、2 Lの容積でヒトIgG1（配列番号340としてフォーマット化された抗体は、約115 µg/mLの発現レベルを有する。416E01として本明細書に記載され、CHO-E7 EBNA細胞中、2 Lの容積でヒトIgG1（配列番号340）としてフォーマット化された抗体は、約160 µg/mLの発現レベルを有する。1414B06として本明細書に記載され、CHO-E7 EBNA細胞中、2 Lの容積でヒトIgG1（配列番号340）としてフォーマット化された抗体は、約783 µg/mLの発現レベルを有する。413G05として本明細書に記載され、CHO-E7 EBNA細胞中、2 Lの容積でヒトIgG1（配列番号340）としてフォーマット化された抗体は、約383 µg/mLの発現レベルを有する。

【0184】

これらの発現系のいずれにおいても、発現は、約0.5 mL~3 mL、例えば約0.5 mL~2 mLの程度で実施される。これらの発現系のいずれにおいても、抗PD-L1抗体（または免疫サイトカイン）は、pTT5ベクターから発現され得る。これらの発現系のいずれにおいても、抗PD-L1抗体（または免疫サイトカイン）は、脂質トランスフェクション試薬と併せて発現され得、任意に、CHO細胞、例えばExp1-CHO細胞中で発現されてもよい。これらの発現系のいずれにおいても、抗PD-L1抗体（または免疫サイトカイン）は、PEIトランスフェクション試薬と併せて発現され得、任意に、CHO細胞、例えばCHO-E7 EBNA細胞中で発現されてもよい。これらの発現系のいずれにおいても、抗PD-L1抗体（または免疫サイトカイン）は、ヘルパープラスミド（例えば、AKTヘルパープラスミド）と併せて発現され得、任意に、CHO細胞、例えばCHO-E7 EBNA細胞中で発現されてもよい。

【0185】

これらの発現系のいずれにおいても、発現レベルは、約100 µg/mL~約1500 µg/mL、例えば、約100 µg/mL~約1000 µg/mL、または約200 µg/mL~約1000 µg/mL、または約350 µg/mL~約1000 µg/mLである。これらの発現系のいずれにおいても、発現の下限は、約100 µg/mL、約200 µg/mL、約300 µg/mL、または約400 µg/mLであり得る。別の実施形態では、発現の下限は、約500 µg/mL、約600 µg/mL、約700 µg/mL、または約800 µg/mLであり得る。これらの発現系のいずれにおいても、発現の上限は、約2000 µg/mL、約1800 µg/mL、約1600 µg/mL、または約1500 µg/mLであり得る。別の実施形態では、発現の上限は、約1250 µg/mL、約1000 µg/mL、約900 µg/mL、または約800 µg/mLであり得る。

【0186】

別の実施形態では、発現系は、Lonza発現系、例えばLonza X-Ceed（登録商標）である。Lonza発現系において、発現は、約30 mL~2 L、例えば50 mL~1 Lまたは1 L~2 Lの程度で実施され得る。Lonza発現系において、抗PD

10

20

30

40

50

ー L 1 抗体（または免疫サイトカイン）は、電気穿孔と併せて、そして任意に、いかなるヘルパープラスミドも伴わずに発現され得てもよい。L o n z a 発現系において、抗 P Dー L 1 抗体（または免疫サイトカイン）は、約 1 g / L、または約 9 0 0 m g / L、または約 8 0 0 m g / L、または約 7 0 0 m g / L のレベルで発現され得る。別の実施形態では、L o n z a 発現系において、抗 P Dー L 1 抗体（または免疫サイトカイン）は、約 6 0 0 m g / L、または約 5 0 0 m g / L、または約 4 0 0 m g / L のレベルで発現され得る。L o n z a 発現系において、抗 P Dー L 1 抗体（または免疫サイトカイン）は、約 4 0 0 m g / L ~ 約 2 g / L、例えば、約 5 0 0 m g / L ~ 約 1 . 5 g / L、または約 5 0 0 m g / L ~ 約 1 g / L のレベルで発現され得る。別の実施形態では、発現レベルは、1 g / L を超える。別の実施形態では、本概念に記載される抗 P Dー L 1 抗体は、本明細書において以下の態様 1 にさらに記載されるように、他の抗 P Dー L 1 抗体よりも改善された半減期を提供する。

10

【 0 1 8 7 】

概念 2 . X ₁ が、ヒドロキシル含有アミノ酸であり、任意に T であってもよい、概念 1 に記載の抗体または断片。

【 0 1 8 8 】

一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、セリンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、システインである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、トレオニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、メチオニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、セリンまたはシステインである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、セリンまたはトレオニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、セリンまたはメチオニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、システインまたはトレオニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、システインまたはメチオニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、トレオニンまたはメチオニンである。

20

【 0 1 8 9 】

一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、セリン、システイン、トレオニン、およびメチオニンから選択される。

【 0 1 9 0 】

概念 2 a . X ₁ が、脂肪族アミノ酸またはアミドアミノ酸である、概念 1 a に記載の抗体または断片。

30

【 0 1 9 1 】

一実施形態では、X ₁ は、アスパラギン（N）およびバリン（V）から選択される。一実施形態では、X ₁ は、バリンである。一実施形態では、X ₁ は、アスパラギンである。

【 0 1 9 2 】

概念 2 b . X ₁ が、脂肪族アミノ酸である、概念 1 b に記載の抗体または断片。

【 0 1 9 3 】

一実施形態では、X ₁ は、アラニン（A）またはバリン（V）から選択される。一実施形態では、X ₁ は、バリンである。一実施形態では、X ₁ は、アラニンである。

【 0 1 9 4 】

概念 3 . X ₂ が、塩基性アミノ酸であり、任意に K であってもよい、概念 1 または概念 2 に記載の抗体または断片。

40

【 0 1 9 5 】

一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、ヒスチジンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、リジンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、アルギニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、ヒスチジンまたはリジンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、ヒスチジンまたはアルギニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、リジンまたはアルギニンである。

【 0 1 9 6 】

50

一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、ヒスチジン、リジン、およびアルギニンから選択される。

【0197】

概念3a. X_2 が、脂肪族アミノ酸またはアミドアミノ酸である、概念1aまたは概念2aに記載の抗体または断片。

【0198】

一実施形態では、 X_2 は、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、バリン(V)、アスパラギン(N)、およびグルタミン(Q)から選択される。一実施形態では、 X_2 は、ロイシン(L)、イソロイシン(I)、およびバリン(V)から選択される。一実施形態では、 X_2 は、アスパラギン(N)およびグルタミン(Q)から選択される。一実施形態では、 X_2 は、ロイシン(L)およびグルタミン(Q)から選択される。一実施形態では、 X_2 は、ロイシン(L)である。一実施形態では、 X_2 は、グルタミン(Q)である。

10

【0199】

概念4. X_2 が、ヒドロキシル含有アミノ酸、任意選択でSまたはTである、概念1〜3のいずれか一項に記載の抗体または断片。

【0200】

一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、セリンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、システインである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、トレオニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、メチオニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、セリンまたはシステインである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、セリンまたはトレオニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、セリンまたはメチオニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、システインまたはトレオニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、システインまたはメチオニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、トレオニンまたはメチオニンである。

20

【0201】

一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、セリン、システイン、トレオニン、およびメチオニンから選択される。

【0202】

概念4a. X_3 が、芳香族アミノ酸である、概念1a、2a、または3aのいずれか一項に記載の抗体または断片。

30

【0203】

一実施形態では、 X_3 は、フェニルアラニン(F)、チロシン(Y)、およびトリプトファン(W)から選択される。一実施形態では、 X_3 は、チロシン(Y)およびトリプトファン(W)から選択される。一実施形態では、 X_3 は、チロシン(Y)である。一実施形態では、 X_3 は、トリプトファン(W)である。

【0204】

概念5. X_3 が、芳香族アミノ酸であり、任意にWであってもよい、概念1〜4のいずれか一項に記載の抗体または断片。

【0205】

一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、フェニルアラニンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、チロシンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、トリプトファンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、フェニルアラニンまたはチロシンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、フェニルアラニンまたはトリプトファンである。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、チロシンまたはトリプトファンである。

40

【0206】

一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファンから選択される。

【0207】

50

概念 5 a. X_4 が、芳香族アミノ酸である、概念 1 a、2 a、3 a、または 4 a のいずれか一項に記載の抗体または断片。

【0208】

一実施形態では、 X_4 は、フェニルアラニン (F)、チロシン (Y)、およびトリプトファン (W) から選択される。一実施形態では、 X_4 は、チロシン (Y) およびフェニルアラニン (F) から選択される。一実施形態では、 X_4 は、チロシン (Y) である。一実施形態では、 X_4 は、フェニルアラニン (F) である。

【0209】

概念 6. X_4 が、存在しない、概念 1～5 のいずれか一項に記載の抗体または断片。

【0210】

概念 6 a. X_5 が、脂肪族アミノ酸またはヒドロキシル含有アミノ酸である、概念 1 a、2 a、3 a、4 a、または 5 a に記載の抗体または断片。

【0211】

一実施形態では、 X_5 は、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、バリン (V)、セリン (S)、システイン (C)、およびトレオニン (T) から選択される。一実施形態では、 X_5 は、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、およびバリン (V) から選択される。一実施形態では、 X_5 は、セリン (S)、システイン (C)、およびトレオニン (T) から選択される。一実施形態では、 X_5 は、ロイシン (L) およびセリン (S) から選択される。一実施形態では、 X_5 は、セリン (S) である。一実施形態では、 X_5 は、ロイシン (L) である。

【0212】

概念 7. X_4 が、存在する、概念 1～5 のいずれか一項に記載の抗体または断片。

【0213】

概念 8. X_4 が、脂肪族アミノ酸であり、任意に G であってもよい、概念 7 に記載の抗体または断片。

【0214】

一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシンから選択される。

【0215】

一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、グリシンおよびアラニンから選択される。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、グリシンおよびバリンから選択される。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、グリシンおよびロイシンから選択される。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、グリシンおよびイソロイシンから選択される。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、アラニンおよびバリンから選択される。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、アラニンおよびロイシンから選択される。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、アラニンおよびイソロイシンから選択される。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、バリンおよびロイシンから選択される。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、バリンおよびイソロイシンから選択される。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、ロイシンおよびイソロイシンから選択される。

【0216】

一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシンのそれぞれのうちの 3 つから選択される。一実施形態では、ヒドロキシル含有アミノ酸は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシンのそれぞれのうちの 4 つから選択される。

【0217】

概念 9. hPD-L1 に特異的に結合し、hPD-L1 への結合について抗体 1D05 と競合し、配列番号 29 もしくは 32 の CDRH3 配列、または 6 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 29 もしくは 32 の CDRH3 配列を含む V_H ドメインを含む、任意に概念 1～8 のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であってもよい、抗体またはそ

10

20

30

40

50

の断片。

【0218】

概念9a: hPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体84G09と競合し、配列番号9もしくは12のCDRH3配列、または6個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号9もしくは12のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含む、任意に概念1～8のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であってもよい、抗体またはその断片。

【0219】

概念9b: hPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体411B08と競合し、配列番号54もしくは57のCDRH3配列、または6個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号54もしくは57のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含む、任意に概念1～8のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であってもよい、抗体またはその断片。

10

【0220】

概念9c: hPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体411C04と競合し、配列番号74もしくは77のCDRH3配列、または6個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号74もしくは77のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含む、任意に概念1～8のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であってもよい、抗体またはその断片。

【0221】

概念9d: hPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体411D07と競合し、配列番号94もしくは97のCDRH3配列、または3個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号94もしくは97のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含む、任意に概念1～8のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であってもよい、抗体またはその断片。

20

【0222】

概念9e: hPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体385F01と競合し、配列番号114もしくは117のCDRH3配列、または6個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号114もしくは117のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含む、任意に概念1～8のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であってもよい、抗体またはその断片。

30

【0223】

概念9f: hPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体386H03と競合し、配列番号144もしくは147のCDRH3配列、または3個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号144もしくは147のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含む、任意に概念1～8のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であってもよい、抗体またはその断片。

【0224】

概念9g: hPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体389A03と競合し、配列番号174もしくは177のCDRH3配列、または6個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号174もしくは177のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含む、任意に概念1～8のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であってもよい、抗体またはその断片。

40

【0225】

概念9h: hPD-L1に特異的に結合し、hPD-L1への結合について抗体413D08と競合し、配列番号134もしくは137のCDRH3配列、または5個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号134もしくは137のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含む、任意に概念1～8のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であってもよい、抗体またはその断片。

【0226】

50

概念 9 i : h P D - L 1 に特異的に結合し、h P D - L 1 への結合について抗体 4 1 3 G 0 5 と競合し、配列番号 2 4 0 もしくは 2 4 3 の C D R H 3 配列、または 6 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 2 4 0 もしくは 2 4 3 の C D R H 3 配列を含む V_H ドメインを含む、任意に概念 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であってもよい、抗体またはその断片。

【0227】

概念 9 j : h P D - L 1 に特異的に結合し、h P D - L 1 への結合について抗体 4 1 3 F 0 9 と競合し、配列番号 2 6 0 もしくは 2 6 3 の C D R H 3 配列、または 6 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 2 6 0 もしくは 2 6 3 の C D R H 3 配列を含む V_H ドメインを含む、任意に概念 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であってもよい、抗体またはその断片。

10

【0228】

概念 9 k : h P D - L 1 に特異的に結合し、h P D - L 1 への結合について抗体 4 1 4 B 0 6 と競合し、配列番号 2 8 0 もしくは 2 8 3 の C D R H 3 配列、または 6 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 2 8 0 もしくは 2 8 3 の C D R H 3 配列を含む V_H ドメインを含む、任意に概念 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であってもよい、抗体またはその断片。

【0229】

概念 9 l : h P D - L 1 に特異的に結合し、h P D - L 1 への結合について抗体 4 1 6 E 0 1 と競合し、配列番号 3 4 5 もしくは 3 4 8 の C D R H 3 配列、または 6 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 3 4 5 もしくは 3 4 8 の C D R H 3 配列を含む V_H ドメインを含む、任意に概念 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であってもよい、抗体またはその断片。

20

【0230】

概念 9、9 a ~ l、17、17 a ~ l、18、18 a ~ l、19、19 a ~ l、22、22 a ~ l、23、23 a ~ l、24、および 24 a ~ l の全てにおいて、一実施形態では、C D R は、1 つのアミノ酸置換を含み、これは保存的アミノ酸置換であり得る。概念 9、9 a ~ l、17、17 a ~ l、18、18 a ~ l、19、19 a ~ l、22、22 a ~ l、23、23 a ~ l、24、および 24 a ~ l の全てにおいて、一実施形態では、C D R は、2 つのアミノ酸置換を含み、これは保存的アミノ酸置換であり得る。概念 9、9 a ~ l、17、17 a ~ l、18、18 a ~ l、19、19 a ~ l、22、22 a、22 b、22 d、22 f、22 g、24、および 24 a ~ l の全てにおいて、一実施形態では、C D R は、3 つのアミノ酸置換を含み、これは保存的アミノ酸置換であり得る。概念 9、9 a ~ c、9 e、9 g ~ l、17、17 a ~ c、17 e、17 g ~ l、19、19 a、22、22 d、22 f、22 g、24、および 24 a ~ l の全てにおいて、一実施形態では、C D R は、4 つのアミノ酸置換を含み、これは保存的アミノ酸置換であり得る。概念 9、9 a ~ c、9 e、9 g ~ l、17、17 a ~ c、17 e、17 g ~ l、22 d、22 f、および 22 g の全てにおいて、一実施形態では、C D R は、5 つのアミノ酸置換を含み、これは保存的アミノ酸置換であり得る。概念 9、9 a ~ c、9 e、9 g、9 i ~ l、17、17 a ~ c、17 e、17 g、および 17 i ~ l の全てにおいて、一実施形態では、C D R は、6 つのアミノ酸置換を含み、これは保存的アミノ酸置換であり得る。

30

40

【0231】

アミノ酸置換には、アミノ酸が異なる天然型アミノ酸残基で置き換えられる改変が含まれる。かかる置換は、「保存的」として分類され得、この場合、ポリペプチド中に含有されるアミノ酸残基は、極性、側鎖官能性、またはサイズのいずれかについて類似の特徴を有する別の天然型アミノ酸で置き換えられる。かかる保存的置換は、当該技術分野で周知である。本発明によって包含される置換はまた、「非保存的」であってもよく、この場合、ペプチド中に存在するアミノ酸残基が、異なる群由来の天然型アミノ酸等の異なる特性を有するアミノ酸で置換される（例えば、家電または疎水性のアミノ酸をアラニンで置換する）か、または代替的には、天然型アミノ酸が特殊なアミノ酸で置換される。

50

【0232】

一実施形態では、保存的アミノ酸置換は、本明細書に記載される通りである。例えば、置換は、FによるYの置換、SまたはKによるTの置換、AによるPの置換、DまたはQによるEの置換、DまたはGによるNの置換、KによるRの置換、NまたはAによるGの置換、SまたはKによるTの置換、NまたはEによるDの置換、LまたはVによるIの置換、YによるFの置換、TまたはAによるSの置換、KによるRの置換、NまたはAによるGの置換、RによるKの置換、S、K、またはPによるAの置換であり得る。別の実施形態では、保存的アミノ酸置換は、YがFによって置換され、TがAまたはSによって置換され、IがLまたはVによって置換され、WがYによって置換され、MがLによって置換され、NがDによって置換され、GがAによって置換され、TがAまたはSによって置換され、DがNによって置換され、IがLまたはVによって置換され、FがYまたはLによって置換され、SがAまたはTによって置換され、AがS、G、T、またはVによって置換されるものであり得る。

10

【0233】

概念10. hPD-L1に特異的に結合し、12~20個のアミノ酸のCDRH3を含むV_Hドメインを含み、ヒトV_H遺伝子セグメント、ヒトD遺伝子セグメント、およびヒトJ_H遺伝子セグメントの組換えに由来し、ヒトJ_H遺伝子セグメントが、IGHJ5（例えば、IGHJ5*02）である、抗体または断片。

【0234】

一実施形態では、CDRH3は、14~17個のアミノ酸であり、ヒトJ_H遺伝子セグメントは、IGHJ5（例えば、IGHJ5*02）である。

20

【0235】

概念10a hPD-L1に特異的に結合し、8~16個のアミノ酸のCDRH3を含むV_Hドメインを含み、ヒトV_H遺伝子セグメント、ヒトD遺伝子セグメント、およびヒトJ_H遺伝子セグメントの組換えに由来し、ヒトJ_H遺伝子セグメントが、IGHJ4（例えば、IGHJ4*02）、IGHJ5（例えば、IGHJ5*02）、およびIGHJ6（例えば、IGHJ6*02）から選択される、抗体または断片。

【0236】

別の実施形態では、ヒトJ_H遺伝子セグメントは、IGHJ6（例えば、IGHJ6*02）である。別の実施形態では、CDRH3は、10~17個のアミノ酸であり、ヒトJ_H遺伝子セグメントは、IGHJ6（例えば、IGHJ6*02）である。

30

【0237】

別の実施形態では、ヒトJ_H遺伝子セグメントは、IGHJ4（例えば、IGHJ4*02）である。別の実施形態では、CDRH3は、7~17個のアミノ酸であり、ヒトJ_H遺伝子セグメントは、IGHJ4（例えば、IGHJ4*02）である。

【0238】

任意に、概念10または10aの抗体は、結合親和性、K_{on}およびK_{off}速度、発現レベル、半減期等を含む、概念1~9の特性のいずれかを有してもよい。

【0239】

概念11. ヒトV_H遺伝子セグメントが、IGHV3（例えば、IGHV3-9*01等のIGHV3-9）である、概念10または10aに記載の抗体または断片。

40

【0240】

概念11a ヒトV_H遺伝子セグメントが、IGHV3（例えば、IGHV3-9*01等のIGHV3-9、もしくは例えば、IGHV3-7*01等のIGHV3-7、もしくは例えば、IGHV3-33*01等のIGHV3-33、もしくは例えば、IGHV3-11*01等のIGHV3-11、もしくは例えば、IGHV3-23*04等のIGHV3-23）またはIGHV4（例えば、IGHV4-4*02等のIGHV4-4、もしくは例えば、IGHV4-39*01等のIGHV4-39）から選択される、概念10または10aに記載の抗体または断片もまた提供される。

【0241】

50

一実施形態では、ヒトV_H遺伝子セグメントは、IGHV3（例えば、IGHV3-7*01等のIGHV3-7）である。一実施形態では、ヒトV_H遺伝子セグメントは、IGHV3（例えば、IGHV3-33*01等のIGHV3-33）である。一実施形態では、ヒトV_H遺伝子セグメントは、IGHV3（例えば、IGHV3-11*01等のIGHV3-11）である。一実施形態では、ヒトV_H遺伝子セグメントは、IGHV3（例えば、IGHV3-23*04等のIGHV3-23）である。

【0242】

一実施形態では、ヒトV_H遺伝子セグメントは、IGHV4（例えば、例えば、IGHV4-4*02等のIGHV4-4）である。一実施形態では、ヒトV_H遺伝子セグメントは、IGHV4（例えば、IGHV4-39*01等のIGHV4-39）である。

10

【0243】

概念11b ヒトD遺伝子セグメントが、IGHD1（例えば、IGHD1-20*01等のIGHD1-20）、IGHD3（例えば、IGHD3-10*01等のIGHD3-10）、IGHD4（例えば、IGHD4-11*01等のIGHD4-11）、IGHD5（例えば、IGHD5-18*01等のIGHD5-7）、およびIGHD6（例えば、IGHD6-13*01等のIGHD6-13）から選択される、概念10、10a、11、または11aに記載の抗体または断片もまた提供される。

【0244】

一実施形態では、ヒトD遺伝子セグメントは、IGHD1（例えば、IGHD1-20*01等のIGHD1-20）である。一実施形態では、ヒトD遺伝子セグメントは、IGHD3（例えば、IGHD3-10*01等のIGHD3-10）である。一実施形態では、ヒトD遺伝子セグメントは、IGHD4（例えば、IGHD4-11*01等のIGHD4-11）である。一実施形態では、ヒトD遺伝子セグメントは、IGHD5（例えば、IGHD5-19*01等のIGHD5-18）である。一実施形態では、ヒトD遺伝子セグメントは、IGHD6（例えば、IGHD6-13*01等のIGHD6-13）である。

20

【0245】

概念10、11、および11aのいずれにおいても、V_H、D_H、およびJ_H遺伝子セグメントは、本明細書において以下の表5中の抗体の組み合わせで記載される通りである。一実施形態では、抗体の重鎖は、IGHV3（例えば、IGHV3-7*01等のIGHV3-7）、IGHD4（例えば、IGHD4-11*01等のIGHD4-11）、およびIGHJ4（例えば、IGHJ4*02）の組み合わせに由来する。一実施形態では、抗体の重鎖は、IGHV4（例えば、IGHV4-4*02等のIGHV4-4）、IGHD3（例えば、IGHD3-10*01等のIGHD3-10）、およびIGHJ4（例えば、IGHJ4*02）の組み合わせに由来する。一実施形態では、抗体の重鎖は、IGHV4（例えば、IGHV4-39*01等のIGHV4-39）、IGHD6（例えば、IGHD6-13*01等のIGHD6-13）、およびIGHJ1（例えば、IGHJ1*01）の組み合わせに由来する。一実施形態では、抗体の重鎖は、IGHV3（例えば、IGHV3-33*01等のIGHV3-33）、IGHD5（例えば、IGHD5-18*01等のIGHD5-18）、およびIGHJ6（例えば、IGHJ6*02）の組み合わせに由来する。一実施形態では、抗体の重鎖は、IGHV3（例えば、IGHV3-11*01等のIGHV3-11）、IGHD1（例えば、IGHD1-20*01等のIGHD1-20）、およびIGHJ6（例えば、IGHJ6*02）の組み合わせに由来する。一実施形態では、抗体の重鎖は、IGHV3（例えば、IGHV3-23*04等のIGHV3-23）、IGHD5（例えば、IGHD5-18*01等のIGHD5-18）、およびIGHJ4（例えば、IGHJ4*02）の組み合わせに由来する。一実施形態では、抗体の重鎖は、IGHV3（例えば、IGHV3-7*01等のIGHV3-7）、IGHD5（例えば、IGHD5-24*01等のIGHD5-24）、およびIGHJ4（例えば、IGHJ4*02）の組み合わせに由来する。一実施形態では、抗体の重鎖は、IGHV3（例えば、IGHV3-23*04等のIGH

30

40

50

V3-23)、IGHD6 (例えば、IGHD6-13*01等のIGHD6-13)、およびIGHJ4 (例えば、IGHJ4*02)の組み合わせに由来する。

【0246】

概念12. 当該抗体または断片が、ヒトV_κ遺伝子セグメントおよびJ_κ遺伝子セグメントの組換えに由来するV_Lドメインを含み、ヒトV_κ遺伝子セグメントが、IGKV1D (例えば、IGKV1D-39*01等のIGKV1D-39)である、概念10、10a、11、11a、または11bに記載の抗体または断片。

【0247】

概念12a ヒトV_κ遺伝子セグメントが、IGKV1 (例えば、IGKV1-17*01等のIGKV1-17、または例えば、IGKV1-9*d01等のIGKV1-9、または例えば、IGKV1D-12*02等のIGKV1D-12、または例えば、IGKV1D-39*01等のIGKV1D-39)およびIGKV4 (例えば、IGKV4-1*01等のIGKV4-1)から選択される、概念10、10a、11、11a、または11bのいずれかに記載の抗体または断片もまた提供される。

【0248】

一実施形態では、ヒトV_κ遺伝子セグメントは、IGKV1 (例えば、IGKV1-17*01等のIGKV1-17)である。一実施形態では、ヒトV_κ遺伝子セグメントは、IGKV1 (例えば、IGKV1-9*d01等のIGKV1-9)である。一実施形態では、ヒトV_κ遺伝子セグメントは、IGKV1 (例えば、IGKV1D-12*02等のIGKV1D-12)である。一実施形態では、ヒトV_κ遺伝子セグメントは、IGKV1 (例えば、IGKV1D-39*01等のIGKV1D-39)である。

【0249】

一実施形態では、ヒトV_κ遺伝子セグメントは、IGKV1 IGV4 (例えば、IGKV4-1*01等のIGKV4-1)である。

【0250】

概念12b ヒトJ_κ遺伝子セグメントが、IGKJ1 (例えば、IGKJ1*01)、IGKJ2 (例えば、IGKJ2*04)、IGKJ3 (例えば、IGKJ3*01)、IGKJ4 (例えば、IGKJ4*01)、またはIGKJ5 (例えば、IGKJ5*01)から選択される、概念10、10a、11、または11aに記載の抗体または断片もまた提供される。

【0251】

一実施形態では、ヒトJ_κ遺伝子セグメントは、IGKJ1 (例えば、IGKJ1*01)である。一実施形態では、ヒトJ_κ遺伝子セグメントは、IGKJ2 (例えば、IGKJ2*04)である。一実施形態では、ヒトJ_κ遺伝子セグメントは、IGKJ3 (例えば、IGKJ3*01)である。一実施形態では、ヒトJ_κ遺伝子セグメントは、IGKJ4 (例えば、IGKJ4*01)である。一実施形態では、ヒトJ_κ遺伝子セグメントは、IGKJ5 (例えば、IGKJ5*01)である。

【0252】

概念12および12aのいずれにおいても、V_κおよびJ_κ遺伝子セグメントは、本明細書において以下の表5中の抗体の組み合わせで記載される通りである。一実施形態では、抗体の軽鎖は、IGKV1D (例えば、IGKV1D-12*02等のIGKV1D-12)およびIGKJ3 (例えば、IGKJ3*01)の組み合わせに由来する。一実施形態では、抗体の軽鎖は、IGKV4 (例えば、IGKV14-1*01等のIGKV4-1)およびIGKJ2 (例えば、IGKJ2*04)の組み合わせに由来する。一実施形態では、抗体の軽鎖は、IGKV1 (例えば、IGKV1-17*01等のIGKV1-17)およびIGKJ1 (例えば、IGKJ1*01)の組み合わせに由来する。一実施形態では、抗体の軽鎖は、IGKV1D (例えば、IGKV1D-12*02等のIGKV1D-12)およびIGKJ4 (例えば、IGKJ4*01)の組み合わせに由来する。一実施形態では、抗体の軽鎖は、IGKV1 (例えば、IGKV1-9*d01等のIGKV1-9)およびIGKJ5 (例えば、IGKJ5*01)の組み合わせに由来す

10

20

30

40

50

る。一実施形態では、抗体の軽鎖は、I G K V 1 D（例えば、I G K V 1 D - 1 2 * 0 2 等の I G K V 1 D - 1 2）および I G K J 5（例えば、I G K J 5 * 0 1）の組み合わせに由来する。

【0253】

概念13．抗体1 D 0 5が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0254】

概念13 a．抗体8 4 G 0 9が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0255】

概念13 b．抗体4 1 1 B 0 8が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0256】

概念13 c．抗体4 1 1 C 0 4が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0257】

概念13 d．抗体4 1 1 D 0 7が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0258】

概念13 e．抗体3 8 5 F 0 1が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0259】

概念13 f．抗体3 8 6 H 0 3が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0260】

概念13 g．抗体3 8 9 A 0 3が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0261】

概念13 h．抗体4 1 3 D 0 8が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0262】

概念13 i．抗体4 1 3 G 0 5が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0263】

概念13 j．抗体4 1 3 F 0 9が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0264】

概念13 k．抗体4 1 4 B 0 6が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0265】

概念13 l．抗体4 1 6 E 0 1が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0266】

これらの概念に記載される抗体は、本明細書における上記の配列を有する。

【0267】

一実施形態では、概念13、13 a～13 lにおける抗体が結合するエピトープと実質的に同様であるエピトープに特異的に結合する抗体が提供される。

【0268】

抗体と抗原との相互作用に関与する接触アミノ酸残基は、当該技術分野で既知の様々な方法によって判定され得る。

10

20

30

40

50

【0269】

一実施形態では、抗原配列のアミノ酸の連続的置換（抗原のコード配列のDNAを変異させるために標準的な分子生物学技術を使用する）、この場合、アラニン（別名、アラニンスキアン）またはまたは別の無関係のアミノ酸によるhPD-L1の置換は、その変異により抗体が目的の抗原を認識する能力を低減させるかまたは取り除かれることになる残基を提供し得る。結合は、限定されるものではないが、SPR、HTRF、ELISA（本明細書の他の箇所に記載されている）等の標準的な技術を使用して評価され得る。抗原配列アミノ酸の側鎖の電化を変える（例えば、リシンをグルタミン酸に変える）、極性および非極性残基を交換する（例えば、セリンをロイシンに変える）等のように、結合の途絶を高めるために他の置換を行ってもよい。アラニンスキアンまたは他のアミノ置換法は、組換え型可溶性抗原を用いて、または標的が細胞膜標的である場合には、変異したバージョンの一過性もしくは安定性発現を使用して細胞上に直接的に実施することができる。

10

【0270】

一実施形態では、抗体と抗原との間の接触残基を判定する（すなわち、抗体が結合するエピトープを判定する）ために、タンパク質結晶構造解析が使用され得、結晶構造解析は、抗体-抗原相互作用に関与する接触残基の直接視覚化を可能にする。標準的なX線結晶構造解析と並んで、抗体とHIVカプシドタンパク質との間の接触残基を判定するために低温電子顕微鏡法が使用されてきた（Lee, Jeong Hyun, et al. 「Antibodies to a conformational epitope on gp41 neutralize HIV-1 by destabilizing the Env spike.」, Nature communications, 6, (2015) を参照されたい）。

20

【0271】

一実施形態では、抗体が直鎖状エピトープを認識した場合、抗原配列に基づいて短鎖ペプチドが産生され得、これらのペプチドに対する抗体の結合は、これらに限定されないが、SPR、HTRF、ELISA（これらは本明細書の他の箇所に記載されている）等の標準的な技術を使用して評価され得る。エピトープのさらなる調査は、結合を示す任意のペプチド上でアラニンスキアンを実施することによって提供され得る。直鎖状ペプチドの代わりに、骨格上へのペプチドの化学結合を使用するPepscan技術（<http://www.pepscan.com/>）を使用して配座スキャンが実施され得、これは、CD20標的化抗体上の不連続のエピトープを判定するために使用されている（Niederfellner, Gerhard, et al. 「Epitope characterization and crystal structure of GA101 provide insights into the molecular basis for type I/II distinction of CD20 antibodies.」, Blood, 118. 2, (2011), 358-367.）。

30

【0272】

一実施形態では、結合エピトープを同定するために、限定タンパク質消化および質量分光光度測定が使用され得る。抗体-抗原複合体は、これに限定されないが、トリプシン等のプロテアーゼによって消化される。消化された複合体ペプチドを抗体単独および抗原単独の消化質量分光光度測定を比較して、特定のエピトープが複合体形成によって保護されているかどうかを判定する。相互作用に関与する個々のアミノ酸残基を絞るために、アミノ酸置換を伴うさらなる作用である競合結合が用いられ得る（例えば、Suckau, Detlev, et al. 「Molecular epitope identification by limited proteolysis of an immobilized antigen-antibody complex and mass spectrometric peptide mapping.」, Proceedings of the National Academy of Sciences, 87. 24, (1990), 9848-9852を参照されたい）。

40

【0273】

50

したがって、一実施形態では、エピトープの接触残基は、無関係のアミノ酸スキャン（例えば、アラニンスキャン）を用いて同定される。別の実施形態では、無関係のアミノ酸スキャン（例えば、アラニンスキャン）は、SPR、HTRF、ELISA、X線結晶構造解析、低温電子顕微鏡法、および限定タンパク質消化と質量分析法との組み合わせから選択される技術を使用して実施される。一実施形態では、無関係のアミノ酸スキャン（例えば、アラニンスキャン）は、HTRFを使用して実施される。一実施形態では、無関係のアミノ酸スキャン（例えば、アラニンスキャン）は、ELISAを使用して実施される。

【0274】

アラニンスキャンがELISAまたはHTRFのいずれかを用いて実施されるとき、シグナルの低減が少なくとも25%である場合に、アミノ酸残基はエピトープに寄与するものとして同定される。一実施形態では、シグナルの低減は、少なくとも30%である。一実施形態では、シグナルの減少は、少なくとも35%である。一実施形態では、シグナルの減少は、少なくとも40%である。一実施形態では、シグナルの減少は、少なくとも45%である。一実施形態では、シグナルの減少は、少なくとも50%である。一実施形態では、シグナルの減少は、少なくとも55%である。一実施形態では、シグナルの減少は、少なくとも60%である。一実施形態では、シグナルの減少は、少なくとも70%である。一実施形態では、シグナルの減少は、少なくとも75%である。一実施形態では、シグナルの減少は、少なくとも80%である。一実施形態では、シグナルの減少は、少なくとも85%である。一実施形態では、シグナルの減少は、少なくとも90%である。

【0275】

アラニンスキャンがSPRを用いて実施されるとき、親和性の少なくとも10倍の低減が存在する場合に、アミノ酸残基はエピトープに寄与するものとして同定される。一実施形態では、親和性の低減は、少なくとも15倍である。一実施形態では、親和性の低減は、少なくとも20倍である。一実施形態では、親和性の低減は、少なくとも30倍である。一実施形態では、親和性の低減は、少なくとも40倍である。一実施形態では、親和性の低減は、少なくとも50倍である。一実施形態では、親和性の低減は、少なくとも100倍である。

【0276】

したがって、一実施形態では、エピトープの接触残基は、X線結晶構造解析によって同定される。したがって、一実施形態では、エピトープの接触残基は、低温電子顕微鏡法によって同定される。したがって、一実施形態では、エピトープの接触残基は、限定タンパク質消化と質量分析法との組み合わせによって同定される。

【0277】

概念14．エピトープが、無関係のアミノ酸スキャンまたはX線結晶構造解析によって同定される、概念13に記載の抗体または断片。

【0278】

概念15．エピトープの接触残基が、SPRによって判定される、無関係のアミノ酸スキャン、例えばアラニンスキャンにおける親和性の少なくとも10倍の低減によって定義される、概念14に記載の抗体または断片。

【0279】

一実施形態では、親和性の減少は、少なくとも15倍である。一実施形態では、親和性の低減は、少なくとも20倍である。一実施形態では、親和性の低減は、少なくとも30倍である。一実施形態では、親和性の低減は、少なくとも40倍である。一実施形態では、親和性の低減は、少なくとも50倍である。一実施形態では、親和性の低減は、少なくとも100倍である。

【0280】

SPRは、上記のように実施され得る。

【0281】

概念16．hPD-L1への結合について抗体1D05と競合する、抗体またはその断片。

【0282】

競合は、表面プラズモン共鳴（SPR）によって判定され得、かかる技術は、当業者には容易に明らかである。SPRは、Biacore（商標）、Proteon（商標）、または別の標準的なSPR技術を使用して実施され得る。かかる競合は、例えば、hPD-L1の同一のまたは重複したエピトープに結合する抗体または断片に起因し得る。一実施形態では、競合は、ELISAによって判定され得、かかる技術は、当業者には容易に明らかである。一実施形態では、競合は、均一性時間分解蛍光法（HTRF）によって判定され得、かかる技術は、当業者には容易に明らかである。一実施形態では、競合は、蛍光標識細胞分取（FACS）によって判定され得、かかる技術は、当業者には容易に明らかである。一実施形態では、競合は、ForteBio Octet（登録商標）バイオレイヤーインターフェロメトリー（BLI）によって判定され得、かかる技術は、当業者には容易に明らかである。

10

【0283】

一実施形態では、抗体または断片は、細胞表面発現hPD-L1への結合についてhPD-1（またはその融合タンパク質）と競合する（例えば、用量依存的様式で）。一実施形態では、抗体または断片は、可溶性hPD-L1への結合についてhPD-1（またはその融合タンパク質）と競合する（例えば、用量依存的様式で）。

【0284】

一実施形態では、抗体または断片は、hPD-L1等の細胞表面発現PD-L1へのPD-1および／またはCD80の結合を部分的または完全に阻害する。別の実施形態では、抗体または断片は、可溶性hPD-L1へのhPD-1および／またはCD80の結合を部分的または完全に阻害する。いくつかの実施形態では、抗体または断片は、細胞表面発現PD-1を有する細胞からのIFN γ 、CD25、およびIL-2の分泌を部分的または完全に増加させる。一実施形態では、抗体または断片は、可溶性hPD-L1へのCD80の結合を部分的または完全に阻害するが、細胞表面発現PD-L1へのPD-1の結合の検出可能な阻害を一切示さない。一実施形態では、抗体または断片は、可溶性hPD-L1へのCD80の結合を部分的または完全に阻害するが、可溶性PD-L1へのPD-1の結合の検出可能な阻害を一切示さない。

20

【0285】

本明細書で使用される場合、「阻害する」、「阻害」、「阻害すること」等は、本明細書で使用される場合、アンタゴニスト（例えば、抗体またはその断片）が、リガンド（例えば、PD-L1）への受容体（例えば、CD80またはPD-1）の結合を部分的または完全に妨げるエピトープに結合する能力を指す。アンタゴニストが結合するエピトープが、リガンドの結合部位を完全に遮断すると、リガンド結合は完全に妨げられ（これは、重複エピトープの場合には物理的遮断、またはアンタゴニストがその固有のエピトープへのリガンド結合を妨げる程大きい場合には立体遮断であり得る）、リガンドは、循環から除去されない。したがって、循環するリガンドの濃度が増加したように見える場合がある。アンタゴニストが結合するエピトープがリガンドの結合部位を部分的に遮断する場合、リガンドは、結合することができる場合があるが、弱く結合するのみである（部分的阻害の場合）か、または天然結合相互作用とは異なる配向で結合する。この場合、リガンドのうちのいくつかは、循環から除去され得るが、リガンド結合部位が完全に遊離し、結合に利用可能である場合ほど多くは除去されない。したがって、阻害とは、リガンドと受容体との物理的相互作用を指す。阻害は、HTRFによって測定することができ、これは、本明細書における他の箇所、およびMathis（1995）Clinical Chemistry 41（9），1391-1397においてより詳細に記載される。阻害はまた、受容体が細胞上で発現されるフローサイトメトリー、または受容体がプレートに吸着されるELISAによって測定され得る。

30

40

【0286】

概念16a．hPD-L1への結合について抗体84G09と競合する、抗体またはその断片。

50

【0287】

概念16b. hPD-L1への結合について抗体411B08と競合する、抗体またはその断片。

【0288】

概念16c. hPD-L1への結合について抗体411C04と競合する、抗体またはその断片。

【0289】

概念16d. hPD-L1への結合について抗体411D07と競合する、抗体またはその断片。

【0290】

概念16e. hPD-L1への結合について抗体385F01と競合する、抗体またはその断片。

【0291】

概念16f. hPD-L1への結合について抗体386H03と競合する、抗体またはその断片。

【0292】

概念16g. hPD-L1への結合について抗体389A03と競合する、抗体またはその断片。

【0293】

概念16h. hPD-L1への結合について抗体413D08と競合する、抗体またはその断片。

【0294】

概念16i. hPD-L1への結合について抗体413G05と競合する、抗体またはその断片。

【0295】

概念16j. hPD-L1への結合について抗体413F09と競合する、抗体またはその断片。

【0296】

概念16k. hPD-L1への結合について抗体414B06と競合する、抗体またはその断片。

【0297】

概念16l. hPD-L1への結合について抗体416E01と競合する、抗体またはその断片。

【0298】

抗体は、本明細書において上記の配列を有する。

【0299】

概念17. V_Hドメインが、配列番号29もしくは32のCDRH3配列、または6個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号29もしくは32のCDRH3配列を含む、概念10～16のいずれか一項に記載の抗体または断片。

【0300】

概念17a: V_Hドメインが、配列番号9もしくは12のCDRH3配列、または6個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号9もしくは12のCDRH3配列を含む、概念10～16のいずれか一項（但し、概念13に従属する場合には概念13aに従属し、概念16に従属する場合には概念16aに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0301】

概念17b: V_Hドメインが、配列番号54もしくは57のCDRH3配列、または6個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号54もしくは57のCDRH3配列を含む、概念10～16のいずれか一項（但し、概念13に従属する場合には概念13bに従属し、概念16に従属する場合には概念16bに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0302】

10

20

30

40

50

概念 17 c : V_Hドメインが、配列番号 74 もしくは 77 の CDRH3 配列、または 6 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 74 もしくは 77 の CDRH3 配列を含む、概念 10 ~ 16 のいずれか一項（但し、概念 13 に従属する場合には概念 13 c に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 c に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0303】

概念 17 d : V_Hドメインが、配列番号 94 もしくは 97 の CDRH3 配列、または 3 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 94 もしくは 97 の CDRH3 配列を含む、概念 10 ~ 16 のいずれか一項（但し、概念 13 に従属する場合には概念 13 d に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 d に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0304】

概念 17 e : V_Hドメインが、配列番号 114 もしくは 117 の CDRH3 配列、または 6 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 114 もしくは 117 の CDRH3 配列を含む、概念 10 ~ 16 のいずれか一項（但し、概念 13 に従属する場合には概念 13 e に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 e に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0305】

概念 17 f : V_Hドメインが、配列番号 144 もしくは 147 の CDRH3 配列、または 3 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 144 もしくは 147 の CDRH3 配列を含む、概念 10 ~ 16 のいずれか一項（但し、概念 13 に従属する場合には概念 13 f に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 f に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0306】

概念 17 g : V_Hドメインが、配列番号 174 もしくは 177 の CDRH3 配列、または 6 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 174 もしくは 177 の CDRH3 配列を含む、概念 10 ~ 16 のいずれか一項（但し、概念 13 に従属する場合には概念 13 g に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 g に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0307】

概念 17 h : V_Hドメインが、配列番号 134 もしくは 137 の CDRH3 配列、または 5 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 134 もしくは 137 の CDRH3 配列を含む、概念 10 ~ 16 のいずれか一項（但し、概念 13 に従属する場合には概念 13 h に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 h に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0308】

概念 17 i : V_Hドメインが、配列番号 240 もしくは 243 の CDRH3 配列、または 6 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 240 もしくは 243 の CDRH3 配列を含む、概念 10 ~ 16 のいずれか一項（但し、概念 13 に従属する場合には概念 13 i に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 i に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0309】

概念 17 j : V_Hドメインが、配列番号 260 もしくは 263 の CDRH3 配列、または 6 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 260 もしくは 263 の CDRH3 配列を含む、概念 10 ~ 16 のいずれか一項（但し、概念 13 に従属する場合には概念 13 j に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 j に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0310】

概念 17 k : V_Hドメインが、配列番号 280 もしくは 283 の CDRH3 配列、または 6 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 280 もしくは 283 の CDRH3 配列を含む、概念 10 ~ 16 のいずれか一項（但し、概念 13 に従属する場合には概念 13 k に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 k に従属する）に記載の抗体またはその断

10

20

30

40

50

片。

【0311】

概念17l：V_Hドメインが、配列番号345もしくは348のCDRH3配列、または6個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号345もしくは348のCDRH3配列を含む、概念10～16のいずれか一項（但し、概念13に従属する場合には概念13lに従属し、概念16に従属する場合には概念16lに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0312】

概念18：V_Hドメインが、配列番号27もしくは30のCDRH1配列、または3、2、もしくは1個のアミノ酸置換を含有する配列番号27もしくは30のCDRH1配列を含む、概念1～17のいずれかに記載の抗体または断片。

10

【0313】

概念18a：V_Hドメインが、配列番号7もしくは10のCDRH1配列、または3、2、または1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号7もしくは10のCDRH1配列を含む、概念1～17のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9aに従属し、概念13に従属する場合には概念13aに従属し、概念16に従属する場合には概念16aに従属し、概念17に従属する場合には概念17aに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0314】

概念18b：V_Hドメインが、配列番号52もしくは55のCDRH1配列、または3、2、または1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号52もしくは55のCDRH1配列を含む、概念1～17のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9bに従属し、概念13に従属する場合には概念13bに従属し、概念16に従属する場合には概念16bに従属し、概念17に従属する場合には概念17bに従属する）に記載の抗体またはその断片。

20

【0315】

概念18c：V_Hドメインが、配列番号72もしくは75のCDRH1配列、または3、2、または1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号72もしくは75のCDRH1配列を含む、概念1～17のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9cに従属し、概念13に従属する場合には概念13cに従属し、概念16に従属する場合には概念16cに従属し、概念17に従属する場合には概念17cに従属する）に記載の抗体またはその断片。

30

【0316】

概念18d：V_Hドメインが、配列番号92もしくは95のCDRH1配列、または3、2、または1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号92もしくは95のCDRH1配列を含む、概念1～17のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9dに従属し、概念13に従属する場合には概念13dに従属し、概念16に従属する場合には概念16dに従属し、概念17に従属する場合には概念17dに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0317】

概念18e：V_Hドメインが、配列番号112もしくは115のCDRH1配列、または3、2、または1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号112もしくは115のCDRH1配列を含む、概念1～17のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9eに従属し、概念13に従属する場合には概念13eに従属し、概念16に従属する場合には概念16eに従属し、概念17に従属する場合には概念17eに従属する）に記載の抗体またはその断片。

40

【0318】

概念18f：V_Hドメインが、配列番号142もしくは145のCDRH1配列、または3、2、または1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号142もしくは145のCDRH1配列を含む、概念1～17のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には

50

概念 9 f に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 f に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 f に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 f に従属する) に記載の抗体またはその断片。

【0319】

概念 1 8 g : V_H ドメインが、配列番号 1 7 2 もしくは 1 7 5 の C D R H 1 配列、または 3、2、または 1 個のアミノ酸置換 (複数可) を含む配列番号 1 7 2 もしくは 1 7 5 の C D R H 1 配列を含む、概念 1 ~ 1 7 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 g に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 g に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 g に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 g に従属する) に記載の抗体またはその断片。

10

【0320】

概念 1 8 h : V_H ドメインが、配列番号 1 3 2 もしくは 1 3 5 の C D R H 1 配列、または 3、2、または 1 個のアミノ酸置換 (複数可) を含む配列番号 1 3 2 もしくは 1 3 5 の C D R H 1 配列を含む、概念 1 ~ 1 7 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 h に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 h に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 h に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 h に従属する) に記載の抗体またはその断片。

【0321】

概念 1 8 i : V_H ドメインが、配列番号 2 3 8 もしくは 2 4 1 の C D R H 1 配列、または 3、2、または 1 個のアミノ酸置換 (複数可) を含む配列番号 2 3 8 もしくは 2 4 1 の C D R H 1 配列を含む、概念 1 ~ 1 7 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 i に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 i に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 i に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 i に従属する) に記載の抗体またはその断片。

20

【0322】

概念 1 8 j : V_H ドメインが、配列番号 2 5 8 もしくは 2 6 1 の C D R H 1 配列、または 3、2、または 1 個のアミノ酸置換 (複数可) を含む配列番号 2 5 8 もしくは 2 6 1 の C D R H 1 配列を含む、概念 1 ~ 1 7 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 j に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 j に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 j に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 j に従属する) に記載の抗体またはその断片。

30

【0323】

概念 1 8 k : V_H ドメインが、配列番号 2 7 8 もしくは 2 8 1 の C D R H 1 配列、または 3、2、または 1 個のアミノ酸置換 (複数可) を含む配列番号 2 7 8 もしくは 2 8 1 の C D R H 1 配列を含む、概念 1 ~ 1 7 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 k に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 k に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 k に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 k に従属する) に記載の抗体またはその断片。

【0324】

概念 1 8 l : V_H ドメインが、配列番号 3 4 3 もしくは 3 4 6 の C D R H 1 配列、または 3、2、または 1 個のアミノ酸置換 (複数可) を含む配列番号 3 4 3 もしくは 3 4 6 の C D R H 1 配列を含む、概念 1 ~ 1 7 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 l に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 l に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 l に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 l に従属する) に記載の抗体またはその断片。

40

【0325】

概念 1 9 . V_H ドメインが、配列番号 2 8 もしくは 3 1 の C D R H 2 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 2 8 もしくは 3 1 の C D R H 2 配列を含む、概念 1 ~ 1 8 のいずれかに記載の抗体または断片。

【0326】

50

概念 19 a : V_Hドメインが、配列番号 8 もしくは 11 の CDRH2 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 8 もしくは 11 の CDRH2 配列を含む、概念 1 ~ 18 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 a に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 a に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 a に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 a に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 a に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0327】

概念 19 b : V_Hドメインが、配列番号 53 もしくは 56 の CDRH2 配列、または 3、2、または 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 53 もしくは 56 の CDRH2 配列を含む、概念 1 ~ 18 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 b に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 b に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 b に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 b に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 b に従属する）に記載の抗体またはその断片。

10

【0328】

概念 19 c : V_Hドメインが、配列番号 73 もしくは 76 の CDRH2 配列、または 3、2、または 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 73 もしくは 76 の CDRH2 配列を含む、概念 1 ~ 18 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 c に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 c に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 c に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 c に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 c に従属する）に記載の抗体またはその断片。

20

【0329】

概念 19 d : V_Hドメインが、配列番号 93 もしくは 96 の CDRH2 配列、または 3、2、または 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 93 もしくは 96 の CDRH2 配列を含む、概念 1 ~ 18 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 d に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 d に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 d に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 d に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 d に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0330】

概念 19 e : V_Hドメインが、配列番号 113 もしくは 116 の CDRH2 配列、または 3、2、または 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 113 もしくは 116 の CDRH2 配列を含む、概念 1 ~ 18 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 e に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 e に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 e に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 e に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 e に従属する）に記載の抗体またはその断片。

30

【0331】

概念 19 f : V_Hドメインが、配列番号 143 もしくは 146 の CDRH2 配列、または 3、2、または 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 143 もしくは 146 の CDRH2 配列を含む、概念 1 ~ 18 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 f に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 f に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 f に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 f に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 f に従属する）に記載の抗体またはその断片。

40

【0332】

概念 19 g : V_Hドメインが、配列番号 173 もしくは 176 の CDRH2 配列、または 3、2、または 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 173 もしくは 176 の CDRH2 配列を含む、概念 1 ~ 18 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 g に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 g に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 g に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 g に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 g に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0333】

概念 19 h : V_Hドメインが、配列番号 133 もしくは 136 の CDRH2 配列、また

50

は3、2、または1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号133もしくは136のCDRH2配列を含む、概念1～18のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9hに従属し、概念13に従属する場合には概念13hに従属し、概念16に従属する場合には概念16hに従属し、概念17に従属する場合には概念17hに従属し、概念18に従属する場合には概念18hに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0334】

概念19i：V_Hドメインが、配列番号239もしくは242のCDRH2配列、または3、2、または1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号239もしくは242のCDRH2配列を含む、概念1～18のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9iに従属し、概念13に従属する場合には概念13iに従属し、概念16に従属する場合には概念16iに従属し、概念17に従属する場合には概念17iに従属し、概念18に従属する場合には概念18iに従属する）に記載の抗体またはその断片。

10

【0335】

概念19j：V_Hドメインが、配列番号259もしくは262のCDRH2配列、または3、2、または1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号259もしくは262のCDRH2配列を含む、概念1～18のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9jに従属し、概念13に従属する場合には概念13jに従属し、概念16に従属する場合には概念16jに従属し、概念17に従属する場合には概念17jに従属し、概念18に従属する場合には概念18jに従属する）に記載の抗体またはその断片。

20

【0336】

概念19k：V_Hドメインが、配列番号279もしくは282のCDRH2配列、または3、2、または1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号279もしくは282のCDRH2配列を含む、概念1～18のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9kに従属し、概念13に従属する場合には概念13kに従属し、概念16に従属する場合には概念16kに従属し、概念17に従属する場合には概念17kに従属し、概念18に従属する場合には概念18kに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0337】

概念19l：V_Hドメインが、配列番号344もしくは347のCDRH2配列、または3、2、または1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号344もしくは347のCDRH2配列を含む、概念1～18のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9lに従属し、概念13に従属する場合には概念13lに従属し、概念16に従属する場合には概念16lに従属し、概念17に従属する場合には概念17lに従属し、概念18に従属する場合には概念18lに従属する）に記載の抗体またはその断片。

30

【0338】

概念20．V_Hドメインが、配列番号33のアミノ酸配列、または配列番号33と少なくとも80%（例えば、少なくとも85%または少なくとも90%）同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念1～19のいずれかに記載の抗体または断片。

【0339】

概念20a：V_Hドメインが、配列番号13のアミノ酸配列、または配列番号13と少なくとも80%（例えば、少なくとも85%または少なくとも90%）同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念1～19のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9aに従属し、概念13に従属する場合には概念13aに従属し、概念16に従属する場合には概念16aに従属し、概念17に従属する場合には概念17aに従属し、概念18に従属する場合には概念18aに従属し、概念19に従属する場合には概念19aに従属する）に記載の抗体またはその断片。

40

【0340】

概念20b：V_Hドメインが、配列番号58のアミノ酸配列、または配列番号58と少なくとも80%（例えば、少なくとも85%または少なくとも90%）同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念1～19のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9bに従属し、概念13に従属する場合には概念13bに従属し、概念16

50

に従属する場合には概念 16 b に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 b に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 b に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 b に従属する) に記載の抗体またはその断片。

【0341】

概念 20 c : V_H ドメインが、配列番号 78 のアミノ酸配列、または配列番号 78 と少なくとも 80 % (例えば、少なくとも 85 % または少なくとも 90 %) 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1 ~ 19 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 c に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 c に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 c に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 c に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 c に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 c に従属する) に記載の抗体またはその断片。

10

【0342】

概念 20 d : V_H ドメインが、配列番号 98 のアミノ酸配列、または配列番号 98 と少なくとも 80 % (例えば、少なくとも 85 % または少なくとも 90 %) 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1 ~ 19 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 d に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 d に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 d に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 d に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 d に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 d に従属する) に記載の抗体またはその断片。

【0343】

概念 20 e : V_H ドメインが、配列番号 118 のアミノ酸配列、または配列番号 118 と少なくとも 80 % (例えば、少なくとも 85 % または少なくとも 90 %) 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1 ~ 19 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 e に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 e に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 e に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 e に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 e に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 e に従属する) に記載の抗体またはその断片。

20

【0344】

概念 20 f : V_H ドメインが、配列番号 158 のアミノ酸配列、または配列番号 158 と少なくとも 80 % (例えば、少なくとも 85 % または少なくとも 90 %) 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1 ~ 19 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 f に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 f に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 f に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 f に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 f に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 f に従属する) に記載の抗体またはその断片。

30

【0345】

概念 20 g : V_H ドメインが、配列番号 178 のアミノ酸配列、または配列番号 178 と少なくとも 80 % (例えば、少なくとも 85 % または少なくとも 90 %) 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1 ~ 19 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 g に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 g に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 g に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 g に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 g に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 g に従属する) に記載の抗体またはその断片。

40

【0346】

概念 20 h : V_H ドメインが、配列番号 138 のアミノ酸配列、または配列番号 138 と少なくとも 80 % (例えば、少なくとも 85 % または少なくとも 90 %) 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1 ~ 19 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 h に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 h に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 h に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 h に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 h に従属し、概念 19 に従属する場合には

50

概念 19 h に従属する) に記載の抗体またはその断片。

【0347】

概念 20 i : V_Hドメインが、配列番号 244 のアミノ酸配列、または配列番号 244 と少なくとも 80% (例えば、少なくとも 85% または少なくとも 90%) 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1 ~ 19 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 i に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 i に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 i に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 i に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 i に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 i に従属する) に記載の抗体またはその断片。

【0348】

概念 20 j : V_Hドメインが、配列番号 264 のアミノ酸配列、または配列番号 264 と少なくとも 80% (例えば、少なくとも 85% または少なくとも 90%) 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1 ~ 19 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 j に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 j に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 j に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 j に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 j に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 j に従属する) に記載の抗体またはその断片。

【0349】

概念 20 k : V_Hドメインが、配列番号 284 のアミノ酸配列、または配列番号 284 と少なくとも 80% (例えば、少なくとも 85% または少なくとも 90%) 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1 ~ 19 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 k に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 k に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 k に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 k に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 k に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 k に従属する) に記載の抗体またはその断片。

【0350】

概念 20 l : V_Hドメインが、配列番号 349 のアミノ酸配列、または配列番号 349 と少なくとも 80% (例えば、少なくとも 85% または少なくとも 90%) 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1 ~ 19 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 l に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 l に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 l に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 l に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 l に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 l に従属する) に記載の抗体またはその断片。

【0351】

一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも 70% 同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも 75% 同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも 95% 同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも 96% 同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも 97% 同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも 98% 同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも 99% 同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも 99.5% 同一である。

【0352】

概念 21. V_Hドメインの第 1 および第 2 のコピーを含む、概念 1 ~ 20 のいずれかに記載の抗体または断片。

【0353】

概念 22. 配列番号 37 もしくは 40 の CDR L1 配列、または 3 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 37 もしくは 40 の CDR L1 配列を含む V_Lドメインを含む、概念 1 ~ 21 のいずれかに記載の抗体または断片。

【0354】

10

20

30

40

50

概念 22 a : 配列番号 17 もしくは 20 の C D R L 1 配列、または 3 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 17 もしくは 20 の C D R L 1 配列を含む V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 21 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 a に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 a に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 a に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 a に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 a に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 a に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 a に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0355】

概念 22 b : 配列番号 62 もしくは 65 の C D R L 1 配列、または 3 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 62 もしくは 65 の C D R L 1 配列を含む V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 21 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 b に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 b に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 b に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 b に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 b に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 b に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 b に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0356】

概念 22 c : 配列番号 82 もしくは 85 の C D R L 1 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 82 もしくは 85 の C D R L 1 配列を含む V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 21 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 c に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 c に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 c に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 c に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 c に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 c に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 c に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0357】

概念 22 d : 配列番号 102 もしくは 105 の C D R L 1 配列、または 5 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 102 もしくは 105 の C D R L 1 配列を含む V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 21 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 d に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 d に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 d に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 d に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 d に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 d に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 d に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0358】

概念 22 e : 配列番号 122 もしくは 125 の C D R L 1 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 122 もしくは 125 の C D R L 1 配列を含む V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 21 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 e に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 e に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 e に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 e に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 e に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 e に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 e に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0359】

概念 22 f : 配列番号 162 もしくは 165 の C D R L 1 配列、または 5 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 162 もしくは 165 の C D R L 1 配列を含む V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 21 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 f に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 f に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 f に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 f に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 f に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 f に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 f に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0360】

概念 22 g : 配列番号 182 もしくは 185 の C D R L 1 配列、または 5 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 182 もしくは 185 の C D R L 1 配列を含む V_L ドメイン

10

20

30

40

50

を含む、概念 1～21 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 g に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 g に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 g に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 g に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 g に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 g に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 g に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0361】

概念 22 h：配列番号 142 もしくは 145 の C D R L 1 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 142 もしくは 145 の C D R L 1 配列を含む V_L ドメインを含む、概念 1～21 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 h に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 h に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 h に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 h に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 h に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 h に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 h に従属する）に記載の抗体またはその断片。

10

【0362】

概念 22 i：配列番号 248 もしくは 251 の C D R L 1 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 248 もしくは 251 の C D R L 1 配列を含む V_L ドメインを含む、概念 1～21 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 i に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 i に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 i に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 i に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 i に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 i に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 i に従属する）に記載の抗体またはその断片。

20

【0363】

概念 22 j：配列番号 268 もしくは 271 の C D R L 1 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 268 もしくは 271 の C D R L 1 配列を含む V_L ドメインを含む、概念 1～21 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 j に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 j に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 j に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 j に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 j に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 j に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 j に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0364】

概念 22 k：配列番号 288 もしくは 291 の C D R L 1 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 288 もしくは 291 の C D R L 1 配列を含む V_L ドメインを含む、概念 1～21 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 k に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 k に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 k に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 k に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 k に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 k に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 k に従属する）に記載の抗体またはその断片。

30

【0365】

概念 22 l：配列番号 353 もしくは 356 の C D R L 1 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 353 もしくは 356 の C D R L 1 配列を含む V_L ドメインを含む、概念 1～21 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 l に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 l に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 l に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 l に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 l に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 l に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 l に従属する）に記載の抗体またはその断片。

40

【0366】

概念 23：配列番号 38 もしくは 41 の C D R L 2 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号 38 もしくは 41 の C D R L 2 配列、例えば配列番号 50 の C D R L 2 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1～22 に記載の抗体または断片。

50

【0367】

概念23a：配列番号18もしくは21のCDRL2配列、または2もしくは1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号18もしくは21のCDRL2配列を含むV_Lドメインまたは当該V_Lドメインを含む、概念1～22のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9aに従属し、概念13に従属する場合には概念13aに従属し、概念16に従属する場合には概念16aに従属し、概念17に従属する場合には概念17aに従属し、概念18に従属する場合には概念18aに従属し、概念19に従属する場合には概念19aに従属し、概念20に従属する場合には概念20aに従属し、概念22に従属する場合には概念22aに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0368】

概念23b：配列番号63もしくは66のCDRL2配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号63もしくは66のCDRL2配列を含むV_Lドメインまたは当該V_Lドメインを含む、概念1～22のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9bに従属し、概念13に従属する場合には概念13bに従属し、概念16に従属する場合には概念16bに従属し、概念17に従属する場合には概念17bに従属し、概念18に従属する場合には概念18bに従属し、概念19に従属する場合には概念19bに従属し、概念20に従属する場合には概念20bに従属し、概念22に従属する場合には概念22bに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0369】

概念23c：配列番号83もしくは86のCDRL2配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号83もしくは86のCDRL2配列を含むV_Lドメインまたは当該V_Lドメインを含む、概念1～22のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9cに従属し、概念13に従属する場合には概念13cに従属し、概念16に従属する場合には概念16cに従属し、概念17に従属する場合には概念17cに従属し、概念18に従属する場合には概念18cに従属し、概念19に従属する場合には概念19cに従属し、概念20に従属する場合には概念20cに従属し、概念22に従属する場合には概念22cに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0370】

概念23d：配列番号103もしくは106のCDRL2配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号103もしくは106のCDRL2配列を含むV_Lドメインまたは当該V_Lドメインを含む、概念1～22のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9dに従属し、概念13に従属する場合には概念13dに従属し、概念16に従属する場合には概念16dに従属し、概念17に従属する場合には概念17dに従属し、概念18に従属する場合には概念18dに従属し、概念19に従属する場合には概念19dに従属し、概念20に従属する場合には概念20dに従属し、概念22に従属する場合には概念22dに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0371】

概念23e：配列番号123もしくは126のCDRL2配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号123もしくは126のCDRL2配列を含むV_Lドメインまたは当該V_Lドメインを含む、概念1～22のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9eに従属し、概念13に従属する場合には概念13eに従属し、概念16に従属する場合には概念16eに従属し、概念17に従属する場合には概念17eに従属し、概念18に従属する場合には概念18eに従属し、概念19に従属する場合には概念19eに従属し、概念20に従属する場合には概念20eに従属し、概念22に従属する場合には概念22eに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0372】

概念23f：配列番号153もしくは156のCDRL2配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号153もしくは156のCDRL2配列を含むV_Lドメインまたは当該V_Lドメインを含む、概念1～22のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9fに従属し、概念13に従属する場合には概念13fに従属し、概念16に従

10

20

30

40

50

属する場合には概念 16 f に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 f に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 f に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 f に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 f に従属し、概念 22 に従属する場合には概念 22 f に従属する) に記載の抗体またはその断片。

【0373】

概念 23 g : 配列番号 183 もしくは 186 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 183 もしくは 186 の C D R L 2 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 22 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 g に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 g に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 g に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 g に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 g に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 g に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 g に従属し、概念 22 に従属する場合には概念 22 g に従属する) に記載の抗体またはその断片。

10

【0374】

概念 23 h : 配列番号 143 もしくは 146 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 143 もしくは 146 の C D R L 2 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 22 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 h に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 h に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 h に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 h に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 h に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 h に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 h に従属し、概念 22 に従属する場合には概念 22 h に従属する) に記載の抗体またはその断片。

20

【0375】

概念 23 i : 配列番号 249 もしくは 252 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 249 もしくは 252 の C D R L 2 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 22 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 i に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 i に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 i に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 i に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 i に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 i に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 i に従属し、概念 22 に従属する場合には概念 22 i に従属する) に記載の抗体またはその断片。

30

【0376】

概念 23 j : 配列番号 269 もしくは 272 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 269 もしくは 272 の C D R L 2 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 22 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 j に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 j に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 j に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 j に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 j に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 j に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 j に従属し、概念 22 に従属する場合には概念 22 j に従属する) に記載の抗体またはその断片。

40

【0377】

概念 23 k : 配列番号 289 もしくは 292 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 289 もしくは 292 の C D R L 2 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 22 のいずれか一項 (但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 k に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 k に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 k に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 k に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 k に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 k に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 k に従属し、概念 22 に従属する場合には概念 22 k に従属する) に記載の抗体またはその断片。

【0378】

50

概念 2 3 l : 配列番号 3 5 4 もしくは 3 5 7 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 3 5 4 もしくは 3 5 7 の C D R L 2 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 2 2 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 l に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 l に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 l に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 l に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 l に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 l に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 l に従属し、概念 2 2 に従属する場合には概念 2 2 l に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【 0 3 7 9 】

概念 2 4 . 配列番号 3 9 もしくは 4 2 の C D R L 3 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 3 9 もしくは 4 2 の C D R L 3 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 2 3 のいずれかに記載の抗体または断片。

【 0 3 8 0 】

概念 2 4 a : 配列番号 1 9 もしくは 2 2 の C D R L 3 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 1 9 もしくは 2 2 の C D R L 3 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 2 3 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 a に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 a に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 a に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 a に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 a に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 a に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 a に従属し、概念 2 2 に従属する場合には概念 2 2 a に従属し、概念 2 3 に従属する場合には概念 2 3 a に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【 0 3 8 1 】

概念 2 4 b : 配列番号 6 4 もしくは 6 7 の C D R L 3 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 6 4 もしくは 6 7 の C D R L 3 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 2 3 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 b に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 b に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 b に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 b に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 b に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 b に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 b に従属し、概念 2 2 に従属する場合には概念 2 2 b に従属し、概念 2 3 に従属する場合には概念 2 3 b に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【 0 3 8 2 】

概念 2 4 c : 配列番号 8 4 もしくは 8 7 の C D R L 3 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 8 4 もしくは 8 7 の C D R L 3 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 2 3 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 c に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 c に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 c に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 c に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 c に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 c に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 c に従属し、概念 2 2 に従属する場合には概念 2 2 c に従属し、概念 2 3 に従属する場合には概念 2 3 c に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【 0 3 8 3 】

概念 2 4 d : 配列番号 1 0 4 もしくは 1 0 7 の C D R L 3 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 1 0 4 もしくは 1 0 7 の C D R L 3 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1 ~ 2 3 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 d に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 d に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 d に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 d に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 d に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 d に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 d に従属し、概念 2 2 に従属する

場合には概念 2 2 d に従属し、概念 2 3 に従属する場合には概念 2 3 d に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0384】

概念 2 4 e：配列番号 1 2 4 もしくは 1 2 7 の C D R L 3 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 1 2 4 もしくは 1 2 7 の C D R L 3 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1～2 3 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 e に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 e に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 e に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 e に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 e に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 e に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 e に従属し、概念 2 2 に従属する場合には概念 2 2 e に従属し、概念 2 3 に従属する場合には概念 2 3 e に従属する）に記載の抗体またはその断片。

10

【0385】

概念 2 4 f：配列番号 1 6 4 もしくは 1 6 7 の C D R L 3 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 1 6 4 もしくは 1 6 7 の C D R L 3 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1～2 3 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 f に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 f に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 f に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 f に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 f に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 f に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 f に従属し、概念 2 2 に従属する場合には概念 2 2 f に従属し、概念 2 3 に従属する場合には概念 2 3 f に従属する）に記載の抗体またはその断片。

20

【0386】

概念 2 4 g：配列番号 1 8 4 もしくは 1 8 7 の C D R L 3 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 1 8 4 もしくは 1 8 7 の C D R L 3 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1～2 3 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 g に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 g に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 g に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 g に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 g に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 g に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 g に従属し、概念 2 2 に従属する場合には概念 2 2 g に従属し、概念 2 3 に従属する場合には概念 2 3 g に従属する）に記載の抗体またはその断片。

30

【0387】

概念 2 4 h：配列番号 1 4 4 もしくは 1 4 7 の C D R L 3 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 1 4 4 もしくは 1 4 7 の C D R L 3 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1～2 3 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 h に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 h に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 h に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 h に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 h に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 h に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 h に従属し、概念 2 2 に従属する場合には概念 2 2 h に従属し、概念 2 3 に従属する場合には概念 2 3 h に従属する）に記載の抗体またはその断片。

40

【0388】

概念 2 4 i：配列番号 2 5 0 もしくは 2 5 3 の C D R L 3 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 2 5 0 もしくは 2 5 3 の C D R L 3 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1～2 3 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 i に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 i に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 i に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 i に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 i に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 i に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 i に従属し、概念 2 2 に従属する

50

場合には概念 2 2 i に従属し、概念 2 3 に従属する場合には概念 2 3 i に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0389】

概念 2 4 j：配列番号 2 7 0 もしくは 2 7 3 の C D R L 3 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 2 7 0 もしくは 2 7 3 の C D R L 3 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1～2 3 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 j に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 j に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 j に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 j に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 j に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 j に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 j に従属し、概念 2 2 に従属する場合には概念 2 2 j に従属し、概念 2 3 に従属する場合には概念 2 3 j に従属する）に記載の抗体またはその断片。

10

【0390】

概念 2 4 k：配列番号 2 9 0 もしくは 2 9 3 の C D R L 3 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 2 9 0 もしくは 2 9 3 の C D R L 3 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1～2 3 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 k に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 k に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 k に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 k に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 k に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 k に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 k に従属し、概念 2 2 に従属する場合には概念 2 2 k に従属し、概念 2 3 に従属する場合には概念 2 3 k に従属する）に記載の抗体またはその断片。

20

【0391】

概念 2 4 l：配列番号 3 5 5 もしくは 3 5 8 の C D R L 3 配列、または 4 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 3 5 5 もしくは 3 5 8 の C D R L 3 配列を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1～2 3 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 l に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 l に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 l に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 l に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 l に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 l に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 l に従属し、概念 2 2 に従属する場合には概念 2 2 l に従属し、概念 2 3 に従属する場合には概念 2 3 l に従属する）に記載の抗体またはその断片。

30

【0392】

概念 2 5：配列番号 4 3 のアミノ酸配列、または配列番号 4 3 と少なくとも 8 0 %（例えば、少なくとも 8 5 % または少なくとも 9 0 %）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列（例えば、配列番号 5 0、5 1、または 2 9 8 の軽鎖配列中の V_L ドメイン配列）を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、概念 1～2 4 のいずれかに記載の抗体または断片。

【0393】

概念 2 5 a：V_L ドメインが、配列番号 2 3 のアミノ酸配列、または配列番号 2 3 と少なくとも 8 0 %（例えば、少なくとも 8 5 % または少なくとも 9 0 %）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1～2 4 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 a に従属し、概念 1 3 に従属する場合には概念 1 3 a に従属し、概念 1 6 に従属する場合には概念 1 6 a に従属し、概念 1 7 に従属する場合には概念 1 7 a に従属し、概念 1 8 に従属する場合には概念 1 8 a に従属し、概念 1 9 に従属する場合には概念 1 9 a に従属し、概念 2 0 に従属する場合には概念 2 0 a に従属し、概念 2 2 に従属する場合には概念 2 2 a に従属し、概念 2 3 に従属する場合には概念 2 3 a に従属し、概念 2 4 に従属する場合には概念 2 4 a に従属する）に記載の抗体またはその断片。

40

【0394】

概念 2 5 b：V_L ドメインが、配列番号 6 8 のアミノ酸配列、または配列番号 6 8 と少

50

なくとも 80%（例えば、少なくとも 85% または少なくとも 90%）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1～24 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 b に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 b に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 b に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 b に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 b に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 b に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 b に従属し、概念 22 に従属する場合には概念 22 a に従属し、概念 23 に従属する場合には概念 23 b に従属し、概念 24 に従属する場合には概念 24 b に従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0395】

概念 25 c：V_Lドメインが、配列番号 88 のアミノ酸配列、または配列番号 88 と少なくとも 80%（例えば、少なくとも 85% または少なくとも 90%）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1～24 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 c に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 c に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 c に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 c に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 c に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 c に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 c に従属し、概念 22 に従属する場合には概念 22 c に従属し、概念 23 に従属する場合には概念 23 c に従属し、概念 24 に従属する場合には概念 24 c に従属する）に記載の抗体またはその断片。

10

【0396】

概念 25 d：V_Lドメインが、配列番号 108 のアミノ酸配列、または配列番号 108 と少なくとも 80%（例えば、少なくとも 85% または少なくとも 90%）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1～24 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 d に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 d に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 d に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 d に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 d に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 d に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 d に従属し、概念 22 に従属する場合には概念 22 d に従属し、概念 23 に従属する場合には概念 23 d に従属し、概念 24 に従属する場合には概念 24 d に従属する）に記載の抗体またはその断片。

20

【0397】

概念 25 e：V_Lドメインが、配列番号 128 のアミノ酸配列、または配列番号 128 と少なくとも 80%（例えば、少なくとも 85% または少なくとも 90%）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1～24 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 e に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 e に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 e に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 e に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 e に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 e に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 e に従属し、概念 22 に従属する場合には概念 22 e に従属し、概念 23 に従属する場合には概念 23 e に従属し、概念 24 に従属する場合には概念 24 e に従属する）に記載の抗体またはその断片。

30

【0398】

概念 25 f：V_Lドメインが、配列番号 168 のアミノ酸配列、または配列番号 168 と少なくとも 80%（例えば、少なくとも 85% または少なくとも 90%）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念 1～24 のいずれか一項（但し、概念 9 に従属する場合には概念 9 f に従属し、概念 13 に従属する場合には概念 13 f に従属し、概念 16 に従属する場合には概念 16 f に従属し、概念 17 に従属する場合には概念 17 f に従属し、概念 18 に従属する場合には概念 18 f に従属し、概念 19 に従属する場合には概念 19 f に従属し、概念 20 に従属する場合には概念 20 f に従属し、概念 22 に従属する場合には概念 22 f に従属し、概念 23 に従属する場合には概念 23 f に従属し、概念 24 に従属する場合には概念 24 f に従属する）に記載の抗体またはその断片。

40

【0399】

概念 25 g：V_Lドメインが、配列番号 188 のアミノ酸配列、または配列番号 188

50

と少なくとも80%（例えば、少なくとも85%または少なくとも90%）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念1～24のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9gに従属し、概念13に従属する場合には概念13gに従属し、概念16に従属する場合には概念16gに従属し、概念17に従属する場合には概念17gに従属し、概念18に従属する場合には概念18gに従属し、概念19に従属する場合には概念19gに従属し、概念20に従属する場合には概念20gに従属し、概念22に従属する場合には概念22gに従属し、概念23に従属する場合には概念23gに従属し、概念24に従属する場合には概念24gに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0400】

概念25h：V_Lドメインが、配列番号148のアミノ酸配列、または配列番号148と少なくとも80%（例えば、少なくとも90%または少なくとも90%）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念1～24のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9hに従属し、概念13に従属する場合には概念13hに従属し、概念16に従属する場合には概念16hに従属し、概念17に従属する場合には概念17hに従属し、概念18に従属する場合には概念18hに従属し、概念19に従属する場合には概念19hに従属し、概念20に従属する場合には概念20hに従属し、概念22に従属する場合には概念22hに従属し、概念23に従属する場合には概念23hに従属し、概念24に従属する場合には概念24hに従属する）に記載の抗体またはその断片。

10

【0401】

概念25i：V_Lドメインが、配列番号254のアミノ酸配列、または配列番号254と少なくとも80%（例えば、少なくとも85%または少なくとも90%）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念1～24のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9iに従属し、概念13に従属する場合には概念13iに従属し、概念16に従属する場合には概念16iに従属し、概念17に従属する場合には概念17iに従属し、概念18に従属する場合には概念18iに従属し、概念19に従属する場合には概念19iに従属し、概念20に従属する場合には概念20iに従属し、概念22に従属する場合には概念22iに従属し、概念23に従属する場合には概念23iに従属し、概念24に従属する場合には概念24iに従属する）に記載の抗体またはその断片。

20

【0402】

概念25j：V_Lドメインが、配列番号274のアミノ酸配列、または配列番号274と少なくとも80%（例えば、少なくとも85%または少なくとも90%）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念1～24のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9jに従属し、概念13に従属する場合には概念13jに従属し、概念16に従属する場合には概念16jに従属し、概念17に従属する場合には概念17jに従属し、概念18に従属する場合には概念18jに従属し、概念19に従属する場合には概念19jに従属し、概念20に従属する場合には概念20jに従属し、概念22に従属する場合には概念22jに従属し、概念23に従属する場合には概念23jに従属し、概念24に従属する場合には概念24jに従属する）に記載の抗体またはその断片。

30

【0403】

概念25k：V_Lドメインが、配列番号294のアミノ酸配列、または配列番号294と少なくとも80%（例えば、少なくとも85%または少なくとも90%）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念1～24のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9kに従属し、概念13に従属する場合には概念13kに従属し、概念16に従属する場合には概念16kに従属し、概念17に従属する場合には概念17kに従属し、概念18に従属する場合には概念18kに従属し、概念19に従属する場合には概念19kに従属し、概念20に従属する場合には概念20kに従属し、概念22に従属する場合には概念22kに従属し、概念23に従属する場合には概念23kに従属し、概念24に従属する場合には概念24kに従属する）に記載の抗体またはその断片。

40

【0404】

概念25l：V_Lドメインが、配列番号359のアミノ酸配列、または配列番号359

50

と少なくとも80%（例えば、少なくとも85%または少なくとも90%）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、概念1～24のいずれか一項（但し、概念9に従属する場合には概念9 lに従属し、概念13に従属する場合には概念13 lに従属し、概念16に従属する場合には概念16 lに従属し、概念17に従属する場合には概念17 lに従属し、概念18に従属する場合には概念18 lに従属し、概念19に従属する場合には概念19 lに従属し、概念20に従属する場合には概念20 lに従属し、概念22に従属する場合には概念22 lに従属し、概念23に従属する場合には概念23 lに従属し、概念24に従属する場合には概念24 lに従属する）に記載の抗体またはその断片。

【0405】

一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも70%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも75%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも95%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも96%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも97%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも98%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも99%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも99.5%同一である。

【0406】

概念26. V_Lドメインまたは当該V_Lドメインの第1および第2のコピーを含む、概念12～21のいずれか一項に記載の抗体または断片。

【0407】

概念27. 配列番号2によって定義されるようにカニクイザルPD-L1に特異的に結合する、概念1～26のいずれかに記載の抗体または断片。

【0408】

一実施形態では、抗体または断片は、1 nM未満（例えば、1 nM～0.01 pM、または1 nM～0.1 pM、または1 nM～1 pM）の親和性でカニクイザルPD-L1に結合する。一実施形態では、抗体または断片は、10 nM未満（例えば、10 nM～0.01 pM、または10 nM～0.1 pM、または10 nM～1 pM）の親和性でカニクイザルPD-L1に結合する。一実施形態では、抗体または断片は、0.1 nM未満（例えば、0.1 nM～0.01 pM、または0.1 nM～0.1 pM、または0.1 nM～1 pM）の親和性でカニクイザルPD-L1に結合する。一実施形態では、抗体または断片は、0.01 nM未満（例えば、0.01 nM～0.01 pMまたは0.01 nM～0.1 pM）の親和性でカニクイザルPD-L1に結合する。

【0409】

一実施形態では、抗体または断片は、hPD-L1に対する親和性の2倍以内の親和性でカニクイザルPD-L1に結合する。一実施形態では、抗体または断片は、hPD-L1に対する親和性の4倍以内の親和性でカニクイザルPD-L1に結合する。一実施形態では、抗体または断片は、hPD-L1に対する親和性の5倍以内の親和性でカニクイザルPD-L1に結合する。一実施形態では、抗体または断片は、hPD-L1に対する親和性の6倍以内の親和性でカニクイザルPD-L1に結合する。一実施形態では、抗体または断片は、hPD-L1に対する親和性の8倍以内の親和性でカニクイザルPD-L1に結合する。一実施形態では、抗体または断片は、hPD-L1に対する親和性の10倍以内の親和性でカニクイザルPD-L1に結合する。

【0410】

一実施形態では、抗体または断片は、カニクイザルPD-L1に検出可能に結合しない。一実施形態では、抗体または断片は、ネズミPD-L1に検出可能に結合しない。

【0411】

一実施形態では、抗体または断片は、1 nM未満（例えば、1 nM～0.01 pM、または1 nM～0.1 pM、または1 nM～1 pM）の親和性でマウスPD-L1に結合する。一実施形態では、抗体または断片は、10 nM未満（例えば、10 nM～0.01 p

10

20

30

40

50

M、または10 nM～0.1 pM、または10 nM～1 pM)の親和性でマウスPD-L1に結合する。一実施形態では、抗体または断片は、0.1 nM未満(例えば、0.1 nM～0.01 pM、または0.1 nM～0.1 pM、または0.1 nM～1 pM)の親和性でマウスPD-L1に結合する。一実施形態では、抗体または断片は、0.01 nM未満(例えば、0.011 nM～0.01 pMまたは0.01 nM～0.1 pM)の親和性でマウスPD-L1に結合する。

【0412】

概念28. 抗体または断片が、カップ軽鎖を含む、概念1～27に記載の抗体または断片。

【0413】

カップ軽鎖定常領域アミノ酸およびヌクレオチド配列は、配列番号206および215に見出され得る。

【0414】

一実施形態では、軽鎖は、ラムダ軽鎖であり得る。ラムダ軽鎖定常領域アミノ酸およびヌクレオチド配列は、配列番号216～237、ならびに配列番号535、配列番号536、および配列番号538に見出され得る。

【0415】

概念29. アミノ酸置換が、保存的アミノ酸置換であり、任意に、当該保存的置換は、
 1) アラニン(A)、セリン(S)、トレオニン(T)、
 2) アスパラギン酸(D)、グルタミン酸(E)、
 3) アスパラギン(N)、グルタミン(Q)、
 4) アルギニン(R)、リシン(K)、
 5) イソロイシン(I)、ロイシン(L)、メチオニン(M)、バリン(V)、および
 6) フェニルアラニン(F)、チロシン(Y)、トリプトファン(W)から選択される6つの群(各群は、互いについて保存的置換であるアミノ酸を含有する)のうちの1つからのものであってもよい、概念9～28のいずれか一項に記載の抗体または断片。

保存的置換は、概念9で上記した通りであり得る。

【0416】

概念30. 抗体または断片が、定常領域、例えばヒト定常領域、例えばエフェクターヌルヒト定常領域、例えばIgG4定常領域またはIgG1定常領域を含み、任意に、定常領域がIgG4-PE(配列番号199)、または配列番号205で規定される欠損したIgG1であってもよい、概念1～29のいずれかに記載の抗体または断片。

【0417】

他の実施形態では、抗体または断片は、本明細書において上記に定義されたアイソタイプまたは定常領域のいずれかである。一実施形態では、定常領域は、野生型ヒトIgG1(配列番号340)である。例えば、定常領域は、任意にADCCおよび/またはCDC活性を有するエフェクター可能化IgG1定常領域であってもよい。一実施形態では、定常領域は、ADCCおよび/またはCDCおよび/またはADCPの増強のために操作されている。別の実施形態では、定常領域は、エフェクター機能の増強のために操作されている。

【0418】

IgG4定常領域は、IgG4定常領域アミノ酸配列のいずれかであってもよく、または配列番号192～203の核酸配列のいずれかによってコードされてもよい。重鎖定常領域は、Leu235Glu変異およびSer228Pro変異の両方を含むIgG4であり得る。この「IgG4-PE」重鎖定常領域(配列番号198、配列番号199、200、および201によってコードされる)は、エフェクターヌルである。

【0419】

代替的なエフェクターヌルヒト定常領域は、L235Aおよび/またはG237A変異を含むIgG1*01対立遺伝子(例えば、LAGA、配列番号204、配列番号205によってコードされる)である、欠損したIgG1である。一実施形態では、本明細書に

10

20

30

40

50

開示される抗体または抗体断片は、IgG1重鎖定常領域を含み、配列は、235位および／または237位（EUインデックス付番）でアラニンを含む。

【0420】

抗体依存性細胞食作用（ADCP）機構は、Gul et al., 「Antibody-Dependent Phagocytosis of Tumor Cells by Macrophages: A Potent Effector Mechanism of Monoclonal Antibody Therapy of Cancer», Cancer Res., 75 (23), December 1, 2015において考察されている。

【0421】

効能、有効性Fc媒介効果の効力は、様々な確立された技術によってFcドメインを操作することによって増強され得る。かかる方法は、ある特定のFc受容体に対する親和性を増加させ、それにより、活性化増強の潜在的な多様なプロファイルを作成する。これは、1つまたはいくつかのアミノ酸残基の修飾によって達成され得る（例えば、Lazar et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., Mar 14; 103 (11): 4005-10に記載される通りである；その中に開示される修飾は、参照により本明細書に組み込まれる）。Asn297上に特定の変異または改変した糖鎖付加（例えば、N297Q、EUインデックス付番）を含むIgG1定常領域は、Fc受容体に対する結合を増強することが示されている。一実施形態では、かかる変異は、ヒトIgG1定常領域について239、332、および330（または、他のIgGアイソタイプにおける同等の位置）から選択される残基のうちの1つ以上である。一実施形態では、抗体または断片は、N297Q、S239D、I332E、およびA330L（EUインデックス付番）から独立して選択される1つ以上の変異を有するヒトIgG1定常領域を含む。

【0422】

別の実施形態では、Fc受容体に対する親和性の増加は、例えば、フコシル化不足または脱フコシル化変異型を生成することによって、Fcドメインの天然糖鎖付加プロファイルを改変することによって達成される（Natsume et al., 2009, Drug Des. Devel. Ther., 3: 7-16またはZhou Q., Biotechnol. Bioeng., 2008, Feb 15, 99 (3): 652-65に記載される通り、それらの中に記載される修飾は、参照により本明細書に組み込まれる）。非フコシル化抗体は、フコース残基を含まないFcの複合型N-グリカンのトリーマンノシルコア構造を有する。Fc N-グリカンからのコアフコース残基を欠くこれらの糖鎖を操作された抗体は、FcγRIIIa結合能力の増強のためにフコシル化された等価物よりも強いADCCを呈し得る。例えば、ADCCを増加させるために、Fc-γRIIIへの結合を増加させるようにヒンジ領域中の残基を改変することができる（例えば、Shields et al., 2001, J. Biol. Chem., Mar 2; 276 (9): 6591-604を参照されたい；その中に記載される修飾は、参照により本明細書に組み込まれる）。したがって、一実施形態では、抗体または断片は、野生型ヒトIgG重鎖定常領域の変異型であるヒトIgG重鎖定常領域を含み、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、野生型ヒトIgG重鎖定常領域がヒトFcγ受容体に結合するよりも高い親和性で、FcγRIIBおよびFcγRIIAからなる群から選択されるヒトFcγ受容体に結合する。一実施形態では、抗体または断片は、野生型ヒトIgG重鎖定常領域の変異型であるヒトIgG重鎖定常領域を含み、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、野生型ヒトIgG重鎖定常領域がヒトFcγRIIBに結合するよりも高い親和性でヒトFcγRIIBに結合する。一実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、変異型ヒトIgG1、変異型ヒトIgG2、または変異型ヒトIgG4重鎖定常領域である。一実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、G236D、P238D、S239D、S267E、L328F、およびL328E（EUインデックス付番システム）から選択される1つ以上のアミノ酸変異を含む。別の実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、S

10

20

30

40

50

267EおよびL328F；P238DおよびL328E；P238D、ならびにE233D、G237D、H268D、P271G、およびA330Rからなる群から選択される1つ以上の置換；P238D、E233D、G237D、H268D、P271G、およびA330R；G236DおよびS267E；S239DおよびS267E；V262E、S267E、およびL328F；ならびにV264E、S267E、およびL328F（EUインデックス付番システム）からなる群から選択されるアミノ酸変異のセットを含む。別の実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、ヒトFcγRIIA、ヒトFcγRIIAまたはヒトFcγRIに対するIgGの親和性を低減する1つ以上のアミノ酸変異をさらに含む。一実施形態では、FcγRIIBは、マクロファージ、単球、B細胞、樹状細胞、内皮細胞、および活性化T細胞からなる群から選択される細胞上で発現される。一実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、以下のアミノ酸変異、G236A、S239D、F243L、T256A、K290A、R292P、S298A、Y300L、V305I、A330L、I332E、E333A、K334A、A339T、およびP396L（EUインデックス付番システム）のうちの1つ以上を含む。一実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、S239D；T256A；K290A；S298A；I332E；E333A；K334A；A339T；S239DおよびI332E；S239D、A330L、およびI332E；S298A、E333A、およびK334A；G236A、S239D、およびI332E；ならびにF243L、R292P、Y300L、V305I、およびP396L（EUインデックス付番システム）からなる群から選択されるアミノ酸変異のセットを含む。一実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、S239D、A330L、またはI332Eアミノ酸変異（EUインデックス付番システム）を含む。一実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、S239DおよびI332Eアミノ酸変異（EUインデックス付番システム）を含む。一実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、S239DおよびI332Eアミノ酸変異（EUインデックス付番システム）を含む変異型ヒトIgG1重鎖定常領域である。一実施形態では、抗体または断片は、フコシル化されていないFc領域を含む。別の実施形態では、抗体またはその断片は、脱フコシル化されている。別の実施形態では、抗体または断片は、フコシル化が不足している。

【0423】

別の実施形態では、本明細書に開示される抗体および断片は、FcRnへの結合を増強させる三重変異（M252Y／S254T／T256E）を含み得る。表2における変異影響FcRn結合の考察について、Dall et al., Immunol 2002；169：5171-5180を参照されたい（その中に記載される変異は、参照により本明細書に組み込まれる）。

【0424】

同様に、CDCの増強は、古典的な補体活性化カスケードの第1の構成要素であるC1qに対する親和性を増加させるアミノ酸変化によって達成され得る（Idusogie et al., J. Immunol., 2001, 166：2571-2575を参照されたい；記載される修飾は、参照により本明細書に組み込まれる）。別のアプローチは、C1qに対するIgG3のより高い親和性を活用する、ヒトIgG1およびヒトIgG3セグメントから作製されたキメラFcドメインを作製することである（Natsume et al., 2008, Cancer Res., 68：3863-3872；修飾は、参照により本明細書に組み込まれる）。別の実施形態では、本明細書に開示される抗体または抗体断片は、C1q結合および／または低減もしくは焼失したCDC活性を改変するために、残基329、331、および／または322において変異したアミノ酸を含み得る。別の実施形態では、本明細書に開示される抗体または抗体断片は、残基231および239において修飾を有し、それにより抗体が補体を修復する能力を改変するためにアミノ酸が置き換えられている、Fc領域を含有し得る。一実施形態では、抗体または断片は、E345K、E430G、R344D、およびD356Rから選択される1つ以上の変異、とりわけ、R344DおよびD356Rを含む二重変異（EUインデックス付番シス

10

20

30

40

50

テム)を含む定常領域を有する。

【0425】

抗体は、1つ以上の型のFc受容体に結合するが、細胞エフェクター機能を誘導しない、すなわち、ADCC、CDC、またはADCP活性を媒介しない、重鎖定常領域を有し得る。かかる定常領域は、ADCC、CDC、またはADCP活性の誘導を担う特定のFc受容体(複数可)に結合することができない場合がある。抗体は、Fcγ受容体に結合しない重鎖定常領域を有し得る。したがって、一実施形態では、定常領域は、Leu235Glu変異(EUインデックス付番システム)を含み得る。

【0426】

別の実施形態では、本明細書に開示される抗体および断片は、血清半減期を増加または減少させるように修飾される。一実施形態では、以下の変異、T252L、T254S、またはT256Fのうちの1つ以上が、抗体の生物学的半減期を増加させるために導入される。生物学的半減期はまた、IgGのFc領域のCH₂ドメインの2つのループから取られたサルベージ受容体結合エピトープを含有するように、重鎖定常領域CH₁ドメインまたはCL領域を改変することによって増加させることもでき、これは米国特許第5,869,046号および同第6,121,022号に記載される通りであり、その中に記載される修飾は、参照により本明細書に組み込まれる。別の実施形態では、本発明の抗体または抗原結合断片のFcヒンジ領域は、抗体または断片の生物学的半減期を減少させるように変異されている。抗体または断片が、天然FcヒンジドメインのSpA結合と比べて損なわれたStaphylococcalタンパク質A(SpA)結合を有するように、1つ以上のアミノ酸変異がFcヒンジ断片のCH₂-CH₃ドメイン界面領域内に導入される。血清半減期を増加させる他の方法は、当業者に既知である。したがって、一実施形態では、抗体または断片は、PEG化されている。別の実施形態では、抗体または断片は、アルブミン結合ドメイン、例えば、アルブミン結合単ドメイン抗体(dAb)に融合されている。別の実施形態では、抗体または断片は、PAS化(すなわち、大きい流体力学的容積を有する無電荷のランダムコイル構造を形成するPAS(XL-タンパク質GmbH)で構成されたポリペプチド配列の遺伝子的融合)されている。別の実施形態では、抗体または断片は、XTEN化(登録商標)/rPEG化(すなわち、正確ではない反復ペプチド配列(Amunix, Versartis)の治療用ペプチドへの遺伝子的融合)されている。別の実施形態では、抗体または断片は、ELP化(すなわち、ELP反復配列(PhaseBio)への遺伝子的融合)されている。半減期を延長させるこれらの様々な融合は、Strohl, BioDrugs(2015)29:215-239により詳細に記載され、例えば、表2および6におけるその融合は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0427】

抗体は、安定性を増加させる修飾された定常領域を有し得る。したがって、一実施形態では、重鎖定常領域は、Ser228Pro変異を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される抗体および断片は、システイン残基の数を改変するように修飾された重鎖ヒンジ領域を含む。この修飾は、軽鎖および重鎖の集合を容易にするため、または抗体の安定性を増加もしくは減少させるために使用され得る。

【0428】

概念31. 定常領域が、マウス定常領域である、概念30に記載の抗体または断片。

【0429】

別の実施形態では、定常領域は、任意の非ヒト哺乳動物起源、例えば、ラット、マウス、ハムスター、モルモット、イヌ、ネコ、ウマ、ニワトリ、ラマ、ヒトコブラクダ等のものであってもよい。一実施形態では、定常領域は、ラット定常領域である。別の実施形態では、定常領域は、ラマ定常領域である。マウス定常領域は、本明細書において上記のアイソタイプまたは対立遺伝子のいずれかであり得る。

【0430】

概念32. 定常領域が、CDCおよび/またはADCC活性を有する、概念30または

10

20

30

40

50

概念 3 1 に記載の抗体または断片。

【 0 4 3 1 】

概念 3 3 .

- a) V_Hドメインが配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含み、
- b) V_Hドメインが配列番号 3 3 と少なくとも 8 5 % 同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 4 3 と少なくとも 8 5 % 同一であるアミノ酸配列を含み、
- c) V_Hドメインが配列番号 4 7 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含み、
- d) V_Hドメインが配列番号 4 8 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含み、
- e) V_Hドメインが配列番号 4 9 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含み、
- f) V_Hドメインが配列番号 3 4 2 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含み、
- g) V_Hドメインが配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 5 0 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- h) V_Hドメインが配列番号 4 7 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 5 0 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- i) V_Hドメインが配列番号 4 8 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 5 0 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- j) V_Hドメインが配列番号 4 9 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 5 0 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- k) V_Hドメインが配列番号 3 4 2 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 5 0 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- l) V_Hドメインが配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 5 1 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- m) V_Hドメインが配列番号 4 7 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 5 1 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- n) V_Hドメインが配列番号 4 8 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 5 1 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- o) V_Hドメインが配列番号 4 9 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 5 1 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- p) V_Hドメインが配列番号 3 4 2 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 5 1 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- q) V_Hドメインが配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 2 9 8 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- r) V_Hドメインが配列番号 4 7 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 2 9 8 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- s) V_Hドメインが配列番号 4 8 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 2 9 8 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- t) V_Hドメインが配列番号 4 9 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 2 9 8 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- u) V_Hドメインが配列番号 3 4 2 の V_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 2 9 8 の V_Lドメインのアミノ酸配列を含み、
- v) V_Hドメインが配列番号 5 8 のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 6 8 のアミノ酸配列を含み、
- w) V_Hドメインが配列番号 5 8 と少なくとも 8 5 % 同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 6 8 と少なくとも 8 5 % 同一であるアミノ酸配列を含み、
- x) V_Hドメインが配列番号 7 8 のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号 8

10

20

30

40

50

8のアミノ酸配列を含み、

y) V_Hドメインが配列番号78と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号88と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

z) V_Hドメインが配列番号98のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号108のアミノ酸配列を含み、

aa) V_Hドメインが配列番号98と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号108と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

bb) V_Hドメインが配列番号118のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号128のアミノ酸配列を含み、

cc) V_Hドメインが配列番号118と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号128と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

dd) V_Hドメインが配列番号158のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号168のアミノ酸配列を含み、

ee) V_Hドメインが配列番号158と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号168と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

ff) V_Hドメインが配列番号178のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号188のアミノ酸配列を含み、

gg) V_Hドメインが配列番号178と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号188と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

hh) V_Hドメインが配列番号138のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号148のアミノ酸配列を含み、

ii) V_Hドメインが配列番号138と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号148と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

jj) V_Hドメインが配列番号244のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号254のアミノ酸配列を含み、

kk) V_Hドメインが配列番号244と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号254と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

ll) V_Hドメインが配列番号264のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号274のアミノ酸配列を含み、

mm) V_Hドメインが配列番号264と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号274と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

nn) V_Hドメインが配列番号284のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号294のアミノ酸配列を含み、

oo) V_Hドメインが配列番号284と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号294と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

pp) V_Hドメインが配列番号349のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号359のアミノ酸配列を含み、

qq) V_Hドメインが配列番号349と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号359と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含む、概念1～32のいずれか一項に記載の抗体。

【0432】

一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも70%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも75%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも95%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも96%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも97%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも98%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも99%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも99.5%同一である。

【0433】

10

20

30

40

50

50

み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 90 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、
 z) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 100 のアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 110 のアミノ酸配列を含み、

a a) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 100 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 110 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

b b) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 120 のアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 130 のアミノ酸配列を含み、

c c) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 120 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 130 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

10

d d) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 160 のアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 170 のアミノ酸配列を含み、

e e) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 160 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 170 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

f f) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 180 のアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 190 のアミノ酸配列を含み、

g g) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 180 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 190 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

20

h h) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 140 のアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 150 のアミノ酸配列を含み、

i i) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 140 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 150 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

j j) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 246 のアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 256 のアミノ酸配列を含み、

k k) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 246 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 256 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

30

l l) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 266 のアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 276 のアミノ酸配列を含み、

m m) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 266 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 276 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

n n) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 286 のアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 296 のアミノ酸配列を含み、

o o) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 286 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 296 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

40

p p) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 351 のアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 361 のアミノ酸配列を含み、

q q) 重鎖アミノ酸配列が配列番号 351 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、軽鎖アミノ酸配列が配列番号 361 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含む、概念 1 ~ 33 のいずれか一項に記載の抗体。

【0434】

一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも 70 % 同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも 75 % 同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも 95 % 同一である。一実施形態では、アミノ

50

酸配列は、指定の配列と少なくとも96%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも97%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも98%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも99%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも99.5%同一である。

【0435】

概念35. hPD-L1への結合について抗体1D05と競合し、任意に、hPD-L1への結合についての競合は、SPRを使用して実施されてもよい、概念1~34のいずれかに記載の抗体または断片。

【0436】

SPRは、上記のように、または概念16に記載されるように実施され得る。

【0437】

概念36. 抗体または断片が、PD-L1媒介性のT細胞抑制を阻害することができ、任意に、直接CD3/CD28刺激、超抗原刺激のいずれかによって同時刺激を提供するか、またはT細胞応答を誘導することができる細胞との共インキュベーションによって同時刺激を提供するアッセイにおける、IFN γ 、IL-2、CD25、またはT細胞の増殖のうちの1つ以上の増加によってT細胞の抑制が測定されてもよい、概念1~35のいずれかに記載の抗体または断片。

【0438】

測定は、任意の好適な技術を用いて実施され得る。例えば、ELISA、HTRF、BRDU取り込み（増殖）、電気化学発光（ECL）、またはフローサイトメトリー（例えば、FACS）を用いて測定を行うことができる。これらの技術は、当業者に周知であり、本明細書において他の箇所に記載されている。一実施形態では、アッセイは、フローサイトメトリーである。一実施形態では、アッセイは、ELISAである。一実施形態では、アッセイは、HTRFである。

【0439】

一実施形態において、T細胞の抑制は、IFN γ の増加によって測定される。一実施形態において、T細胞の抑制は、IL-2の増加によって測定される。一実施形態において、T細胞の抑制は、CD25の増加によって測定される。一実施形態において、T細胞の抑制は、IFN γ およびIL-2の増加によって測定される。一実施形態において、T細胞の抑制は、IFN γ およびCD25の増加によって測定される。一実施形態において、T細胞の抑制は、CD25およびIL-2の増加によって測定される。一実施形態において、T細胞の抑制は、IFN γ 、IL-2、およびCD25の増加によって測定される。

【0440】

一実施形態では、同時刺激は、直接CD3/CD28刺激によって提供される。

【0441】

一実施形態では、同時刺激は、staphylococcalエンテロトキシンB（SEB）等のスーパー抗原によって提供される。

【0442】

一実施形態では、アッセイは、T細胞応答を誘導することができる細胞との共インキュベーションによって同時刺激を提供する。かかる細胞は、抗原提示細胞（APC）、例えば、単球、B細胞、または樹状細胞であり得る。一実施形態では、アッセイは、APCとの共インキュベーションによって同時刺激を提供する。一実施形態では、アッセイは、単球との共インキュベーションによって同時刺激を提供する。一実施形態において、アッセイは、B細胞との共インキュベーションによって共刺激を提供する。一実施形態において、アッセイは、樹状細胞との共インキュベーションによって共刺激を提供する。

【0443】

概念37. 概念1~36のいずれかに記載の抗体またはその断片を含む、二重特異性抗体または融合タンパク質。

【0444】

10

20

30

40

50

概念 37a. 概念 1～36 のいずれかに記載の抗体またはその断片を含む、二重結合抗体または融合タンパク質。

【0445】

二重結合抗体は、上記の意味を有する。

【0446】

概念 38. 二重特異性フォーマットが、DVD-Ig、mAb²、FIT-Ig、mAb-dAb、ドック・ロック (dock and lock)、SEEDbody、scDiabody-Fc、diabody-Fc、tandem scFv-Fc、Fab-scFv-Fc、Fab-scFv、細胞内抗体、BiTE、ダイアボディ、DART、TandAb、scDiabody、scDiabody-CH₃、Diabody-CH₃、ミニボディ、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、電荷対、共通の軽鎖を有する電荷対、特にmAb²、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、およびFIT-Ig から、例えばmAb² およびFIT-Ig から選択される、概念 37 に記載の二重特異性抗体。

【0447】

一実施形態では、二重特異性フォーマットは、DVD-Ig、mAb²、FIT-Ig、mAb-dAb、ドック・ロック、Fab-アーム交換、SEEDbody、Triomab、LUZ-Y、Fcab、κλ-body、直交Fab、scDiabody-Fc、diabody-Fc、tandem scFv-Fc、Fab-scFv-Fc、Fab-scFv、細胞内抗体、BiTE、ダイアボディ、DART、TandAb、scDiabody、scDiabody-CH₃、Diabody-CH₃、トリプルボディ (Triple body)、ミニ抗体、ミニボディ、TriBiミニボディ、scFv-CH₃ KIH、scFv-CH-CL-scFv、F(ab')₂-scFv、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、4 価のHCab、ImmTAC、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、電荷対、共通の軽鎖を有する電荷対、DT-IgG、DutaMab、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、IgG(L, H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgG(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv4-Ig、ならびにzybody から選択される。

【0448】

一実施形態では、二重特異性フォーマットは、DVD-Ig、FIT-Ig、mAb-dAb、ドック・ロック、Fab-アーム交換、SEEDbody、Triomab、LUZ-Y、Fcab、κλ-body、直交Fab、scDiabody-Fc、diabody-Fc、tandem scFv-Fc、Fab-scFv-Fc、Fab-scFv、細胞内抗体、BiTE、ダイアボディ、DART、TandAb、scDiabody、scDiabody-CH₃、Diabody-CH₃、トリプルボディ、ミニ抗体、ミニボディ、TriBiミニボディ、scFv-CH₃ KIH、scFv-CH-CL-scFv、F(ab')₂-scFv、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、4 価のHCab、ImmTAC、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、電荷対、共通の軽鎖を有する電荷対、DT-IgG、DutaMab、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、IgG(L, H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgG(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv4-Ig、ならびにzybody、例えば、DVD-Ig、FIT-Ig、mAb-dAb、ドック・ロック、SEEDbody、scDiabody-Fc、diabody-Fc、tandem scFv-Fc、Fab-scFv-Fc、Fab-scFv、細胞内抗体、BiTE、ダイアボディ、DART、TandAb、scDiabody、scDi

10

20

30

40

50

a b o d y - C H 3、D i a b o d y - C H 3、ミニボディ、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、電荷対、共通の軽鎖を有する電荷対、とりわけ、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、ならびに F I T - I g から、例えば F I T - I g から選択される。

【0449】

一実施形態では、二重特異性フォーマットは、D V D - I g、m A b²、m A b - d A b、ドック・ロック、F a b - アーム交換、S E E D b o d y、T r i o m a b、L U Z - Y、F c a b、κ λ - b o d y、直交 F a b、s c D i a b o d y - F c、d i a b o d y - F c、t a n d e m s c F v - F c、F a b - s c F v - F c、F a b - s c F v、細胞内抗体、B i T E、ダイアボディ、D A R T、T a n d A b、s c D i a b o d y、s c D i a b o d y - C H 3、D i a b o d y - C H 3、トリプルボディ、ミニ抗体、ミニボディ、T r i B i ミニボディ、s c F v - C H 3 K I H、s c F v - C H - C L - s c F v、F (a b ')² - s c F v、s c F v - K I H、F a b - s c F v - F c、4 価の H C a b、I m m T A C、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、電荷対、共通の軽鎖を有する電荷対、D T - I g G、D u t a M a b、I g G (H) - s c F v、s c F v - (H) I g G、I g G (L) - s c F v、s c F v - (L) I g G、I g G (L , H) - F v、I g G (H) - V、V (H) - I g G、I g G (L) - V、V (L) - I g G、K I H I g G - s c F a b、2 s c F v - I g G、I g G - 2 s c F v、s c F v 4 - I g、ならびに z y b o d y、例えば、D V D - I g、m A b²、m A b - d A b、ドック・ロック、S E E D b o d y、s c D i a b o d y - F c、d i a b o d y - F c、t a n d e m s c F v - F c、F a b - s c F v - F c、F a b - s c F v、細胞内抗体、B i T E、ダイアボディ、D A R T、T a n d A b、s c D i a b o d y、s c D i a b o d y - C H 3、D i a b o d y - C H 3、ミニボディ、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、電荷対、共通の軽鎖を有する電荷対、とりわけ、m A b²、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、ならびに共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホールから、例えば m A b² から選択される。

【0450】

一実施形態では、二重特異性フォーマットは、D V D - I g、m A b - d A b、ドック・ロック、F a b - アーム交換、S E E D b o d y、T r i o m a b、L U Z - Y、F c a b、κ λ - b o d y、直交 F a b、s c D i a b o d y - F c、d i a b o d y - F c、t a n d e m s c F v - F c、F a b - s c F v - F c、F a b - s c F v、細胞内抗体、B i T E、ダイアボディ、D A R T、T a n d A b、s c D i a b o d y、s c D i a b o d y - C H 3、D i a b o d y - C H 3、トリプルボディ、ミニ抗体、ミニボディ、T r i B i ミニボディ、s c F v - C H 3 K I H、s c F v - C H - C L - s c F v、F (a b ')² - s c F v、s c F v - K I H、F a b - s c F v - F c、4 価の H C a b、I m m T A C、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、電荷対、共通の軽鎖を有する電荷対、D T - I g G、D u t a M a b、I g G (H) - s c F v、s c F v - (H) I g G、I g G (L) - s c F v、s c F v - (L) I g G、I g G (L , H) - F v、I g G (H) - V、V (H) - I g G、I g G (L) - V、V (L) - I g G、K I H I g G - s c F a b、2 s c F v - I g G、I g G - 2 s c F v、s c F v 4 - I g、ならびに z y b o d y、例えば、D V D - I g、m A b - d A b、ドック・ロック、S E E D b o d y、s c D i a b o d y - F c、d i a b o d y - F c、t a n d e m s c F v - F c、F a b - s c F v - F c、F a b - s c F v、細胞内抗体、B i T E、ダイアボディ、D A R T、T a n d A b、s c D i a b o d y、s c D i a b o d y - C H 3、D i a b o d y - C H 3、ミニボディ、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、電荷対、共通の軽鎖を有する電荷対、とりわけ、m A b²、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、ならびに共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホールから、例えば m A b² から選択される。

る電荷対、とりわけ、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、ならびに共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホールから選択される。

【0451】

概念39. 二重特異性抗体が、hPD-L1と、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、PD-1、CTLA-4、TIGIT、TIM-3、LAG3、およびVISTA、例えば、TIGIT、TIM-3、およびLAG-3）、免疫調節剤（例えば、BTLA、hHVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、CXCL11、およびCD155、例えば、GARP、SIRPα、CXCR4、BTLA、hVEM、およびCSF1R）、免疫賦活剤（例えば、CD137、GITR、OX40、CD40、CXCR3（例えば、アゴニスティック抗CXCR3抗体）、CD27、CD3、ICOS（例えば、アゴニスティック抗ICOS抗体）、例えば、ICOS、CD137、GITR、およびOX40）から選択される別の標的抗原と、に特異的に結合する、概念37または概念38に記載の二重特異性抗体。

10

【0452】

概念39a. 二重特異性抗体が、CDRのうちの1つ以上（例えば、CDRH3およびCDRL3）または本明細書の以下の態様1aに記載される抗体のいずれかの可変領域配列を含むV_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対を有するhPD-L1と、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、PD-1、CTLA-4、TIGIT、TIM-3、LAG3、およびVISTA、例えば、TIGIT、TIM-3、およびLAG-3）、免疫調節剤（例えば、BTLA、hHVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、CXCL11、およびCD155、例えば、GARP、SIRPα、CXCR4、BTLA、hVEM、およびCSF1R）、免疫賦活剤（例えば、CD137、GITR、OX40、CD40、CXCR3（例えば、アゴニスティック抗CXCR3抗体）、CD27、CD3、ICOS（例えば、アゴニスティック抗ICOS抗体）、例えば、ICOS、CD137、GITR、およびOX40）から選択される別の標的抗原と、に結合する、二重特異性抗体。

20

【0453】

概念39b. 二重特異性抗体が、hPD-L1と、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、PD-1、CTLA-4、TIGIT、TIM-3、LAG3、およびVISTA、例えば、TIGIT、TIM-3、およびLAG-3）、免疫調節剤（例えば、BTLA、hHVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、およびCD155、例えば、GARP、SIRPα、CXCR4、BTLA、hVEM、およびCSF1R）、免疫賦活剤（例えば、CD137、GITR、OX40、CD40、CXCR3（例えば、アゴニスティック抗CXCR3抗体）、CD3、ICOS（例えば、アゴニスティック抗ICOS抗体）、例えば、ICOS、CD137、GITR、およびOX40）から選択される別の標的抗原と、に特異的に結合する、概念37または概念38に記載の二重特異性抗体。

30

【0454】

一実施形態では、別の標的抗原は、PD-1、CTLA-4、TIGIT、TIM-3、LAG-3、およびVISTA、例えば、TIGIT、CTLA-4、TIM-3、およびLAG-3等の免疫チェックポイント阻害剤である。一実施形態では、別の標的抗原は、BTLA、hHVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、CXCL11、およびCD155、またはBTLA、hHVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、およびCD155、例えば、GARP、SIRPα、CXCR4、BTLA、hVEM、およびCSF1R等の免

40

50

疫調節剤である。一実施形態では、別の標的抗原は、CD137、GITR、OX40、CD40、CXCR3（例えば、アゴニスティック抗CXCR3抗体）、CD27、CD3、およびICOS（例えば、アゴニスティック抗ICOS抗体）、またはCD137、GITR、OX40、CD40、CXCR3（例えば、アゴニスティック抗CXCR3抗体）、CD3およびICOS（例えば、アゴニスティック抗ICOS抗体）、例えば、ICOS、CD137、GITR、およびOX40）等の免疫賦活剤である。一実施形態では、別の標的抗原は、CTLA-4である。一実施形態では、別の標的抗原は、TIGITである。一実施形態では、別の標的抗原は、TIM-3である。一実施形態では、別の標的抗原は、LAG-3である。一実施形態では、別の標的抗原は、GITRである。一実施形態では、別の標的抗原は、VISTAである。一実施形態では、別の標的抗原は、CD137である。一実施形態では、別の標的抗原は、SIRP α である。一実施形態では、別の標的抗原は、CXCL10である。一実施形態では、別の標的抗原は、CD155である。一実施形態では、別の標的抗原は、CD40である。

【0455】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、PD-1である別の標的抗原に結合し、PD-1への結合は、本明細書の以下の態様1Aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

【0456】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、CTLA4である別の標的抗原に結合し、CTLA4への結合は、本明細書の以下の態様1Aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

【0457】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、TIGITである別の標的抗原に結合し、TIGITへの結合は、本明細書の以下の態様1Aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

【0458】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、TIM-3である別の標的抗原に結合し、TIM-3への結合は、本明細書の以下の態様1Aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

【0459】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、LAG3である別の標的抗原に結合し、LAG3への結合は、本明細書の以下の態様1Aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

【0460】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、VISTAである別の標的抗原に結合し、VISTAへの結合は、本明細書の以下の態様1Aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

【0461】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、B T L Aである別の標的抗原に結合し、B T L Aへの結合は、本明細書の以下の態様1 Aに記載されるようなC D R配列（例えば、C D R H 3および／もしくはC D R L 3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

【0 4 6 2】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、h H V E Mである別の標的抗原に結合し、h H V E Mへの結合は、本明細書の以下の態様1 Aに記載されるようなC D R配列（例えば、C D R H 3および／もしくはC D R L 3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

10

【0 4 6 3】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、C S F 1 Rである別の標的抗原に結合し、C S F 1 Rへの結合は、本明細書の以下の態様1 Aに記載されるようなC D R配列（例えば、C D R H 3および／もしくはC D R L 3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

【0 4 6 4】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、C C R 4である別の標的抗原に結合し、C C R 4への結合は、本明細書の以下の態様1 Aに記載されるようなC D R配列（例えば、C D R H 3および／もしくはC D R L 3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

20

【0 4 6 5】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、C D 3 9である別の標的抗原に結合し、C D 3 9への結合は、本明細書の以下の態様1 Aに記載されるようなC D R配列（例えば、C D R H 3および／もしくはC D R L 3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

【0 4 6 6】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、C D 4 0である別の標的抗原に結合し、C D 4 0への結合は、本明細書の以下の態様1 Aに記載されるようなC D R配列（例えば、C D R H 3および／もしくはC D R L 3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

30

【0 4 6 7】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、C D 7 3である別の標的抗原に結合し、C D 7 3への結合は、本明細書の以下の態様1 Aに記載されるようなC D R配列（例えば、C D R H 3および／もしくはC D R L 3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

40

【0 4 6 8】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、C D 9 6である別の標的抗原に結合し、C D 9 6への結合は、本明細書の以下の態様1 Aに記載されるようなC D R配列（例えば、C D R H 3および／もしくはC D R L 3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

【0 4 6 9】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、C X C R 2である別の標的抗原に結合し、C X C R 2への結合は、本明細書の以下の態様1 Aに記載されるようなC D R配列（例えば、

50

C D R H 3 および／もしくは C D R L 3) または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン (例えば、V_H、V_L、または V_H および V_L の対) によって提供される。

【0470】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、C X C R 4 である別の標的抗原に結合し、C X C R 4 への結合は、本明細書の以下の態様 1 A に記載されるような C D R 配列 (例えば、C D R H 3 および／もしくは C D R L 3) または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン (例えば、V_H、V_L、または V_H および V_L の対) によって提供される。

【0471】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、C D 2 0 0 である別の標的抗原に結合し、C D 2 0 0 への結合は、本明細書の以下の態様 1 A に記載されるような C D R 配列 (例えば、C D R H 3 および／もしくは C D R L 3) または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン (例えば、V_H、V_L、または V_H および V_L の対) によって提供される。

【0472】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、G A R P である別の標的抗原に結合し、G A R P への結合は、本明細書の以下の態様 1 A に記載されるような C D R 配列 (例えば、C D R H 3 および／もしくは C D R L 3) または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン (例えば、V_H、V_L、または V_H および V_L の対) によって提供される。

【0473】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、S I R P α である別の標的抗原に結合し、S I R P α への結合は、本明細書の以下の態様 1 A に記載されるような C D R 配列 (例えば、C D R H 3 および／もしくは C D R L 3) または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン (例えば、V_H、V_L、または V_H および V_L の対) によって提供される。

【0474】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、C X C L 9 である別の標的抗原に結合し、C X C L 9 への結合は、本明細書の以下の態様 1 A に記載されるような C D R 配列 (例えば、C D R H 3 および／もしくは C D R L 3) または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン (例えば、V_H、V_L、または V_H および V_L の対) によって提供される。

【0475】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、C X C L 1 0 である別の標的抗原に結合し、C X C L 1 0 への結合は、本明細書の以下の態様 1 A に記載されるような C D R 配列 (例えば、C D R H 3 および／もしくは C D R L 3) または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン (例えば、V_H、V_L、または V_H および V_L の対) によって提供される。

【0476】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、C X C L 1 1 である別の標的抗原に結合し、C X C L 1 1 への結合は、本明細書の以下の態様 1 A に記載されるような C D R 配列 (例えば、C D R H 3 および／もしくは C D R L 3) または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン (例えば、V_H、V_L、または V_H および V_L の対) によって提供される。

【0477】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、C D 1 5 5 である別の標的抗原に結合し、C D 1 5 5 への結合は、本明細書の以下の態様 1 A に記載されるような C D R 配列 (例えば、C D R H 3 および／もしくは C D R L 3) または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン (例えば、V_H、V_L、または V_H および V_L の対) によって提供さ

10

20

30

40

50

れる。

【0478】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、CD137である別の標的抗原に結合し、CD137への結合は、本明細書の以下の態様1Aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

【0479】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、GITRである別の標的抗原に結合し、GITRへの結合は、本明細書の以下の態様1Aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

10

【0480】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、OX40である別の標的抗原に結合し、OX40への結合は、本明細書の以下の態様1Aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

【0481】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、CD40である別の標的抗原に結合し、CD40への結合は、本明細書の以下の態様1Aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

20

【0482】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、CXCR3である別の標的抗原に結合し、CXCR3への結合は、本明細書の以下の態様1Aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

30

【0483】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、CD27である別の標的抗原に結合し、CD27への結合は、本明細書の以下の態様1Aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

【0484】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、CD3である別の標的抗原に結合し、CD3への結合は、本明細書の以下の態様1Aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）によって提供される。

40

【0485】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、ICOSである別の標的抗原に結合し、ICOSへの結合は、本明細書の以下の構成5および構成5aに記載されるようなCDR配列（例えば、CDRH3および／もしくはCDRL3）または可変領域配列を含む配列のいずれかを有する抗原結合ドメイン（例えば、V_H、V_L、またはV_HおよびV_Lの対）、ならびに文1～102および文1a～21aに記載される抗ICOS抗体のいずれかによって提供される。

【0486】

50

一実施形態では、二重特異性抗体は、hPD-L1に結合する完全抗体（例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、CH₁、CH₂、およびCH₃を含む重鎖とを含む抗体）（任意に、抗体は、概念1～40のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1aに定義されるCDRおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、GITRに結合するFab（任意に、GITR Fabは、本明細書の以下の態様1aに定義されるCDRおよび可変領域を含む配列を有してもよい）とを含むFIT-Igフォーマットを有する。一実施形態では、二重特異性抗体は、GITRに結合する完全抗体（例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、CH₁、CH₂、およびCH₃を含む重鎖とを含む抗体）（任意に、GITR抗体は、本明細書の以下の態様1aに定義されるCDRおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、hPD-L1に結合するFab（任意に、抗体は、態様1～40のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1aに定義されるCDRおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、を含むFIT-Igフォーマットを有する。一実施形態では、FIT-Igは、エフェクター可能化されている（例えば、概念30～32のいずれかに記載される通り）。別の実施形態では、FIT-Igは、エフェクター可能化されていない（例えば、IgG4フォーマットであるか、または概念30～31のいずれかに記載される通りである）。

【0487】

一実施形態では、二重特異性抗体は、hPD-L1に結合する完全抗体（例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、CH₁、CH₂、およびCH₃を含む重鎖とを含む抗体）（任意に、抗体は、態様1～40のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1aに定義されるCDRおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、ICOSに結合するFab（例えば、アゴニスト活性により結合し、任意に、ICOS Fabは、本明細書の以下の構成5、または構成5a、または文1～102、または文1a～21aに定義されるCDRおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、を含むFIT-Igフォーマットを有する。一実施形態では、ICOS Fabは、文1～102または文1a～21aにおいて本明細書に記載されるICOS抗体のいずれかの配列を有する。一実施形態では、二重特異性抗体は、ICOSに結合する完全抗体（例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、CH₁、CH₂、およびCH₃を含む重鎖とを含む抗体）（例えば、アゴニスト活性により結合するか、または任意に、ICOS抗体は、本明細書の以下の構成5、または構成5a、または文1～102、または文1a～21aに定義されるCDRおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、ICOSに結合するFab（任意に、ICOS Fabは、本明細書の以下の構成5、または構成5a、または文1～102、または文1a～21aに定義されるCDRおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、hPD-L1に結合するFab（任意に、抗体は、概念1～40のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1Aに定義されるCDRおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、を含むFIT-Igフォーマットを有する。一実施形態では、FIT-Igは、エフェクター可能化されている（例えば、概念30～32のいずれかに記載されるように）。別の実施形態では、FIT-Igは、エフェクター可能化されていない（例えば、IgG4フォーマットであるか、または概念30もしくは31のいずれかに記載される通りである）。

【0488】

一実施形態では、二重特異性抗体は、hPD-L1に結合する完全抗体（例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、CH₁、CH₂、およびCH₃を含む重鎖とを含む抗体）（任意に、抗体は、概念1～40のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1aに定義されるCDRおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、TIM-3に結合するFab（任意に、TIM-3 Fabは、本明細書の以下の態様1aに定義されるCDRおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、を含むFIT-Igフォーマットを有する。一実施形態では、二重特異性抗体は、TIM-3に結合する完全抗体（例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、CH₁、CH₂、およ

びC H₃を含む重鎖とを含む抗体) (任意に、T I M-3 抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい) と、h P D-L 1に結合するF a b (任意に、抗体は、態様1~4 0のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい) と、を含むF I T-I gフォーマットを有する。一実施形態では、F I T-I gは、エフェクター可能化されている(例えば、概念3 0~3 2のいずれかに記載されるように)。別の実施形態では、F I T-I gは、エフェクター可能化されていない(例えば、I g G 4フォーマットであるか、または概念3 0または3 1のいずれかに記載される通りである)。

【0 4 8 9】

一実施形態では、二重特異性抗体は、h P D-L 1に結合する完全抗体(例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、C H₁、C H₂、およびC H₃を含む重鎖とを含む抗体) (任意に、抗体は、概念1~4 0のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい) と、C D 1 3 7に結合するF a b (任意に、C D 1 3 7 F a bは、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい) と、を含むF I T-I gフォーマットを有する。一実施形態では、二重特異性抗体は、C D 1 3 7に結合する完全抗体(例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、C H₁、C H₂、およびC H₃を含む重鎖とを含む抗体) (任意に、C D 1 3 7 抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい) と、h P D-L 1に結合するF a b (任意に、抗体は、態様1~4 0のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい) と、を含むF I T-I gフォーマットを有する。一実施形態では、F I T-I gは、エフェクター可能化されている(例えば、概念3 0~3 2のいずれかに記載されるように)。別の実施形態では、F I T-I gは、エフェクター可能化されていない(例えば、I g G 4フォーマットであるか、または概念3 0または3 1のいずれかに記載される通りである)。

【0 4 9 0】

一実施形態では、二重特異性抗体は、h P D-L 1に結合する完全抗体(例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、C H₁、C H₂、およびC H₃を含む重鎖とを含む抗体) (任意に、抗体は、概念1~4 0のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい) と、C D 3に結合するF a b (任意に、C D 3 F a bは、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい) と、を含むF I T-I gフォーマットを有する。一実施形態では、二重特異性抗体は、C D 3に結合する完全抗体(例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、C H₁、C H₂、およびC H₃を含む重鎖とを含む抗体) (任意に、C D 3 抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい) と、h P D-L 1に結合するF a b (任意に、抗体は、態様1~4 0のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい) と、を含むF I T-I gフォーマットを有する。一実施形態では、F I T-I gは、エフェクター可能化されている(例えば、概念3 0~3 2のいずれかに記載されるように)。別の実施形態では、F I T-I gは、エフェクター可能化されていない(例えば、I g G 4フォーマットであるか、または概念3 0または3 1のいずれかに記載される通りである)。

【0 4 9 1】

上に列挙された標的のいずれか(ならびに態様1 Aにより詳細に記載されるF a bおよび/または完全抗体)は、F I T-I g構造に適用され得る。

【0 4 9 2】

概念4 0. 別の標的抗原が、T I G I TまたはL A G 3である、概念3 9に記載の二重

10

20

30

40

50

特異性抗体。

【0493】

概念37～40のいずれにおいても、抗体またはその断片が84G09の重鎖および軽鎖可変領域配列を有する場合、二重特異性抗体は、F c a bがLAG3に対する結合親和性を有するm A b²フォーマットを含まないものとして解釈されるものとする。

【0494】

一実施形態では、二重特異性抗体は、h P D - L 1に結合する完全抗体（例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、C H₁、C H₂、およびC H₃を含む重鎖とを含む抗体）（任意に、抗体は、概念1～40のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、T I G I Tに結合するF a b（任意に、T I G I T F a bは、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、を含むF I T - I gフォーマットを有する。一実施形態では、二重特異性抗体は、T I G I Tに結合する完全抗体（例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、C H₁、C H₂、およびC H₃を含む重鎖とを含む抗体）（任意に、T I G I T抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、h P D - L 1に結合するF a b（任意に、抗体は、概念1～40のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、を含むF I T - I gフォーマットを有する。一実施形態では、F I T - I gは、エフェクター可能化されている（例えば、概念30～32のいずれかに記載されるように）。別の実施形態では、F I T - I gは、エフェクター可能化されていない（例えば、I g G 4フォーマットであるか、または概念30または31のいずれかに記載される通りである）。

【0495】

一実施形態では、二重特異性抗体は、h P D - L 1に結合する完全抗体（例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、C H₁、C H₂、およびC H₃を含む重鎖とを含む抗体）（任意に、抗体は、概念1～40のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、L A G 3に結合するF a b（任意に、L A G 3 F a bは、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、を含むF I T - I gフォーマットを有する。一実施形態では、二重特異性抗体は、L A G 3に結合する完全抗体（例えば、V_LおよびC_Lを含む軽鎖と、V_H、C H₁、C H₂、およびC H₃を含む重鎖とを含む抗体）（任意に、L A G 3抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、h P D - L 1に結合するF a b（任意に、抗体は、態様1～40のいずれか1つに定義される構造を有するか、または抗体は、本明細書の以下の態様1 aに定義されるC D Rおよび可変領域を含む配列を有してもよい）と、を含むF I T - I gフォーマットを有する。一実施形態では、F I T - I gは、エフェクター可能化されている（例えば、概念30～32のいずれかに記載されるように）。別の実施形態では、F I T - I gは、エフェクター可能化されていない（例えば、I g G 4フォーマットであるか、または概念30または31のいずれかに記載される通りである）。

【0496】

概念41. 例えば、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫から選択される、h P D - L 1媒介性疾患または病的状態の治療または予防における使用のための、概念1～40のいずれかに記載の抗体または断片。（例えば、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫、または例えばウイルス誘導性癌（例えば

10

20

30

40

50

子宮頸癌および上咽頭癌) および軟部肉腫)。

【0497】

概念42. 例えば、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌(扁平上皮および非扁平上皮)、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌(例えば子宮頸癌および上咽頭癌)、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫(例えば、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌(扁平上皮および非扁平上皮)、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫、または例えばウイルス誘導性癌(例えば子宮頸癌および上咽頭癌) および軟部肉腫) から選択される、ヒトにおけるhPD-L1媒介性疾患または病的状態の治療または予防のためのヒトへの投与のための医薬品の製造における、概念1~40のいずれか一項に記載の抗体または断片の使用。

10

【0498】

概念43. ヒトにおける、例えば、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌(扁平上皮および非扁平上皮)、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌(例えば子宮頸癌および上咽頭癌)、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫(例えば、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌(扁平上皮および非扁平上皮)、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫、または例えばウイルス誘導性癌(例えば子宮頸癌および上咽頭癌) および軟部肉腫) から選択される、hPD-L1媒介性疾患または病的状態を治療または予防する方法であって、治療有効量の概念1~40のいずれか一項に記載の抗体または断片をヒトに投与することを含み、hPD-L1媒介性疾患または病的状態が、それにより治療または予防される、方法。

20

【0499】

概念41~43のいずれにおいても、hPD-L1媒介性疾患は、本明細書に記載されるもののいずれかであり得る。一実施形態では、概念41~43のいずれにおいても、hPD-L1媒介性疾患は、子宮頸癌および上咽頭癌、例えば、HPV感染によって引き起こされた子宮頸癌等のウイルス誘導性癌である。一実施形態では、概念41~43のいずれにおいても、hPD-L1媒介性疾患は、慢性ウイルス感染症である。一実施形態では、概念41~43のいずれにおいても、hPD-L1媒介性疾患は、腫瘍性疾患である。一実施形態では、概念41~43のいずれにおいても、hPD-L1媒介性疾患は、非腫瘍性疾患である。一実施形態では、概念41~43のいずれにおいても、hPD-L1媒介性疾患は、悪性腫瘍である。一実施形態では、概念41~43のいずれにおいても、hPD-L1媒介性疾患は、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌(扁平上皮および非扁平上皮)、腎細胞癌、暴行癌、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫等の、PD-L1療法に対して応答性であることが知られている癌である。一実施形態では、概念41~43のいずれにおいても、hPD-L1媒介性疾患は、軟部肉腫である癌である。

30

【0500】

概念44. hPD-L1媒介性疾患または病的状態が癌である、概念41に記載の抗体もしくは断片、概念42に記載の使用、または概念43に記載の方法。

40

【0501】

概念44a. hPD-L1媒介性疾患または病的状態が、神経変性疾患、障害、または病的状態であり、任意に、当該神経変性疾患、障害、または病的状態は、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、ハンチントン病、一次性進行型多発性硬化症、二次性進行型多発性硬化症、大脳皮質基底核変性症、レット症候群、加齢黄斑変性および網膜色素変性症、網膜変性障害、前部虚血性視神経症、緑内障、ブドウ膜炎、うつ病、外傷関連ストレスまたは心的外傷後ストレス障害、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、軽度認知障害、後皮質萎縮、原発性進行性失語および進行性核上性麻痺または加齢認知症から選択され、特に、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、お

50

よびハンチントン病から選択され、例えば、アルツハイマー病から選択される、概念 4 1 に記載の抗体もしくは断片、概念 4 2 に記載の使用、または概念 4 3 に記載の方法。

【0502】

概念 4 4 a において、治療有効量の抗体または断片は、PD-L1、例えば hPD-L1 に特異的に結合する抗原結合部位を含み得る。

【0503】

一実施形態では、抗原結合部位は、PD-L1、例えば hPD-L1 に特異的に結合する。一実施形態では、PD-L1 抗原結合部位は、アテゾリズマブ (Roche)、アベルマブ (Merck)、BMS-936559/MDX-1105 (BMS)、デュルバルマブ/Medi4736 (Medimmune)、KN-035、CA-170、FAZ-053 M7824、ABBV-368、LY-3300054、GNS-1480、YW243.55.S70、REGN3504、および WO2017/034916、WO2017/020291、WO2017/020858、WO2017/020801、WO2016/111645、WO2016/197367、WO2016/061142、WO2016/149201、WO2016/000619、WO2016/160792、WO2016/022630、WO2016/007235、WO2015/179654、WO2015/173267、WO2015/181342、WO2015/109124、WO2015/112805、WO2015/061668、WO2014/159562、WO2014/165082、WO2014/100079、WO2014/055897、WO2013/181634、WO2013/173223、WO2013/079174、WO2012/145493、WO2011/066389、WO2010/077634、WO2010/036959、WO2010/089411、または WO2007/005874 に開示される PD-L1 抗体（これらの抗体および配列は、参照により本明細書に組み込まれる）のいずれかから選択される抗 PD-L1 抗体のいずれか 1 つからの CDRH1、CDRH2、CDR3、CDRL1、CDRL2、および CDRL3、または V_H、もしくは V_L、もしくは V_H および V_L 領域を含む。

【0504】

概念 4 4 a の別の実施形態では、PD-L1 抗原結合部位は、本明細書に開示される抗 PD-L1 抗体から選択される抗 PD-L1 抗体のいずれか 1 つ、具体的には、概念 1 6 a ~ 1 6 l に開示される抗 PD-L1 抗体クローン、およびより具体的には、抗 PD-L1 抗体クローン 84G09 からの、CDRH1、CDRH2、CDR3、CDRL1、CDRL2、および CDRL3、または V_H、もしくは V_L、もしくは V_H および V_L 領域を含む。

【0505】

概念 4 4 a の別の実施形態では、PD-L1 抗原結合部位は、抗 PD-L1 抗体クローン 84G09 からの CDRH1、CDRH2、CDR3、CDRL1、CDRL2、および CDRL3、または V_H、もしくは V_L、もしくは V_H および V_L 領域を含み、hPD-L1 媒介性疾患または病的状態は、アルツハイマー病である。

【0506】

概念 4 5. 癌が、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫から選択されるか、またはウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）および軟部肉腫から選択される、概念 4 4 に記載の抗体もしくは断片、使用、または方法。

【0507】

概念 4 6. さらに療法をヒトに施術すること、例えば治療剤をヒトに投与することをさらに含み、任意に、さらなる治療剤は、

a. 他の免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗 TIM-3 抗体、抗 CTLA-4 抗体、抗 TIGIT 抗体、および抗 LAG-3 抗体）、

b. 免疫刺激剤（例えば、抗 OX40 抗体、抗 GITR 抗体、抗 CD137 抗体、抗 I

10

20

30

40

50

COS抗体、および抗CD40抗体)、

c. ケモカイン受容体アンタゴニスト (例えば、CXCR4、CCR4、およびCXCR2)、

d. 標的化キナーゼ阻害剤 (例えば、CSF-1RもしくはVEGFR阻害剤)、

e. 血管新生阻害剤 (例えば、抗VEGF-Aもしくはデルタ様リガンド4)、

f. 免疫刺激ペプチドもしくはケモカイン (例えば、CXCL9もしくはCXCL10)、

g. サイトカイン (例えば、IL-15およびIL-21)、

h. CD3に対して少なくとも1つの特異性を有する二重特異性T細胞エンゲージャー(engager) (BiTE) (例えば、CD3/CD19 BiTE)、

i. 他の二重特異性分子 (例えば、腫瘍関連抗原を標的とするIL-15含有分子、例えば、EGFR、Her-2、New York Esophageal Cancer-1 (NY-ESO-1)、GD2、EpCAM、もしくは黒色腫瘍関連抗原-3 (MAGE-A3) などの上皮成長因子受容体)、

j. 腫瘍溶解性ウイルス (例えば、HSVウイルス (任意選択でGMCSFを分泌する)、ニューカッスル病ウイルス、およびワクシニアウイルス)、

k. 腫瘍関連抗原 (例えば、New York Esophageal Cancer-1 [NY-ESO-1]、黒色腫瘍関連抗原-3 (MAGE-3)) によるワクチン接種、

l. 細胞療法 (例えば、抗CD19、抗EpCam、もしくは抗メソテリンを発現するキメラ抗原受容体T細胞 (CAR-T) 等)、

m. NKG2DもしくはCD16a等の、活性化MK受容体に対する特異性を有する二重特異性NK細胞エンゲージャー、ならびに

n. 腫瘍特異的T細胞またはLAK細胞の養子移入、からなる群から独立して選択されてもよいし、

または任意に、さらなる療剤が、化学療剤、放射線療剤、および腫瘍の外科的切除であってもよい、概念41~45のいずれか一項に記載の抗体もしくは断片、使用、または方法。

【0508】

放射線療剤は、患部組織に直接、または全身のいずれかに送達される、単回線量または分割線量であり得る。

【0509】

化学療剤は、本明細書において上記のいずれか、特に、免疫原性細胞死を誘導する薬剤、例えば、オキサリプラチン等の白金療剤であり得る。一実施形態では、化学療剤では、治療される癌のための標準治療細胞毒性化学療剤である。

【0510】

この態様では、二重特異性分子には、「二重特異性抗体」および抗体融合タンパク質が含まれ、概念37~40に記載されるフォーマットおよび分子が含まれる。

【0511】

抗体は、構成5、5aに記載されるか、または態様1aに詳述される配列または抗体のいずれかであり得る。

【0512】

この概念のさらなる治療剤は、任意の方法によって送達され得、これらの方法は、当業者に周知である。例えば、さらなる治療剤は、経口的、全身的、または(腫瘍環境へ)局所的に送達され得る一実施形態では、さらなる治療剤は、経口的に送達される。一実施形態では、さらなる治療剤は、全身的に送達される(例えば、静脈内)。一実施形態では、さらなる治療剤は、腫瘍環境へ局所的に送達される。

【0513】

組成および投与経路は、本明細書において以下により詳細に記載される。

【0514】

概念47.さらなる治療剤が、抗hPD-L1抗体または断片と連続的または同時に投与される、概念46に記載の抗体もしくは断片、使用、または方法。

10

20

30

40

50

【0515】

概念48. 概念1～40のいずれか一項に記載の断片の抗体と、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体と、を含み、任意に、

a) 他の免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗TIM-3抗体、抗CTLA-4抗体、抗TIGIT抗体、および抗LAG-3抗体）、

b) 免疫刺激剤（例えば、抗OX40抗体、抗GITR抗体、抗CD137抗体、抗ICOS抗体、および抗CD40抗体）、

c) ケモカイン受容体アンタゴニスト（例えば、CXCR4、CCR4、およびCXCR2）、

d) 標的化キナーゼ阻害剤（例えば、CSF-1RもしくはVEGFR阻害剤）、

e) 血管新生阻害剤（例えば、抗VEGF-Aもしくはデルタ様リガンド4）、

f) 免疫刺激ペプチドもしくはケモカイン（例えば、CXCL9もしくはCXCL10）、

g) サイトカイン（例えば、IL-15およびIL-21）、

h) CD3に対して少なくとも1つの特異性を有する二重特異性T細胞エンゲージャー（BiTE）（例えば、CD3/CD19 BiTE）、

i) 他の二重特異性分子（例えば、腫瘍関連抗原を標的とするIL-15含有分子、例えば、EGFR、Her-2、New York Esophageal Cancer-1（NY-ESO-1）、GD2、EpCAM、もしくは黒色腫関連抗原-3（MAGE-A3）などの上皮成長因子受容体）、

j) 腫瘍溶解性ウイルス（例えば、HSVウイルス（任意選択でGMCSFを分泌する）、ニューカッスル病ウイルス、およびワクシニアウイルス）、

k) 腫瘍関連抗原（例えば、New York Esophageal Cancer-1 [NY-ESO-1]、黒色腫関連抗原-3（MAGE-3））によるワクチン接種、

l) 細胞療法（例えば、抗CD19、抗EpCam、もしくは抗メソテリンを発現するキメラ抗原受容体T細胞（CAR-T）等）、

m) NKG2DもしくはCD16a等の、活性化MK受容体に対する特異性を有する二重特異性NK細胞エンゲージャー、ならびに

n) 腫瘍特異的T細胞またはLAK細胞の養子移入、からなる群から独立して選択されるさらなる治療剤をさらに含んでもよい、医薬組成物。

【0516】

薬学的製剤は、当業者に周知である。一実施形態では、抗体または断片は、静脈内に投与される。一実施形態では、抗体または断片は、皮下投与される。

【0517】

位置れでは、本明細書に開示される抗体または断片は、医療用容器、例えば、バイアル、注射器、IV容器、または注射デバイス（例えば、眼内もしくは硝子体内注射デバイス）内に收容される。一例では、抗体または断片は、インビトロであり、例えば、滅菌容器中にある。

【0518】

一実施形態では、組成物は、ヒトへの静脈内投与のために適合された医薬組成物として常法に従って製剤化される。典型的には、静脈内投与のための組成物は、滅菌等張水性緩衝液中の溶液である。必要に応じて、組成物はまた、注射部位の痛みを和らげるために、可溶化剤および局所麻酔、例えば、リグノカムネ（lignocaine）を含んでもよい。しかしながら、かかる組成物は、静脈内以外の経路によって投与されてもよい。

【0519】

一般に、組成物の成分は、例えば、活性剤の量を示すアンプルまたはサシェ等の密封容器中の乾燥した凍結乾燥粉末または無水濃縮物として、別々に、または単位剤形中で一緒に混合されて供給される。組成物が注入によって投与される場合、組成物は、滅菌された医薬品グレードの水または生理食塩水を收容した注入ボトルで分注され得る。組成物が注射によって投与される場合、投与前に成分が混合され得るように、注射用の滅菌水または

10

20

30

40

50

生理食塩水のアンブルが提供され得る。

【0520】

この態様では、二重特異性分子には、「二重特異性抗体」および抗体融合タンパク質が含まれ、概念37～40に記載されるフォーマットおよび分子が含まれる。

【0521】

この概念のさらなる治療剤は、任意の方法によって送達され得、これらの方法は、当業者に周知である。例えば、さらなる治療剤は、経口、全身、または局所的に（腫瘍環境へ）送達され得る一実施形態では、さらなる治療剤は、経口で送達される。一実施形態では、さらなる治療剤は、全身に送達される（例えば、静脈内）。一実施形態では、さらなる治療剤は、局所的に送達される。

【0522】

抗体は、構成5、5aに記載されるか、または態様1aに詳述される配列のいずれかを有し得るか、またはそれらの抗体のいずれかであり得る。

【0523】

概念49．組成物が、例えば、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫から選択されるhPD-L1媒介性病的状態または疾患を治療および／または予防するためのものである、概念48に記載の医薬組成物、または概念48に記載の医薬組成物を含むキット。

【0524】

概念50．ヒトにおける疾患または病的状態を治療および／もしくは予防に使用するためのラベルもしくは説明書と組み合わせた概念48もしくは概念49に記載の医薬組成物、またはそれを含む概念49に記載のキットであって、任意に、ラベルまたは説明書は販売承認番号（例えば、FDAまたはEMA承認番号）を含んでもよく、任意に、キットは抗体または断片を含むIVまたは注射用デバイスを含んでもよい、概念48もしくは概念49に記載の医薬組成物、または概念49に記載のキット。

【0525】

概念51．患者におけるPD-1／PD-L1相互作用を調節する方法であって、有効量の概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片を患者に投与することを含む、方法。

【0526】

別の実施形態では、患者におけるCD80／PD-L1相互作用を調節する方法であって、有効量の概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片を当該患者に投与することを含む、方法が提供される。別の実施形態では、抗体または断片は、CD80／PD-L1相互作用を調節するが、PD-1／PD-L1相互作用を調節しない。別の実施形態では、抗体または断片は、CD80／PD-L1相互作用を遮断するが、PD-1／PD-L1相互作用を遮断しない。別の実施形態では、抗体または断片は、CD80／PD-L1相互作用を阻害するが、PD-1／PD-L1相互作用を阻害しない。

【0527】

概念52．患者におけるPD-L1活性を阻害する方法であって、有効量の概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片を当該患者に投与することを含む、方法。

【0528】

一実施形態では、抗体または断片は、PD-L1に対するPD-1の結合を遮断または阻害する。一実施形態では、抗体または断片は、PD-L1に対するCD80の結合を遮断または阻害する。

【0529】

概念53．動物（例えば、ヒト）における増殖性疾患を治療する方法であって、有効量の概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片を当該患者に投与することを含む

10

20

30

40

50

、方法。

【0530】

増殖性疾患は、本明細書の他の箇所に記載されるいずれかであり得る。

【0531】

概念54．試料中のPD-L1発現を検出する方法であって、試料を、概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片と接触させることを含む、方法。

【0532】

概念55．生体試料を、概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片と接触させて、試料中に存在するPD-L1との複合体を形成することと、生体試料中の複合体の存在、不在、またはレベルを測定することと、を含む、方法。

【0533】

概念56．PD-L1発現の存在、不在、および／またはレベルが治療前に検出され、高レベルの表面発現PD-L1は、治療の成功を示す、概念55に記載の方法。

【0534】

概念57．PD-L1発現の存在、不在、および／またはレベルが、初期応答バイオマーカーとして治療中に検出される、概念55に記載の方法。

【0535】

概念58．PD-L1発現の存在、不在、および／またはレベルが、治療が成功したかどうか、治療を継続すべきかどうか、および／または治療を変更すべきかどうかのうちの1つ以上の判定を助けるために、治療中または治療後に検出される、概念55または概念57に記載の方法。

【0536】

概念59．療法が、任意に概念1～40のいずれか一項に記載されるものであってもよい、抗PD-L1抗体での治療を含む、概念55～58のいずれか一項に記載の方法。

【0537】

概念60．療法の有効性を監視するための方法であって、療法前、療法中、および療法後の患者における表面発現PD-L1の発現を検出することを含み、表面発現PD-L1の発現を検出するために、概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片が使用される、方法。

【0538】

概念61．表面発現PD-L1の発現が、インビボで検出される、概念60に記載の方法。

【0539】

概念62．表面発現PD-L1の発現が、インビトロで組織試料中で検出される、概念60に記載の方法。

【0540】

概念63．PD-L1のための結合パートナーを同定するための方法であって、概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片を使用して、PD-L1を含む無傷のタンパク質複合体を免疫沈降することを含む、方法。

【0541】

概念64．変化したPD-L1発現に関連するヒト対象における疾患を診断する方法であって、当該ヒト対象からの生体試料を、概念1～40のいずれか一項に記載の抗体と接触させて、抗体と試料中に存在するPD-L1との複合体を形成するステップと、複合体の量を検出するステップと、を含む、方法。

【0542】

概念65．概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片のCDRH3をコードする核酸。

【0543】

概念65a．概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片のCDRH2をコードする核酸もまた提供される。

10

20

30

40

50

【0544】

概念65b. 概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片のCDRH1をコードする核酸もまた提供される。

【0545】

概念65c. 概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片のCDRL1をコードする核酸もまた提供される。

【0546】

概念65d. 概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片のCDRL2をコードする核酸もまた提供される。

【0547】

概念65e. 概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片のCDRL3をコードする核酸もまた提供される。

【0548】

一実施形態では、核酸は、単離および精製された核酸である。

【0549】

概念66. 概念1～40のいずれか一項に記載の抗体または断片のV_Hドメインおよび／またはV_Lドメインをコードする核酸。

【0550】

本発明のV_HおよびV_Lドメイン核酸配列は、配列表に提供される。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも70%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも75%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも95%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも96%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも97%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも98%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも99%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも99.5%同一である。

【0551】

概念67. 配列番号36および／または配列番号46と少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含む、概念66に記載の核酸。

【0552】

概念67a. 配列番号16および／または配列番号26と少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含む、概念66に記載の核酸。

【0553】

概念67b. 配列番号61および／または配列番号71と少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含む、概念66に記載の核酸。

【0554】

概念67c. 配列番号81および／または配列番号91と少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含む、概念66に記載の核酸。

【0555】

概念67d. 配列番号101および／または配列番号111と少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含む、概念66に記載の核酸。

【0556】

概念67e. 配列番号121および／または配列番号131と少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含む、概念66に記載の核酸。

【0557】

概念67f. 配列番号161および／または配列番号171と少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含む、概念66に記載の核酸。

【0558】

概念67g. 配列番号181および／または配列番号191と少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含む、概念66に記載の核酸。

10

20

30

40

50

【0559】

概念67h. 配列番号141および／または配列番号151と少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含む、概念66に記載の核酸。

【0560】

概念67i. 配列番号247および／または配列番号257と少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含む、概念66に記載の核酸。

【0561】

概念67j. 配列番号267および／または配列番号277と少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含む、概念66に記載の核酸。

【0562】

概念67k. 配列番号287および／または配列番号297と少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含む、概念66に記載の核酸。

【0563】

概念67l. 配列番号352および／または配列番号362と少なくとも80%同一であるヌクレオチド配列を含む、概念66に記載の核酸。

【0564】

一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも70%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも75%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも95%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも96%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも97%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも98%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも99%同一である。一実施形態では、核酸配列は、指定の配列と少なくとも99.5%同一である。

【0565】

概念68. 概念1～40のいずれか一項に記載の抗体の重鎖または軽鎖をコードする核酸。

【0566】

概念69. 概念65～68のいずれか一項に記載の核酸を含むベクターであって、任意に、ベクターはCHOまたはHEK293ベクターであってもよい、ベクター。

【0567】

概念70. 概念65～68のいずれか一項に記載の核酸または概念69に記載のベクターを含む、宿主。

【0568】

3. 免疫サイトカイン

本発明者らは、重鎖または軽鎖のN末端またはC末端のいずれか（例えば、重鎖または軽鎖、特に軽鎖のC末端）に融合したPD-L1等の、免疫チェックポイント阻害剤に結合する抗体を含む免疫サイトカインに記載している免疫サイトカインは、IL-2またはその変異型（N末端において1～10個のアミノ酸欠失を有する変異型を含む）であり得るサイトカイン分子を含む。本明細書の上記の抗体は、本明細書の上記の免疫サイトカインのいずれにおいても使用され得る。

【0569】

理論に拘束されることなく、本発明の免疫サイトカインは、以下の有利な特性のうちの1つ以上を提供し得る：

- 相乗的活性（サイトカインと組み合わせた抗体Fab部分の治療活性による）
- 腫瘍標的化の改善
- CDC、ADCC、および／またはADCP等のエフェクター機能を保持する能力
- オフターゲット効果の低減
- 毒性の低下（例えば、遊離サイトカイン、または免疫サイトカインの重鎖に融合したときのサイトカインと比較して）
- 免疫原性の低減

●重鎖融合等価物と比較した軽鎖サイトカイン融合物の半減期の改善に特に起因する、
投与量／投薬頻度の低下

●PD-L1のリガンドのうちの1つのみを遮断する特異性（例えば、CD80／PD-L1相互作用を遮断するが、PD-1／PD-L1相互作用は遮断しない）

●可溶性

●安定性

●製剤化の容易さ

●投薬頻度および／または投与経路

●製造性（例えば、発現、精製の容易さ、アイソフォーム）

【0570】

1D05 ICKは、配列番号299の重鎖アミノ酸配列および配列番号300の軽鎖アミノ酸配列を含む。軽鎖は、重鎖において全長の野生型ヒトIL-2サイトカインに融合した、本明細書の上記の抗体1D05のCDRおよびVL配列を含むVLDメインを含む。それは、リンカーペプチドを含有しない。重鎖は、欠損したIgG定常領域（配列番号205）に融合した、本明細書の上記の抗体1D05のCDRおよびVH配列を含むVHドメインを含む。

【0571】

1D05 D5-9 ICKは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したIgG1定常領域に融合した、配列番号33のVH領域アミノ酸配列（本明細書の上記の1D05のCDRを含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、hIL-2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているIL-2 D5-9（配列番号303）に直接融合した、配列番号43のVLアミノ酸配列（本明細書の上記の1D05のCDRを含む）を含む。

【0572】

1D05 D1-9 ICKは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したIgG1定常領域に融合した、配列番号33のVH領域アミノ酸配列（本明細書の上記の1D05のCDRを含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、hIL-2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているIL-2 D1-9（配列番号304）に直接融合した、配列番号43のVLアミノ酸配列（本明細書の上記の1D05のCDRを含む）を含む。

【0573】

1D05 D5-7 ICKは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したIgG1定常領域に融合した、配列番号33のVH領域アミノ酸配列（本明細書の上記の1D05のCDRを含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、hIL-2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているIL-2 D5-7（配列番号305）に直接融合した、配列番号43のVLアミノ酸配列（本明細書の上記の1D05のCDRを含む）を含む。

【0574】

1D05 D1 ICKは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したIgG1定常領域に融合した、配列番号33のVH領域アミノ酸配列（本明細書の上記の1D05のCDRを含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、hIL-2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているIL-2 D1（配列番号306）に直接融合した、配列番号43のVLアミノ酸配列（本明細書の上記の1D05のCDRを含む）を含む。

【0575】

1D05 D1-2 ICKは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したIgG1定常領域に融合した、配列番号33のVH領域アミノ酸配列（本明細書の上記の1D05のCDRを含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、hIL-2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているIL-2 D1-2（配列番号307）に直接融合した、配列番号43のVLアミノ酸配列（本明細書の上記の1D05のC

10

20

30

40

50

D Rを含む)を含む。

【0576】

1 D 0 5 D 1-3 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L-2(配列番号324)のアミノ酸21~133に直接融合しているI L-2 D 1-3(配列番号308)に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む。

【0577】

1 D 0 5 D 1-4 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L-2(配列番号324)のアミノ酸21~133に直接融合しているI L-2 D 1-4(配列番号309)に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む。

【0578】

1 D 0 5 D 1-5 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L-2(配列番号324)のアミノ酸21~133に直接融合しているI L-2 D 1-5(配列番号310)に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む。

【0579】

1 D 0 5 D 1-6 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L-2(配列番号324)のアミノ酸21~133に直接融合しているI L-2 D 1-6(配列番号311)に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む。

【0580】

1 D 0 5 D 1-7 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L-2(配列番号324)のアミノ酸21~133に直接融合しているI L-2 D 1-7(配列番号312)に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む。

【0581】

1 D 0 5 D 1-8 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L-2(配列番号324)のアミノ酸21~133に直接融合しているI L-2 D 1-8(配列番号313)に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む。

【0582】

1 D 0 5 D 9 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L-2(配列番号324)のアミノ酸21~133に直接融合しているI L-2 D 9(配列番号314)に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列(本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む)を含む。

10

20

30

40

50

【0583】

1 D 0 5 D 9 - 8 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L - 2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているI L - 2 D 9 - 8（配列番号315）に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む。

【0584】

1 D 0 5 D 9 - 7 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L - 2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているI L - 2 D 9 - 7（配列番号316）に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む。

【0585】

1 D 0 5 D 9 - 6 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L - 2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているI L - 2 D 9 - 6（配列番号317）に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む。

【0586】

1 D 0 5 D 9 - 4 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L - 2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているI L - 2 D 9 - 4（配列番号318）に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む。

【0587】

1 D 0 5 D 9 - 3 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L - 2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているI L - 2 D 9 - 3（配列番号319）に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む。

【0588】

1 D 0 5 D 9 - 2 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L - 2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているI L - 2 D 9 - 2（配列番号320）に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む。

【0589】

1 D 0 5 D 2 - 6 I C Kは、配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号33のV_H領域アミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C末端において、h I L - 2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているI L - 2 D 2 - 6（配列番号321）に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列（本明細書の上記の1 D 0 5のC D Rを含む）を含む。

【0590】

1 D 0 5 D 3 - 7 I C K は、配列番号 2 0 5 のアミノ酸配列を有する欠損した I g G 1 定常領域に融合した、配列番号 3 3 の V_H 領域アミノ酸配列（本明細書の上記の 1 D 0 5 の C D R を含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C 末端において、h I L - 2（配列番号 3 2 4）のアミノ酸 2 1 ~ 1 3 3 に直接融合している I L - 2 D 3 - 7（配列番号 3 2 2）に直接融合した、配列番号 4 3 の V_L アミノ酸配列（本明細書の上記の 1 D 0 5 の C D R を含む）を含む。

【0591】

1 D 0 5 D 4 - 8 I C K は、配列番号 2 0 5 のアミノ酸配列を有する欠損した I g G 1 定常領域に融合した、配列番号 3 3 の V_H 領域アミノ酸配列（本明細書の上記の 1 D 0 5 の C D R を含む）を含む重鎖を含む。軽鎖は、C 末端において、h I L - 2（配列番号 3 2 4）のアミノ酸 2 1 ~ 1 3 3 に直接融合している I L - 2 D 4 - 8（配列番号 3 2 3）に直接融合した、配列番号 4 3 の V_L アミノ酸配列（本明細書の上記の 1 D 0 5 の C D R を含む）を含む。

10

【0592】

上記の I C K 構築物のいずれにおいても、I L - 2 結合部分は、変異型 I L - 2、特に、R 3 8 A 変異（配列番号 5 1 7 として記載される変異型 I L - 2 のアミノ酸 2 1 ~ 1 3 3 に記載される）または R 3 8 Q 変異（配列番号 5 1 8 として記載される変異型 I L - 2 のアミノ酸 2 1 ~ 1 3 3 に記載される）を有する I L - 2 であり得る。

【0593】

上記の I C K 構築物のいずれにおいても、1 D 0 5 抗体の V_H 領域は、変異 1 D 0 5 - 重鎖変異体 1（配列番号 4 7）、変異 1 D 0 5 - 重鎖変異体 2（配列番号 4 8）、変異 1 D 0 5 - 重鎖変異体 3（配列番号 4 9）、または変異 1 D 0 5 - 重鎖変異体 4（配列番号 3 4 2）の V_H 領域と交換され得る 1 D 0 5 の好ましい変異重鎖 V_H 領域は、変異 1 D 0 5 - 重鎖変異体 4（配列番号 3 4 2）である。

20

【0594】

したがって、ある特定の I C K 構築物には、以下が含まれる。

配列番号 2 0 5 のアミノ酸配列を有する欠損した I g G 1 定常領域に融合した、配列番号 3 4 2 の V_H 領域アミノ酸配列（本明細書に記載される変異 1 D 0 5 - 重鎖変異体 4 の C D R を含む）を含む重鎖を含む、変異 1 D 0 5 - 重鎖変異体 4 D 5 - 9 I C K。軽鎖は、C 末端において、h I L - 2（配列番号 3 2 4）のアミノ酸 2 1 ~ 1 3 3 に直接融合している I L - 2 D 5 - 9（配列番号 3 0 3）に直接融合した、配列番号 4 3 の V_L アミノ酸配列（本明細書の上記の 1 D 0 5 の C D R を含む）を含む。

30

【0595】

配列番号 2 0 5 のアミノ酸配列を有する欠損した I g G 1 定常領域に融合した、配列番号 3 4 2 の V_H 領域アミノ酸配列（本明細書に記載される変異 1 D 0 5 - 重鎖変異体 4 の C D R を含む）を含む重鎖を含む、変異 1 D 0 5 - 重鎖変異体 4 D 1 - 9 I C K。軽鎖は、C 末端において、h I L - 2（配列番号 3 2 4）のアミノ酸 2 1 ~ 1 3 3 に直接融合している I L - 2 D 1 - 9（配列番号 3 0 4）に直接融合した、配列番号 4 3 の V_L アミノ酸配列（本明細書の上記の 1 D 0 5 の C D R を含む）を含む。

【0596】

配列番号 2 0 5 のアミノ酸配列を有する欠損した I g G 1 定常領域に融合した、配列番号 3 4 2 の V_H 領域アミノ酸配列（本明細書に記載される変異 1 D 0 5 - 重鎖変異体 4 の C D R を含む）を含む重鎖を含む、変異 1 D 0 5 - 重鎖変異体 4 D 1 - 8 I C K。軽鎖は、C 末端において、h I L - 2（配列番号 3 2 4）のアミノ酸 2 1 ~ 1 3 3 に直接融合している I L - 2 D 1 - 8（配列番号 3 1 3）に直接融合した、配列番号 4 3 の V_L アミノ酸配列（本明細書の上記の 1 D 0 5 の C D R を含む）を含む。

40

【0597】

配列番号 2 0 5 のアミノ酸配列を有する欠損した I g G 1 定常領域に融合した、配列番号 3 4 2 の V_H 領域アミノ酸配列（本明細書に記載される変異 1 D 0 5 - 重鎖変異体 4 の C D R を含む）を含む重鎖を含む、変異 1 D 0 5 - 重鎖変異体 4 D 9 - 7 I C K。軽鎖

50

は、C末端において、h I L - 2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているI L - 2 D 9 - 7（配列番号316）に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列（本明細書の上記の1D05のCDRを含む）を含む。

【0598】

配列番号205のアミノ酸配列を有する欠損したI g G 1定常領域に融合した、配列番号342のV_H領域アミノ酸配列（本明細書に記載される変異1D05－重鎖変異体4のCDRを含む）を含む重鎖を含む、変異1D05－重鎖変異体4 D 9 - 2 I C K。軽鎖は、C末端において、h I L - 2（配列番号324）のアミノ酸21～133に直接融合しているI L - 2 D 9 - 2（配列番号320）に直接融合した、配列番号43のV_Lアミノ酸配列（本明細書の上記の1D05のCDRを含む）を含む。

【0599】

上記のI C K構築物のいずれにおいても、1D05抗体のV_L領域は、変異1D05－軽鎖変異体1（配列番号50）、変異1D05－軽鎖変異体2（配列番号51）、または変異1D05－軽鎖変異体3（配列番号298）のV_L領域と交換され得る。

【0600】

上記のI C K構築物のいずれにおいても、1D05抗体のV_HおよびV_L領域の両方は、本明細書に記載される他の抗体、すなわち、84G09、411B08、411C04、411D07、385F01、413D08、386H03、389A03、413G05、413F09、414B06のいずれかのV_HおよびV_L領域の両方と交換され得る。

【0601】

上記のI C K構築物のいずれにおいても、配列番号205の重鎖定常領域は、配列番号193、195、197、199、203、205、340、524、526、528、530、532、または534の重鎖定常領域のいずれかと交換され得る。

【0602】

目ね基サイトカインは、以下の文または態様に記載され得る。別途明白でない限り、本明細書の上記の概念のいずれかの特徴は、以下の態様のいずれかについて準用する。

【0603】

態様1．免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む免疫サイトカインであって、重鎖が、N末端からC末端方向に、

- a) C D R H 1、C D R H 2、およびC D R H 3を含むV_Hドメインと、
- b) 重鎖定常領域と、を含み、
- 軽鎖が、N末端からC末端方向に、
- c) C D R L 1、C D R L 2、およびC D R L 3を含むV_Lドメインと、
- d) 軽鎖定常領域（C_L）と、
- e) 任意に、リンカー（L）と、
- f) I L - 2サイトカインと、を含み、

V_HドメインおよびV_Lドメインが、配列番号1によって定義されるh P D - L 1に特異的に結合する抗原結合部位によって構成され、h P D - L 1への結合について抗体1D05と競合し、

免疫サイトカインが、モチーフX₁G S G X₂Y G X₃X₄F Dを含むC D R H 3を含むV_Hドメインを含み、式中、X₁、X₂、およびX₃が独立して任意のアミノ酸であり、X₄が存在するかまたは存在しないかのいずれかであり、存在する場合、任意のアミノ酸であり得る、免疫サイトカイン。

【0604】

本明細書に記載される態様において、CDR配列は、K a b a t法、I M G T法、またはC h o t h i a法を使用する等、当業者に既知の任意の方法に従って判定され得、これらは各々、本明細書により詳細に記載される。一実施形態では、CDR領域は、ヒトCDR領域である。

【0605】

C D R領域に加えて、V_Hおよび／またはV_Lドメインは、F W 1、F W 2、およびF W 3等のフレームワーク領域をさらに含み得る。V_Hおよび／またはV_Lドメインは、本明細書に記載される任意の起源のものであってもよく、例えば、完全ヒト、ヒト化、マウス、またはラクダであってよい。一実施形態では、V_Hおよび／またはV_Lドメインは、ヒトV_Hおよび／またはV_Lドメインである。C D Rは、非ヒト起源（例えば、マウス起源）のものであってもよく、ヒトフレームワーク領域上に移植されてもよく。別の実施形態では、C D Rは、合成である。

【0606】

別の実施形態では、V_H領域は、抗体可変ドメイン（例えば、V_LもしくはV_H、抗体単一可変ドメイン（ドメイン抗体もしくはd A b）、ラクダV_HH抗体単一可変ドメイン、
10
サメ免疫グロブリン単一可変ドメイン（N A R V）、N a n o b o d y（商標）、またはラクダ化V_H単一可変ドメイン）、T細胞受容体結合ドメイン、免疫グロブリンスーパーファミリードメイン、無顎類可変リンパ球受容体、フィブロネクチンドメイン（例えば、A d n e c t i n（商標））、抗体定常ドメイン（例えば、C H₃ドメイン、例えば、F c a b（商標）のC H₂および／またはC H₃）（当該定常ドメインは、機能的C H₁ドメインではない）、s c F v、（s c F v）₂、s c - d i a b o d y、s c F a b、C T L A - 4から選択される骨格に由来するセンチリン（c e n t y r i n）およびエピトープ結合ドメイン（E v i b o d y（商標））、リポカリンドメイン、タンパク質AのZドメイン等のタンパク質A（例えば、A f f i b o d y（商標）またはS p A）、Aドメイン（例えば、A v i m e r（商標）またはM a x i b o d y（商標））、熱ショックタン
20
パク質（G r o E IおよびG r o E Sに由来するエピトープ結合ドメイン等）、トランスフェリンドメイン（例えば、トランスボディ）、アンキリンリピートタンパク質（例えば、D A R P i n（商標））、ペプチドアプタマー、C型レクチンドメイン（例えば、T e t r a n e c t i n（商標））、ヒトγ-クリスタリンまたはヒトユビキチン（アフィリン）、P D Zドメイン、サソリ毒、ならびにヒトプロテアーゼ阻害剤のクーニッツ型ドメインからなる群から選択され得る。

【0607】

定常領域は、C H₁、C H₂、C H₃、およびC H₄から選択される少なくとも2つの重鎖定常領域を含む。一実施形態では、定常領域は、C H₁ドメインおよびC H₂ドメインを含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、定常領域は、C H₁ドメイン、ヒンジ領域、およびC H₂ドメインを含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、定常領域は、C H₁ドメインおよびC H₃ドメイン、ならびに任意選択のヒンジ領域を含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、定常領域は、C H₁ドメインおよびC H₄ドメイン、ならびに任意選択のヒンジ領域を含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、定常領域は、C H₁ドメイン、C H₂ドメイン、およびC H₃ドメイン、ならびに任意選択のヒンジ領域を含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、定常領域は、C H₁ドメイン、C H₂ドメイン、およびC H₄ドメイン、ならびに任意選択のヒンジ領域を含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、定常領域は、C H₁ドメイン、C H₃ドメイン、およびC H₄ドメイン、ならびに任意選択のヒンジ領域を含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、定常領域は、完全定常領域を含む（またはそれらからなる）。
30
40

【0608】

定常領域は、本明細書に記載される任意のアイソタイプ、例えば、I g A、I g D、I g E、I g G、およびI g Mのものであり得る。一実施形態では、定常領域は、本明細書に記載される任意の起源のものであってもよく、例えば、ヒト、マウス、またはラクダであってよい。一実施形態では、定常領域は、（完全）ヒト定常領域である。一実施形態では、定常領域は、ヒトI g G定常領域である。一実施形態では、定常領域は、（完全）ヒトI g G 1定常領域である。一実施形態では、定常領域は、エフェクターナル（完全）ヒトI g G 1定常領域である。一実施形態では、定常領域は、C D Cおよび／またはA D C Cおよび／またはA D C P活性を有する。一実施形態では、定常領域は、C D Cおよび／またはA D C Cおよび／またはA D C P活性を増強するように操作されている。定常領
50

域は、本明細書の上記の概念 30～32 に記載される定常領域のいずれかであり得る。

【0609】

軽鎖定常領域は、カップまたはラムダ軽鎖定常領域であり得る。軽鎖定常領域は、本明細書の上記の概念 28 に記載される通りであり得る。

【0610】

IL-2 サイトカインは、中親和性 IL-2 受容体 ($\alpha\beta$) および高親和性 IL-2 受容体 ($\alpha\beta\gamma$) の一方または両方に IL-2 活性を付与するサイトカイン分子である。IL-2 サイトカインは、変異型 IL-2 サイトカインを含む。IL-2 サイトカインは、ヒト起源のもの、または非ヒト起源、例えば、霊長類 (例えば、アカゲザルまたはカニクイザル)、げっ歯類 (例えば、マウス、ラット、およびモルモット)、家畜動物 (例えば、ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウマ、ニワトリ、シチメンチョウ、カモ、およびガチョウ)、ならびに飼育哺乳動物 (例えば、イヌおよびネコ) を含むがこれらに限定されない非ヒト哺乳動物のものであってもよい。一実施形態では、IL-2 サイトカインは、ヒト IL-2 サイトカインである。

【0611】

本明細書で使用される場合、「変異型 IL-2 サイトカイン」とは、IL-2 サイトカイン中の他の箇所における最大で 5 個のアミノ酸置換、欠失、または付加と組み合わせて、N 末端配列から最大で 10 個のアミノ酸が欠失しているサイトカインである。一実施形態では、変異型 IL-2 サイトカインは、IL-2 サイトカイン中の他の箇所における最大で 5 個 (例えば、1、2、3、4、または 5 個) のアミノ酸置換と組み合わせて、N 末端配列 (例えば、目的の野生型 IL-2 配列の最初の 20 個、または最初の 15 個、または最初の 10 個のアミノ酸の中で) からの最大で 10 個 (例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 個) のアミノ酸欠失を含む (またはそれらからなる)。一実施形態では、変異型 IL-2 サイトカインは、IL-2 サイトカイン中の他の箇所における最大で 5 個 (例えば、1、2、3、4、または 5 個) のアミノ酸置換と組み合わせて、N 末端配列 (例えば、目的の野生型 IL-2 配列の最初の 15 個のアミノ酸の中で) からの最大で 10 個 (例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 個) のアミノ酸欠失を含む (またはそれらからなる)。一実施形態では、変異型 IL-2 サイトカインは、IL-2 サイトカイン中の他の箇所における最大で 4 個 (例えば、1、2、3、または 4 個) のアミノ酸置換と組み合わせて、N 末端配列 (例えば、目的の野生型 IL-2 配列の最初の 20 個、または最初の 15 個、または最初の 10 個のアミノ酸の中で) からの最大で 10 個 (例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 個) のアミノ酸欠失を含む (またはそれらからなる)。一実施形態では、変異型 IL-2 サイトカインは、IL-2 サイトカイン中の他の箇所における最大で 3 個 (例えば、1、2、または 3 個) のアミノ酸置換と組み合わせて、N 末端配列 (例えば、目的の野生型 IL-2 配列の最初の 20 個、または最初の 15 個、または最初の 10 個のアミノ酸の中で) からの最大で 10 個 (例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 個) のアミノ酸欠失を含む (またはそれらからなる)。一実施形態では、変異型 IL-2 サイトカインは、IL-2 サイトカイン中の他の箇所における最大で 2 個 (例えば、1 または 2 個) のアミノ酸置換と組み合わせて、N 末端配列 (例えば、目的の野生型 IL-2 配列の最初の 20 個、または最初の 15 個、または最初の 10 個のアミノ酸の中で) からの最大で 10 個 (例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 個) のアミノ酸欠失を含む (またはそれらからなる)。一実施形態では、変異型 IL-2 サイトカインは、IL-2 サイトカイン中の他の箇所における 1 個のアミノ酸置換と組み合わせて、N 末端配列 (例えば、目的の野生型 IL-2 配列の最初の 20 個、または最初の 15 個、または最初の 10 個のアミノ酸の中で) からの最大で 1

10

20

30

40

50

・目的の野生型 I L - 2 配列の最初の 2 0 個、または最初の 1 5 個、または最初の 1 0 個のアミノ酸の中で) からの最大で 7 個 (例えば、1、2、3、4、5、6、または 7 個) のアミノ酸欠失を含む (またはそれらからなる)。一実施形態では、変異型 I L - 2 サイトカインは、I L - 2 サイトカイン中の他の箇所における最大で 2 個 (例えば、1 または 2 個) のアミノ酸置換と組み合わせて、N 末端配列 (例えば、目的の野生型 I L - 2 配列の最初の 2 0 個、または最初の 1 5 個、または最初の 1 0 個のアミノ酸の中で) からの最大で 7 個 (例えば、1、2、3、4、5、6、または 7 個) のアミノ酸欠失を含む (またはそれらからなる)。一実施形態では、変異型 I L - 2 サイトカインは、I L - 2 サイトカイン中の他の箇所における 1 個のアミノ酸置換と組み合わせて、N 末端配列 (例えば、目的の野生型 I L - 2 配列の最初の 2 0 個、または最初の 1 5 個、または最初の 1 0 個のアミノ酸の中で) からの最大で 7 個 (例えば、1、2、3、4、5、6、または 7 個) のアミノ酸欠失を含む (またはそれらからなる)。

【 0 6 1 5 】

一実施形態では、変異型IL-2サイトカインは、IL-2サイトカイン中の他の箇所における最大で4個（例えば、1、2、3、または4個）のアミノ酸置換と組み合わせて、N末端配列（例えば、目的の野生型IL-2配列の最初の20個、または最初の15個、または最初の10個のアミノ酸の中で）からの最大で6個（例えば、1、2、3、4、5、または6個）のアミノ酸欠失を含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、変異型IL-2サイトカインは、IL-2サイトカイン中の他の箇所における最大で3個（例えば、1、2、または3個）のアミノ酸置換と組み合わせて、N末端配列（例えば、目的の野生型IL-2配列の最初の20個、または最初の15個、または最初の10個のアミノ酸の中で）からの最大で6個（例えば、1、2、3、4、5、または6個）のアミノ酸欠失を含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、変異型IL-2サイトカインは、IL-2サイトカイン中の他の箇所における最大で2個（例えば、1または2個）のアミノ酸置換と組み合わせて、N末端配列（例えば、目的の野生型IL-2配列の最初の20個、または最初の15個、または最初の10個のアミノ酸の中で）からの最大で6個（例えば、1、2、3、4、5、または6個）のアミノ酸欠失を含む（またはそれらからなる）。

【 0 6 1 6 】

一実施形態では、変異型 I L-2 サイトカインは、I L-2 サイトカイン中の他の箇所における最大で 4 個（例えば、1、2、3、または 4 個）のアミノ酸置換と組み合わせて、N 末端配列（例えば、目的の野生型 I L-2 配列の最初の 20 個、または最初の 15 個、または最初の 10 個のアミノ酸の中で）からの最大で 5 個（例えば、1、2、3、4、または 5 個）のアミノ酸欠失を含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、変異型 I L-2 サイトカインは、I L-2 サイトカイン中の他の箇所における最大で 4 個（例えば、1、2、3、または 4 個）のアミノ酸置換と組み合わせて、N 末端配列（例えば、目的の野生型 I L-2 配列の最初の 20 個、または最初の 15 個、または最初の 10 個のアミノ酸の中で）からの最大で 5 個（例えば、1、2、3、4、または 5 個）のアミノ酸欠失を含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、変異型 I L-2 サイトカインは、I L-2 サイトカイン中の他の箇所における最大で 4 個（例えば、1、2、3、または 4 個）のアミノ酸置換と組み合わせて、N 末端配列（例えば、目的の野生型 I L-2 配列の最初の 20 個、または最初の 15 個、または最初の 10 個のアミノ酸の中で）からの最大で 5 個（例えば、1、2、3、4、または 5 個）のアミノ酸欠失を含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、変異型 I L-2 サイトカインは、I L-2 サイトカイン中の他の箇所における 1 個のアミノ酸置換と組み合わせて、N 末端配列（例えば、目的の野生型 I L-2 配列の最初の 20 個、または最初の 15 個、または最初の 10 個のアミノ酸の中で）からの最大で 6 個（例えば、1、2、3、4、5、または 6 個）のアミノ酸欠失を含む（またはそれらからなる）。

【 0 6 1 7 】

一実施形態では、変異型 IL-2 サイトカインは、IL-2 サイトカイン中の他の箇所

イトカインは、IL-2 サイトカイン中の他の箇所における1個のアミノ酸置換と組み合わせ、N末端配列（例えば、目的の野生型IL-2配列の最初の20個、または最初の15個、または最初の10個のアミノ酸の中で）からの1または2個のアミノ酸欠失を含む（またはそれらからなる）。

【0620】

IL-2 サイトカイン中の他の箇所における置換は、本明細書の以下の態様44にさらに定義される。

【0621】

特定のIL-2 サイトカインおよび変異型IL-2 サイトカインは、本明細書の以下の態様40～45にさらに定義される。

【0622】

ヒトIL-2の α 鎖のアミノ酸配列は、配列番号327に提供される。ヒトIL-2の β 鎖のアミノ酸配列は、配列番号328に提供される。ヒトIL-2の γ 鎖のアミノ酸配列は、配列番号239に提供される。

【0623】

本明細書の態様または概念のいずれにおいても、免疫サイトカインまたは抗PD-L1抗体もしくは断片は、少なくとも4時間、5時間、6時間、7時間、または8時間の半減期を有し得る。別の実施形態では、本明細書に提供される免疫サイトカインまたは抗PD-L1抗体もしくは断片の半減期は、少なくとも9時間、または少なくとも10時間、または少なくとも11時間、または少なくとも12時間である。別の実施形態では、本明細書に提供される免疫サイトカインまたは抗PD-L1抗体もしくは断片の半減期は、少なくとも13時間、または少なくとも14時間、または少なくとも15時間、または少なくとも16時間である。別の実施形態では、本明細書に提供される免疫サイトカインまたは抗PD-L1抗体もしくは断片の半減期は、少なくとも17時間、または少なくとも18時間、または少なくとも19時間、または少なくとも20時間である。別の実施形態では、本明細書に提供される免疫サイトカインまたは抗PD-L1抗体もしくは断片の半減期は、少なくとも21時間、または少なくとも22時間、または少なくとも23時間、または少なくとも24時間である。別の実施形態では、本明細書に提供される免疫サイトカインまたは抗PD-L1抗体もしくは断片の半減期は、少なくとも25時間、または少なくとも26時間、または少なくとも27時間、または少なくとも30時間である。別の実施形態では、本明細書に提供される免疫サイトカインまたは抗PD-L1抗体もしくは断片の半減期は、少なくとも32時間、または少なくとも34時間、または少なくとも36時間、または少なくとも40時間である。一実施形態では、半減期は、マウスモデル（例えば、ヒトPD-L1ノックインマウス、例えば、本明細書の以下の実施例22に記載される通り、またはヒトT細胞を異種移植した免疫無防備マウス）において判定される。別の実施形態では、半減期は、カニクイザルにおける単回用量研究で判定される（例えば、本明細書の以下の実施例18または実施例23に記載される通り）。別の実施形態では、半減期は、カニクイザルにおける拡張単回用量研究で判定される（例えば、本明細書の以下の実施例19または実施例26に記載される通り）。

【0624】

態様1a. 免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む免疫サイトカインであって、重鎖が、N末端からC末端方向に、

- a) CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含むV_Hドメインと、
- b) 重鎖定常領域と、を含み、

軽鎖が、N末端からC末端方向に、

- c) CDR L1、CDR L2、およびCDR L3を含むV_Lドメインと、
- d) 軽鎖定常領域（C_L）と、
- e) 任意に、リンカー（L）と、
- f) IL-2 サイトカインと、を含み、

V_HドメインおよびV_Lドメインが、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、PD-1

10

20

30

40

50

、CTLA-4、TIGIT、TIM-3、LAG-3、およびVISTA、例えば、TIGIT、TIM-3、およびLAG-3）、免疫調節剤（例えば、BTLA、hHVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、CXCL11、およびCD155、例えば、GARP、SIRPα、CXCR4、BTLA、hHVEM、およびCSF1R）、ならびに免疫賦活剤（例えば、CD137、GITR、OX40、CD40、CXCR3（例えば、CXCR3に対するアゴニスティック活性）、CD27、CD3、およびICOS（例えば、ICOSに対するアゴニスティック活性）、例えば、ICOS、CD137、GITR、およびOX40）から選択される抗原に特異的に結合する抗原結合部位によって構成されている、免疫サイトカイン。

10

【0625】

別の実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、PD-1、CTLA-4、TIGIT、TIM-3、LAG-3、およびVISTA、例えば、TIGIT、TIM-3、およびLAG-3）、免疫調節剤（例えば、BTLA、hHVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、およびCD155、例えば、GARP、SIRPα、CXCR4、BTLA、hHVEM、およびCSF1R）、ならびに免疫賦活剤（例えば、CD137、GITR、OX40、CD40、CXCR3（例えば、CXCR3に対するアゴニスティック活性）、CD3、およびICOS（例えば、ICOSに対するアゴニスティック活性）、例えば、ICOS、CD137、GITR、およびOX40）から選択される抗原に特異的に結合する抗原結合部位。

20

【0626】

態様1の実施形態はいずれも、態様1aについて準用する。態様2～54の特徴または実施形態はいずれも、態様1aについて準用する。抗体の特徴または概念1～70の他の実施形態もしくは特徴はいずれも、態様1aについて準用する。

【0627】

一実施形態では、抗原結合部位は、PD-L1、例えばhPD-L1に特異的に結合する。一実施形態では、PD-L1抗原結合部位は、アテゾリズマブ／MPDL3280A（Roche）、アベルマブ／MSB0010718C（Merck）、BMS-936559／MDX-1105（BMS）、デュルバルマブ／Medi4736（Medimmune）、KN-035、CA-170、FAZ-053 M7824、ABBV-368、LY-3300054、GNS-1480、YW243.55.S70、REGN3504、およびWO2017／034916、WO2017／020291、WO2017／020858、WO2017／020801、WO2016／111645、WO2016／050721、WO2016／197367、WO2016／061142、WO2016／149201、WO2016／000619、WO2016／160792、WO2016／022630、WO2016／007235、WO2015／179654、WO2015／173267、WO2015／181342、WO2015／109124、WO2015／195163、WO2015／112805、WO2015／061668、WO2014／159562、WO2014／165082、WO2014／100079、WO2014／055897、WO2013／181634、WO2013／173223、WO2013／079174、WO2012／145493、WO2011／066389、WO2010／077634、WO2010／036959、WO2010／089411、またはWO2007／005874に開示されるPD-L1抗体（これらの抗体および配列は、参照により本明細書に組み込まれる）のいずれかから選択される抗PD-L1抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含む。

30

40

【0628】

一実施形態では、抗原結合部位は、ICOS、例えばhICOSに特異的に結合する。

50

一実施形態では、抗原結合部位は、ICOS、例えばhICOSに特異的に結合し、ICOS、例えばhICOSに対するアゴニストである。一実施形態では、抗原結合部位は、ICOS、例えばhICOSに特異的に結合し、ICOS、例えばhICOSに対するアンタゴニストである。一実施形態では、ICOS抗原結合部位は、本明細書の以下の構成5および構成5aに記載される抗ICOS抗体のうちのいずれか1つ、ならびに文1～102および文1a～21aに記載される抗ICOS抗体のいずれかからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含む。

【0629】

以下の実施形態のいずれにおいても、特定の抗原結合部位は、ヒト標的に特異的に結合する。一実施形態では、抗原結合部位は、免疫チェックポイント阻害剤に特異的に結合する。一実施形態では、抗原結合部位は、PD-1、CTLA-4、TIGIT、TIM-3、LAG-3、およびVISTAから選択される免疫チェックポイント阻害剤に特異的に結合する。一実施形態では、抗原結合部位は、TIGIT、CTLA-4、TIM-3、およびLAG-3から選択される免疫チェックポイント阻害剤に特異的に結合する。

【0630】

一実施形態では、抗原結合部位は、PD-1、例えばヒトPD-1に特異的に結合する。一実施形態では、PD-1抗原結合部位は、ペンブロリズマブ（Keytruda（登録商標）／MK-3475）、ニボルマブ（Opdivo（登録商標）／BMS-936558／MDX-1106）、MEDI-0680／AMP514、PDR001、ラン
 ブロリズマブ、BMS-936558、REGN2810、BGB-A317、BGB-
 108、PDR-001、SHR-1210、JS-001、JNJ-63723283、
 AGEN-2034、PF-06801591、ゲノリムズマブ（genolimzumab）、MGA-012、IBI-308、BCD-100、TSR-042 ANA
 011、AUNP-12、KD033、MCLA-134、mDX400、muDX40
 0、STI-A1110、AB011、244C8、388D4、XCE853、もしくは
 ピディリズマブ／CT-011、またはWO2015／112800およびUS201
 5／0203579（表1～3中の抗体を含む）、US9,394,365、US5,8
 97,862、およびUS7,488,802、WO2017／087599（抗体SS
 I-361およびSHB-617を含む）、WO2017／079112、WO2017
 ／071625（寄託C2015132、ハイブリドーマLT004、および抗体6F5
 ／6F5（Re）、6F5H1 L1および6F5 H2L2を含む）、WO2017／
 058859（PD1AB-1～PD1AB-6を含む）、WO2017／058115
 （67D9、c67D9、およびhu67D9を含む）、WO2017／055547（
 12819.15384、12748.15381、12748.16124、1286
 5.15377、12892.15378、12796.15376、12777.15
 382、12760.15375、および13112.15380を含む）、WO201
 7／040790（AGEN2033w、AGEN2034w、AGEN2046w、A
 GEN2047w、AGEN2001w、およびAGEN2002wを含む）、WO20
 17／025051およびWO2017／024515（1.7.3 hAb、1.49
 .9 hAb、1.103.11 hAb、1.103.11-v2 hAb、1.139
 .15 hAb、および1.153.7 hAbを含む）、WO2017／025016お
 よびWO2017／024465（抗体A～抗体Iを含む）、WO2017／02085
 8およびWO2017／020291（1.4.1、1.14.4、1.20.15、お
 よび1.46.11を含む）、WO2017／019896、およびWO2015／11
 2900、およびUS2015／0210769（BAP049-hum01～BAP0
 49-hum16およびBAP049-Clone-A～BAP049-Clone-E
 を含む）、WO2017／019846（PD-1 mAb 1～PD-1 mAb 15
 を含む）、WO2017／016497（MHC723、MHC724、MHC725、
 MHC728、MHC729、m136-M13、m136-M19、m245-M3、

10

20

30

40

50

m245-M5、およびm136-M14を含む)、WO2016/201051(抗体EH12、2H7、抗体hPD-1 mAb2、抗体hPD-1 mAb7、抗体hPD-1 mAb9、抗体hPD-1 mAb15、または表1から選択される抗PD-1抗体を含む)、WO2016/197497(DFPD1-1~DFPD1-13を含む)、WO2016/197367(2.74.15および2.74.15.hAb4~2.74.15.hAb8を含む)、WO2016/196173(表5および図1~5中の抗体を含む)、WO2016/127179(R3A1、R3A2、R4B3、およびR3D6を含む)、WO2016/077397(実施例9の表1に記載される抗体を含む)、WO2016/106159(実施例2の表3中のマウス抗体、および実施例3の表7、8、および9中のヒト化抗体を含む)、WO2016/092419(C1、C2、C3、EH12.1、mAb7-G4、mAb15-G4、mAb-AAA、mAb15-AAAを含む)、WO2016/068801(クローンA3およびその変異型、ならびに図1~4に記載される他の抗体を含む)、WO2016/014688(10D1、4C10、7D3、13F1、15H5、14A6、22A5、6E1、5A8、7A4、および7A4D、ならびに実施例9/10のヒト化抗体を含む)、WO2016/015685(10F8、BA08-1、BA-08-2、および15H6を含む)、WO2015/091911およびWO2015/091910(実施例2、3、および4中の抗イヌPD-1抗体を含む)、WO2015/091914(表3中の抗イヌPD-1抗体を含む)、WO2015/085847(mAb005、H005-1~H005-4を含む)、WO2015/058573(cAB7を含む)、WO2015/036394(LOPD180を含む)、WO2015/035606(実施例2の表1、実施例7の表14、15、および16、ならびに実施例11の表20、21、および22の抗体を含む)、WO2014/194302(GA2、RG1B3、RG1H10、RG2A7、RG2H10、SH-A4、RG4A6、GA1、GB1、GB6、GH1、A2、C7、H7、SH-A4、SH-A9、RG1H11、およびRG6Bを含む)、WO2014/179664(9A2、10B11、6E9、APE1922、APE1923、APE1924、APE1950、APE1963、およびAPE2058を含む)、WO2014/206107(クローン1、10、11、55、64、38、39、41、および48を含む)、WO2012/135408(h409A11、h409A16、およびh409A17を含む)、WO2012/145493(抗体1E3、1E8、1H3、およびh1H3 Var 1~h1H3 Var 14を含む)、WO2011/110621(抗体949および図1~11に開示される修飾バージョンを含む)、WO2011/110604(抗体948および図3~11に開示される修飾バージョンを含む)、WO2010/089411(CNCM寄託番号1-4122、1-4080、または1-4081を含む)、WO2010/036959(実施例1の表1中の抗体を含む)、WO2010/029435およびWO2010/029434(クローン2、10、および19を含む)、WO2008/156712(hPD-1.08A、hPD-1.09A、h409A11、h409A16、およびh409A17、ならびに実施例2、表H、実施例4、および表IVに記載される抗体を含む)、WO2006/121168(クローン17D8、4H1、5C4、4A11、7D3、5F4、および2D3を含む)、WO2004/004771またはWO2004/056875(PD1-17、PD1-28、PD1-33、PD1-35、PD1-F2、および表1に記載されるAbを含む)に記載される抗PD-1抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗PD-1抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0631】

一実施形態では、抗原結合部位は、CTLA-4、例えば、hCTLA-4に特異的に結合する。一実施形態では、CTLA-4抗原結合部位は、イピリムマブ(MDX-010、CAS番号477202-00-9)、トレメリムマブ(チシリムマブ/CP-67

10

20

30

40

50

5, 206)、抗体クローン2F1、クローン1F4 (Abnova Corporation)、クローン9H10 (EMD Millipore)、クローンBNU3 (GeneTex)、クローン1E2、クローンAS32 (Lifespan Biosciences)、クローンA3.4H2.H12 (Acris Antibodies)、クローン060 (Sino Biological)、クローンBU5G3 (Creative Diagnostics)、クローンMIH8 (MBL International)、クローンA3.6B10.G1、もしくはクローンL3D10 (BioLegend)、またはWO2017/087588 (図2に開示されるISV)、WO2017/084078 (クローンC2、C4、C10、C11、C12、およびC13、ならびに図4~7)、WO2016/196237 (AGEN1884w、AGEN2041w、図19A、19B、および表1~6中の配列を含む)、WO2016/130986およびWO2016/130898 (E8、F7、および表4に記載されるAbを含む)、WO2016/015675 (ハイブリドーマLT001、ならびに抗体8D2、8D2H1L1、8D2H2L2、8D2H3L3、8D2H2L15、および8D2H2L17を含む)、WO2012/120125 (3B10、8H5、および実施例1、2、3、および5において同定されるAbを含む)、WO2010/097597 (JMW-3B3、ならびに開示される変異型および断片を含む)、WO2009/100140 (10D1、1H5、3A4、6C10、および図1~6に記載される抗体を含む)、WO2007/008463およびWO2006/101692およびWO2006/101691およびWO2006/048749およびWO2005/09238 (4.1.1、4.8.1、4.10.2、4.13.1、4.14.3、6.1.1、11.2.1、11.6.1、11.7.1、12.3.1.1、12.9.1.1、および10D1を含む)、WO2006/096491 (ATCC寄託番号11.2.1 11.2.1.4 PTA-5169および4.1.1 4.1.1.1 PTA-5166を含む)、WO2006/066568 (TGN2122.C、TGN2422.C、4.8H10H5、および4.3F6B5、ならびに表3~14に記載される抗体を含む)、WO2006/029219 (L3D10、L1B11、K4G4、KM10、およびYL2を含む)、WO2004/029069 (ATCC寄託番号PTA-4537を含む)、WO01/54732 (抗体25、26、27、29、33、34、35、36、および38を含む)、WO01/14424 (3A4、9A5、2E2、2E7、4B6、4E10、5C4、5G1、11E8、および11G1、ならびに実施例3および4および表3において同定される抗体を含む)、ならびにWO00/37504 (3.1.1、4.1.1、4.8.1、4.10.2、4.13.1、4.14.3、6.1.1、11.2.1、11.6.1、11.7.1、12.3.1.1、および12.9.1.1を含む)に記載される抗CTLA-4抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗CTLA-4抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0632】

一実施形態では、抗原結合部位は、TIGIT、例えば、ヒトTIGITに特異的に結合する。一実施形態では、TIGIT抗原結合部位は、RG-6058 (MTIG-7192A)、またはWO2017/053748 (1A4、1D3、4A3、10A7、4.1D3.Q1E、h10A7.K4G3、4.1D3、ならびに実施例1および2に開示される他の抗体を含む)、WO2017/037707 (VSIG9#1および258-csl#4を含む)、WO2017/030823 (14D7、26B10、および実施例3中のヒト化バージョンを含む)、WO2016/191643 (313R11、313R12、313R14、313R19、313R20、ATCC PTA-122180、およびATCC PTA-122181を含む)、WO2016/106302 (14B2、13E6、6F9、11G11、10C9、16F6、11C9、27A9、10D7、20G6、24E8、24G1、27F1、15A6、4E4、13D1、9

10

20

30

40

50

B11、10B8、22G2、19H2、8C8、17G4、25E7、26D8、および16A8を含む)、WO2016/028656(14A6、28H5、または31C6、および実施例6からのヒト化バージョンを含む)、およびWO2009/126688(US2013/0251720、10A7および1F4を含む)に記載される抗TIGIT抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗TIGIT抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0633】

一実施形態では、抗原結合部位はTIM-3、例えばヒトTIM-3に特異的に結合する。一実施形態では、TIM-3抗原結合部位は、F38-2E2(BioLegend)、クローン2E2(Merck Millipore)、クローン6B6E2、クローン024(Sino Biological)、クローン344801(R&D Systems)、クローンE-18、クローンH-191(Santa Cruz Biotechnology)、もしくはクローン13A224(United States Biological)、TSR-022(Tesaro)から、またはWO2017/079115(表30~38に列挙される抗TIM3抗体を含む)、WO2017/055404(PD1TIM3-0389、PD1TIM3-0168、PD1TIM3-0166、TIM3-0038、TIM3-0018、TIM3-0028、TIM3-0438を含む-表C)、WO2017/031242(表10)、WO2016/179194(mAb F38-2E2および2E2を含む、図1b中の抗体を含む)、WO2016/171722(344823、ならびにハイブリドーマ7D11、10G12、11G8、8B.2C12、および25F.1D6からの抗体を含む)、WO2016/161270(APE5137およびAPE5121を含む)、WO2016/111947(mAb5、mAb13、mAb15、mAb17、mAb21、mAb22、mAb26、mAb27、mAb48、mAb58、およびmAb91を含む)、WO2016/071448(TIM3-0016、TIM3-0018、TIM3-0021、TIM3-0022、TIM3-0026、TIM3-0028、TIM3-0030、TIM3-0033、TIM3-0038、TIM3-0433、TIM3-0434、TIM3-0438、およびTIM3-0443を含む)、WO2016/068802(1B9、1H9、1H10、2C7、2F4、2G6、1D9、1F4、および2C8を含む-図1、2、および3)、WO2016/068803(A3、B10、G6、G7、G9、A11、およびA11__glを含む-図1、2、および3)、WO2015/117002(ABTIM3、ABTIM3-hum02、ABTIM3-hum05、ABTIM3-hum06、ABTIM3-hum09、ABTIM3-hum10、ABTIM3-hum12、ABTIM-hum01、ABTIM-hum04、ABTIM3-hum07、ABTIM3-hum08、ABTIM3-hum04、ABTIM3-hum21、ABTIM3-hum03、ABTIM3-hum11、および表9に列挙される抗体を含む)、WO2015/048312(5D12を含む)、WO2014/022332(2C12を含む)、WO2013/006490(表1中の抗体を含む)、WO2011/155607(512、644、4545、4177、8213、344823、および34823を含む)、WO2003/063792(抗体8B.2C12および25F.1D6を含む)、WO2017/019897(ABTIM3、ABTIM3-hum20、ABTIM3-hum22、およびABTIM3-hum23を含む、表1~4に開示される抗体分子を含む)、WO2016/079050およびWO2016/079050(Tim3__0022、Tim3__0016、Tim3__0018、Tim3__00122、Tim3__0022、Tim3__0021、Tim3__0028、Tim3__0026、Tim3__0033、Tim3__0038、Tim3__0030、1.7.E10、F38-2EL、および27-12E12表1~4に開示される抗体分子を含む)に記載される抗TIM-3抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L

10

20

30

40

50

、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗TIM-3抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0634】

一実施形態では、抗原結合部位は、LAG-3、例えば、ヒトLAG-3に特異的に結合する。一実施形態では、LAG-3抗原結合部位は、抗体クローン17B4 (Enzo Life Sciences)、もしくはクローン333210 (R&D Systems)、もしくはクローン14L676 (United States Biological)、もしくはC9B7W (PharMingen)、もしくは11E、もしくはIMO321、もしくはmAb C9B7W (BioXcell) から、またはWO95/30750、WO2004/078928、WO2008/132601 (IMP731 Lag-3 Ab、IMP321、A9H12 Lag-3 mAb、および31G11を含む)、WO2010/019570 (25F7、26H10、25E3、8B7、11F2、および17E5を含む)、WO2014/140180 (H5L7、H5L7BW、IMP731、ならびに表3および表7中の抗体を含む)、WO2014/179664 (APE03109を含む)、WO2014/008218 (Lag3. 1、Lag3. 5、Lag3. 6、Lag3. 7、およびLag3. 8を含む)、WO2015/042246、WO2015/116539 (BMS-986016を含む)、WO2015/138920 (BAP050-hum01~BAP050-hum20、huBAP050 (Ser)、BAP050-hum01-Ser~BAP050-hum20-Ser、BAP050-Clone-F、BAP050-Clone-G、BAP050-Clone-H、BAP050-Clone-I、BAP050-Clone-J、BAP050、およびBAP050-chiを含む)、WO2015/198312、WO2016/028672 (Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7、Ab8、およびAb9を含む)、WO2016/126858、WO2016/200782 (LAG-3 mAb1~LAG-3 mAb6を含む)、WO2017/015560 (L32D10、L3E3、L3C5、L35D4、L35G6、L33H11、L32A9、L32A4、L3A1、および表3に列挙される抗体を含む)、WO2017/062888 (mAb1、H4H15477P、H4H15483P、H4H15484P、H4H15491、H4H17823P、H4H17826P2、H4H17828P2、H4sH15460P、H4sH15462P、H4sH15463P、H4sH15464P、H4sH15466P、H4sH15467P、H4sH15470P、H4sH15475P、H4sH15479P、H4sH15480P、H4sH15482P、H4sH15488P、H4sH15496P2、H4sH15498P2、H4sH15505P2、H4sH15518P2、H4sH15523P2、H4sH15530P2、H4sH15555P2、H4sH15558P2、H4sH15567P2、およびH4H17819Pを含む)、WO2017/019894、WO2017/037203 (8E2、13E2、34F4、17B4、およびIMP761を含む)、WO2017/087589 (11B09を含む)、もしくはWO2017/087901に記載される抗LAG-3抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗LAG-3抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0635】

一実施形態では、抗原結合部位は、VISTA、例えば、ヒトVISTAに特異的に結合する。一実施形態では、VISTA抗原結合部位は、WO2016/207717およびWO2015/097536 (VSTB50、VSTB53、VSTB60、VSTB95、VSTB112、VSTB116、VSTB174、VSTB175、VSTB149、VSTB140、ならびに表1A および実施例7および8における抗体を含む)、ならびにWO2014/190356 (クローン2D3および18C3を含む) に記載される抗VISTA抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、C

10

20

30

40

50

CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗VISTA抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0636】

一実施形態では、抗原結合部位は、免疫チェックポイント調節剤に特異的に結合する。一実施形態では、抗原結合部位は、BTLA、hHVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、CXCL11、およびCD155から、またはBTLA、hHVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、およびCD155から選択される免疫調節剤に特異的に結合する。一実施形態では、抗原結合部位は、GARP、SIRPα、CXCR4、BTLA、hVEM、およびCSF1Rから選択される免疫調節剤に特異的に結合する。

【0637】

一実施形態において、抗原結合部位は、GARP、例えば、ヒトGARPに特異的に結合する。一実施形態では、抗原結合部位は、G14D9、Plato-1、272、G6、50 G10、もしくは7B11から、またはWO2007/113301およびWO2015/015003 (MHGARP8、LHG-10、LHG-10-D、LHG-10.3-D、LHG-10.4-D、LHG-10.5-D、LHG-10.6-D、LHG-10.3、LHG-10.4、LHG-10.5、LHG-10.6、27E10、MHGARP1、MHGARP2、MHGARP3、MHGARP4、MHGARP5、MHGARP6、MHGARP7、およびMHGARP9を含む)、WO2017/051888 (110F、105F、c151D、c198D、h198D、h151D、h151D-H1L1、およびh198D-H3L4を含む)に記載される抗GARP抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗GARP抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0638】

一実施形態では、抗原結合部位は、SIRPα、例えば、ヒトSIRPαに特異的に結合する。一実施形態では、抗原結合部位は、ED9 (ThermoFisher) もしくは602411 (Novus Biologicals) から、またはWO97/48723、WO00/24869 (10C4を含む)、WO00/66159 (ED9およびED17を含む)、WO01/40307、WO02/092784 (SE5A5、SE7C2、およびSE12C3を含む)、WO2004/108923 (SE12C3および2F34を含む)、WO2009/046541 (P84を含む)、WO2011/076781、WO2012/172521、WO2012/040207 (SE5A5およびマウスP84を含む)、WO2013/056352 (29-AM4-5、Ab AM4-5、AM5-1、AM5-3、AM5-5、AM5-6、SIRPalphA-M3-35、AM4-1、SIRP29-AM3-35、SIRP29-AM4-5、SIRP29-AM4-1、29-AM2-2、29-AM4-4、29-AM4-1、29-AM4-5、29-AM3-35、およびSIRP29-AM3-63を含む)、WO2016/063233、WO2016/205042 (P362を含む)、もしくはWO2015/138600 (KWAR23を含む)に記載される抗SIRPα抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗SIRPα抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0639】

一実施形態では、抗原結合部位は、CXCR4、例えば、ヒトCXCR4に特異的に結合する。一実施形態では、抗原結合部位は、ウロクブルマブ (ulocuplumab) /BMS-936564、クローン44717.111もしくはPF-06747143

10

20

30

40

50

、またはWO97/49424 (MAB12G5を含む)、WO99/50461、WO01/42308、WO03/066830およびWO2003/066830 (Ab124およびAb125を含む)、WO2004/059285 (ALX40-4Cを含む)、WO2006/089141 (mAb 2N、6R、18、19、20、33、および48を含む)、WO2007/005605、WO2008/142303 (MAB170、MAB171、MAB173、およびMAB172を含む)、WO2008/060367およびWO2013/071068およびWO2015/015401 (BMS-936564/MDX-1338を含む)、WO2009/140124 (抗体I、II、III、IV、およびVを含む)、WO2009/117706 (701、708、716、717、718、および4G10を含む)、WO2011/161266 (4CXCRCR100、4CXCRCR103、4CXCRCR104、4CXCRCR101、4CXCRCR238D2、および4CXCRCR238D4を含む)、WO2011/098762 (C-9P21 (表1)、B-1M22 (表2)、C1124 (表3)、D-1K21 (表4)、および9N10 (表5)を含む)、WO2012/175576、WO2013/013025 (2A4、6C7、4C1、7C8、5C9、および5E1を含む)、WO2013/017566 (Mab 427aB1および515H7を含む)、WO2013/017562 (1-3859 Mabおよび515H7を含む)、WO2015/069874 (配列番号25および29に対応する抗体を含む)、WO2015/015401 (12A11、6B6、3G10、m3G10、hlgG1、m3G10、hlgG4、h3G10、A57、hlgG1、h3G10、A57、A58A、hlgG1、h3G10、1.91、A58A、hlgG1、h3G10、1.91、A58B、hlgG1、およびh3G10、2.37、2.72、hlgG1)、WO2016/156570 (281F12、281A6、および281D4)、WO2016/109872 (表1、2、9、および12に列挙される抗体、M3-114-6H、AM4-272-6H、AM3-523-6H、AM4-272、AM3-114、AM3-523、AM4-746、およびAM4-1121を含む)、WO2017/071625、WO2012/175576、WO2010/125162およびWO2012/055980およびWO2011/121040およびWO2010/037831 (c414H5 (414H5)、c515H7 (515H7)、および301aE5を含む)、WO2009/138519 (ALX40-4C、238D2、238D4、237B5抗体、ならびに表1、表1.1、表A-I、表B-1.1およびB-5に列挙される配列を含む)、WO2011/042398 (238D2および238D4を含む)、WO2011/083140 (表C-2、C-3、C-4、およびC-5、図2に開示されるもの、ならびにALX-0651、15H3、10E12、10G10、238B6、10E9、281E10、10A10、14A2、および15A1を含む)、もしくはWO2011/083141に記載される抗CXCRCR4抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗CXCRCR4抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0640】

一実施形態では、抗原結合部位は、BT LA、例えば、hBT LAに特異的に結合する。一実施形態では、BT LA抗原結合部位は、抗体クローン1B7、クローン2G8、クローン4C5 (Abnova Corporation)、クローン4B8 (antibodies-online)、クローンMIH26 (Thermo Scientific Pierce Antibodies)、クローンUMAB61 (OriGene Technologies)、クローン330104 (R&D Systems)、クローン1B4 (Lifespan Biosciences)、クローン440205、クローン5E7 (Creative Diagnostics)、またはWO2016/176583 (クローン6F4を含む)、WO2011/014438 (8D5、8A3、20H4、21H6、15C5、19A7、および4C7を含む)、WO2010/10605

10

20

30

40

50

1 (CNCM 寄託番号 1-4123 を含む)、ならびに WO2008/076560 (実施例に 2 に詳述される 1B4、E4H9、3C2、3C2a、6A5、11E2、E8D9、10H6、および 4C9 を含む) に記載される抗 BTLA 抗体のいずれか 1 つからの CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、および CDRL3、または V_H、もしくは V_L、もしくは V_H および V_L 領域を含み、抗 BTLA 抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0641】

一実施形態では、抗原結合部位は、hVEM、例えばヒト hVEM に特異的に結合する。一実施形態では、HVEM 抗原結合部位は、WO2008/083169 (LBH1 を含む) に記載される抗 HVEM 抗体のいずれか 1 つからの CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、および CDRL3、または V_H、もしくは V_L、もしくは V_H および V_L 領域を含み、抗 HVEM 抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0642】

一実施形態では、抗原結合部位は、CSF1R に特異的に結合する。一実施形態では、CSF1R 抗原結合部位は、WO2009/026303 (1.2、1.109、2.360、および 1.2.SM、ならびに図 1 および 2 中の抗体を含む)、WO2009/112245 (CXIIIG6 を含む)、WO2011/070024 (Mab 2F11、2E10、2H7、および 1G10、ならびにそれらの誘導体を含む)、WO2011/107553 (7H5、2G10/DSM ACC2922 を含む)、WO2011/123381 (抗体 1 および 抗体 2 を含む)、WO2011/131407 (7G5、3B6/DSM ACC2921 を含む)、WO2011/140249 (0301、0302、および 0311、それらの誘導体、ならびに表 2、3、および 5 中の抗体を含む)、WO2013/169264 および WO2014/036357 および WO2016/106180 および WO2016/168149 (huAb1~huAb16 を含む)、WO2012/110360 および WO2013/057281 (CXIIIG6、H19K12、H27K5、および H27K15、ならびに表 1 および 2 のヒト化抗体を含む)、WO2013/087699 (9D11、2E8 および 10H2、2F12 を含む)、WO2014/072441 (H27K15 を含む)、WO2014/173814 および WO2013/132044 (Mab 2F11、Mab 2E10、Mab 2H7、Mab 1G10、および sc2-4A5、ならびに表 3 および 3b 中の抗体を含む)、WO2015/028455 および WO2015/028454 (Ab535、Ab969、および誘導体、例えば Ab969.g2 を含む)、WO2015/036511 および WO2016/207312 (2F11、2E10、および実施例 33 に記載される誘導体を含む)、ならびに WO2017/049038 (ALM-423 および表 2 に列挙される抗体を含む) に記載される抗 CSF1R 抗体のいずれか 1 つからの CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、および CDRL3、または V_H、もしくは V_L、もしくは V_H および V_L 領域を含み、抗 CSF1R 抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0643】

一実施形態では、抗原結合部位は CD39、例えば、ヒト CD39 に特異的に結合する。一実施形態では、CD39 抗原結合部位は、BY40、BY12、BA54g (BioLegend)、BU61 (Santa Cruz Biotech)、A1 (Ebiosciences)、AC2 (Immunotech)、22A9 (Abcam)、24DMS1 から、または WO96/32471、WO00/04041、WO01/10205 (CD39L4 を含む)、WO2009/09547 (CNCM-I-3889/BY40 を含む)、WO2014/169255、WO2012/085132 (抗体 VY12、BY40、および BA54g を含む)、WO2016/073845 (R29-5-13A、R29-5-71A、R29-5-165C、および R29-9-8B を含む)、WO2017/089334 (1-391、1-392、およびハイブリドーマ I-3

10

20

30

40

50

889およびCNCMI-41171から産生された抗体を含む)、ならびにWO2009/095478に記載される抗CD39抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗CD39抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0644】

一実施形態では、抗原結合部位は、CD40、例えばヒトCD40に特異的に結合する。一実施形態では、CD40抗原結合部位は、BMS3h-56-269、CP-870、893、ダセツズマブ、SEA-CD40、ADC-1013、RO7009789、およびChilob 7/4から、またはWO2017/059243、WO2017/059196、WO2017/040932、WO2017/040566、WO2017/004016、WO2017/004006、WO2016/196314、WO2016/028810、WO2016/023960、WO2016/023875、WO2015/134988、WO2015/091853、WO2014/070934、WO2014/065403、WO2014/065402、WO2014/04298、WO2013/164789、WO2013/034904、WO2012/149356、WO2012/145673、WO2012/125569、WO2012/111762、WO2012/075111、WO2012/065950、WO2012/041635、WO2011/123489、WO2010/123012、WO2010/104761、WO2010/121231、WO2009/062125、WO2010/104747、WO2010/104748、WO2010/104749、WO2010/024676、WO2009/094391、WO2009/062054、WO2008/091954、WO2007/130493、WO2007/129895、WO2007/124299、WO2007/053767、WO2007/053661、WO2006/128103、WO2006/073443、WO2005/063981、WO2005/063289 (US2012/0263732)、WO2005/044855、WO2005/044306、WO2005/044294、WO2005/044307、WO2005/044304、WO2005/044854、WO2005/044305、WO03/040170 (US7,563,442B、US7,618,633B、US7,338,660B、US7,288,251B、US7,626,012B、US8,388,971B、US2013/0024956)、WO03/029296、WO02/088186、WO01/83755、WO02/28905、WO02/28480、WO02/28481、WO02/28904、WO01/37870、WO01/16180、WO00/75348 WO99/61057、WO99/42075、WO97/31025、WO95/17202、およびWO95/09653に記載される抗CD40抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗CD40抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0645】

一実施形態では、抗原結合部位は、CD73、例えばヒトCD73に特異的に結合する。一実施形態では、CD73抗原結合部位は、1E9 (Santa Cruz Biotechnology)、AD2、7G2、4G4から、またはWO2017/064043 (7H10、12F9、15D7、4B11、11D9、および9D2を含む)、WO2016/081748 (4C3、7A11、6E11、5F8、4C3、11F11、11A6、CD73.4-1、CD73.4-2、CD73.3、11F11-1、11F11-2、11F11、4C3-1、4C3-2、4C3-3、4D4、10D2-1、10D2-2、11A6、24H2、5F8-1、5F8-2、および5F8-3を含む)、WO2016/131950 (11E1、8C7、3C12、および6E1を含む)、WO2016/075176 (MEDI9447、クローン10.3、およびクローン

10

20

30

40

50

2 C 5を含む) および WO 2 0 1 6 / 0 7 5 0 9 9 (C D 7 3 0 0 0 4、C D 7 3 0 0 0 8、C D 7 3 0 0 0 1 1、C D 7 3 0 0 2 1、C D 7 3 0 0 4 2、C D 7 3 0 0 4 6、C D 7 3 0 0 4 7、C D 7 3 0 0 6 8、および C D 7 3 0 0 6 9を含む)、WO 2 0 1 6 / 0 5 5 6 0 9 (1 1 E 1、6 E 1、3 C 1 2、および 8 C 7を含む) に記載される抗 C D 7 3 抗体のいずれか 1 つからの C D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3、または V_H、もしくは V_L、もしくは V_H および V_L 領域を含み、抗 C D 7 3 抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 6 4 6 】

一実施形態では、抗原結合部位は C D 9 6、例えばヒト C D 9 6 に特異的に結合する。一実施形態では、C D 9 6 抗原結合部位は、6 A 6、もしくは NK 9 2 . 3 9 (E b i o s c i e n c e)、1 C 8、3 H 8、M A A 6 3 5 9 の、または WO 2 0 0 8 / 0 7 3 3 1 6、WO 2 0 0 9 / 0 0 7 1 2 4、WO 2 0 1 3 / 1 8 4 9 1 2、WO 2 0 1 4 / 0 8 9 1 6 9、WO 2 0 1 4 / 1 4 9 3 1 0 (抗体 3 . 3 を含む)、WO 2 0 1 5 / 0 2 4 0 6 0、もしくは WO 2 0 1 5 / 0 2 4 0 4 2、WO 2 0 1 5 / 0 2 4 0 6 0 (m A b 3 . 3 を含む) に記載される抗 C D 9 6 抗体のいずれか 1 つからの C D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3、または V_H、もしくは V_L、もしくは V_H および V_L 領域を含み、抗 C D 9 6 抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 6 4 7 】

一実施形態では、抗原結合部位は、C X C R 2、例えばヒト C X C R 2 に特異的に結合する。一実施形態では、C X C R 2 抗原結合部位は、WO 2 0 1 5 / 1 6 9 8 1 1 (H Y 2 9 および H Y 2 9 G L を含む)、WO 2 0 1 4 / 1 7 0 3 1 7 (C X 2 - M a b # 1 ~ # 1 9 を含む)、WO 2 0 1 2 / 0 6 2 7 1 3、WO 2 0 1 3 / 1 6 8 1 0 8 (1 6 3 D 2 - 1 2 7 D 1、1 6 3 E 3 - 1 2 7 D 1、1 6 3 E 3 - 5 4 B 1 2、1 6 3 D 2 - 5 4 B 1 2、2 B 2 - 1 6 3 E 3、2 B 2 - 1 6 3 D 2、9 7 A 9 - 2 B 2、9 7 A 9 - 5 4 B 1 2、1 2 7 D 1 - 1 6 3 D 2、1 2 7 D 1 - 1 6 3 E 3、2 B 2 - 9 7 A 9、5 4 B 1 2 - 1 6 3 D 2、5 4 B 1 2 - 1 6 3 E 3、1 6 3 D 2 - 2 B 2、1 6 3 E 3 - 2 B 2、1 2 7 D 1 - 9 7 A 9、5 4 B 1 2 - 9 7 A 9、9 7 A 9 - 1 2 7 D 1、およびそれらの誘導体を含む)、WO 2 0 0 9 / 1 1 7 7 0 6 (4 8 3 1 1 . 2 1 1、5 E 8 / C X C R 2、クローン 1 9、およびそれらの誘導体を含む)、WO 2 0 0 9 / 1 2 0 1 8 6 (R I I 1 1 5、4 8 3 1 1、およびそれらの誘導体を含む)、ならびに WO 2 0 0 2 / 2 6 2 4 9 に記載される抗 C X C R 2 抗体のいずれか 1 つからの C D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3、または V_H、もしくは V_L、もしくは V_H および V_L 領域を含み、抗 C X C R 2 抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 6 4 8 】

一実施形態では、抗原結合部位は C D 2 0 0、例えばヒト C D 2 0 0 に特異的に結合する。一実施形態では、C D 2 0 0 抗原結合部位は、D X - 1 0 9、サマリズマブ / A L X N - 6 0 0 0、T T I - 2 0 0 . 7、または WO 9 9 / 2 4 5 6 5 (M 3 B 5、ならびに実施例 4 および 5 における抗体を含む)、WO 0 2 / 1 1 7 6 2 (3 B 6 および実施例 4 および 5 における抗体を含む)、WO 2 0 0 4 / 0 6 0 2 9 5 (U S 2 0 0 4 / 0 2 1 3 7 8 3)、WO 2 0 0 4 / 0 7 8 9 3 8 (s c F v - 9 を含む)、WO 2 0 0 6 / 0 2 0 2 6 6 (U S 8、8 4 0、8 8 5 B 2、C G 1 R 3 A 1 0、c G 2 a R 3 A 1 0、c G 2 a R 3 B 7、d G 1 R 3 A 5、d G 1 R 3 B 5、および d G 1 R 3 B 1 0、ならびに図 9 A ~ 9 C、図 2 1 A、および 2 1 B に記載される抗体を含む)、WO 2 0 0 7 / 0 8 4 3 2 1 (U S 8、7 0 9、4 1 5 B 2、A L X N 5 2 0 0、h B 7 V H 3 V L 2、C 2 a B 7 G 1、C 2 a B 7 G 2 / G 4、V 3 V 2 - G 1、および V 3 V 2 - G 2 / G 4 を含む)、WO 2 0 0 9 / 0 1 4 7 4 5 (O X 9 0 m G 2 a (図 1 0)、O X 9 0 N E、および O X 9 0 N E - A G を含む)、ならびに WO 2 0 1 1 / 1 0 0 5 3 8 および U S 2 0 1 3 / 0 1 8 9 2 5 8 (抗体 1 および抗体 2 を含む) に記載される抗 C D 2 0 0 抗体のいずれか 1 つからの

10

20

30

40

50

CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗CD200抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0649】

一実施形態では、抗原結合部位は、CCR4、例えばヒトCCR4に特異的に結合する。一実施形態では、CCR4抗原結合部位は、モガムリズマブ、KM3060 (Niwa et al., 2004, Cancer Research 64, 2127-2133を参照されたい)、およびKW-0761 (Ishida et al., Annals of Oncology 2008, vol 19, supplement 4, 513を参照されたい) から、またはWO2016/178779およびWO2016/057488 (mAb2-3、1-44、1-49、2-1、および2-2を含む)、WO2015/179236 (KW-0761を含む)、WO2013/166500 (mAb1567、c1567、h1567、mAb 1-4および2-3、ならびに実施例6および13における抗体を含む)、WO2012/076883 (抗体208、306、308、406、501、503、601、603、および803を含む—表1~9)、WO2010/142952 (17G、9E、11F、9E10、9E10J、および9E1Dを含む—表1~16を参照されたい)、WO2009/086514 (mAb1567および実施例14におけるヒト化mAbを含む)、WO2005/035582 (DG44/CCR4抗体およびMs705/CCR4抗体 (FERM BP-8467) を含む)、WO2005/053741およびWO01/64754 (US6, 989, 145B、US7, 666, 418B、US8, 197, 814B、US8, 632, 996B、KM2160 (FERM BP-10090)、KM2760 (FERM寄託BP-7054) を含む)、WO2003/018635 (KM2160、KM8759 (FERM BP-8129)、およびKM8760 (FERM BP-8130) を含む、WO00/42074 (US6, 488, 930B、US7, 138, 117B、2B10、10E4、1G1、およびATCC受託番号HB-12624およびHB-12625として寄託された抗体を含む)、ならびにWO00/41724 (US6, 881, 406B、US6, 245, 332B、1G1およびATCC受託番号HB-12624下で寄託された抗体を含む) に記載される抗CCR4抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗CCR4抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0650】

一実施形態において、抗原結合部位は、CXCL9、例えばヒトCXCL9に特異的に結合する。一実施形態では、CXCL9抗原結合部位は、mAb 392-100またはAF392 (R&D Systems) からのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含む。

【0651】

一実施形態において、抗原結合部位は、CXCL10、例えばヒトCXCL10に特異的に結合する。一実施形態では、CXCL10抗原結合部位は、mAb266 (R&D systems) の、またはWO017/8708 (CR.G (IP-10) (IgG1) (PharMingen) およびIP-10 (IgG) (A. Luster) を含む、WO02/15932、WO03/006045、WO2004/082714、WO2004/045525、WO2004/045526、WO2004/101511 (表1中の抗体、ならびにAIP12、HuAIP12、MuAIP12、AIP13、HuAIP13、MuAIP13、AIP6、AIP8、AIP14、AIP18、AIP21、AIP22、AIP5、およびAIP17)、WO2005/060457 (AIP5、AIP6、AIP8、AIP10、AIP12、AIP13、AIP14、AIP17、AIP18、AIP21、AIP22、AIP32、およびAIP36を含む)、W

O2005/011605、WO2005/023201、WO2005/058815 (1D4、1E1、2G1、3C4、6A5、6A8、6B10、7C10、8F6、10A12、および10A12S13C4を含む)、WO2005/084708、WO2006/039819、WO2006/118085、WO2008/047486、WO2008/044824 (抗体#124、#31、#28、#43、および#137を含む)、WO2008/106200、WO2009/023566、WO2012/149320 (MSX-1100および6A5を含む)、WO2014/003742 (実施例14の抗体を含む)、WO2013/170735、WO2014/189306、WO2015/063187に記載される抗CXCL10抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗CXCL10抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0652】

一実施形態では、抗原結合部位は、CD155、例えばヒトCD155に特異的に結合する。一実施形態では、CD155抗原結合部位は、クローンSKII.4 (BioLegend)からのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含む。

【0653】

一実施形態では、抗原結合部位は、免疫賦活剤に特異的に結合する。一実施形態では、抗原結合部位は、CD137、GITR、OX40、CD40、CXCR3 (例えば、CXCR3に対するアゴニスト活性)、CD3、およびICOS (例えば、ICOSに対するアゴニスト活性)から選択される免疫活性化因子に特異的に結合する。一実施形態では、抗原結合部位は、ICOS、CD137、GITR、およびOX40免疫賦活剤に特異的に結合する。

20

【0654】

一実施形態では、抗原結合部位は、CD137、例えばhCD137に特異的に結合する。一実施形態では、CD137抗原結合部位は、ウレルマブ、BMS-663513、PF-05082566 (Pfizer)、1D8および3E1、4B4 (BioLegend 309809)、H4-1BB-M127 (BD Pharmingen 552532)、BBK.2 (Thermo Fisher MS621PABX)、145501 (Leinco Technologies B591)、ATCC番号HB-11248として寄託された細胞株によって産生された抗体 (米国特許第6974863号)、もしくはXmAb-5592から、またはWO2017/04945、WO2016/134358、WO2015/179236、WO2012/177788、WO2012/145183、WO2012/032433、WO2009/135019、WO2005/035584、米国特許第6974863号、WO2004/055513、およびWO2004/010947に記載される抗CD137抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗CD137抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

30

40

【0655】

一実施形態では、抗原結合部位は、GITR、例えばhGITRに特異的に結合する。一実施形態では、GITR抗原結合部位は、MK4166、TRX518、TRX385、MAB689 (R&D Systems)、YGITR765 (Novus Biologicals)、もしくは1D8 (Novus Biologicals)、またはWO2015/187835 (28F3、3C3-1、3C3-2、2G6、8A6、9G7-1、9G7-2、14E3、19H8-1、19H8-2、19D3、18E10、および6G10を含む)、WO2015/184099 (1042-7、32-15、1039-45、1333-21、231-1039-45、231-32-15、Hum231#1、Hum231#2、m6C8、pab1964~pab1973、pab19

50

75～pab1977、pab1979～pab1981、pab1983、pab2159、pab2160、pab2161、ならびに表1および2中の抗体を含む)、WO2015/031667(表1中のAb1～Ab59)、WO2015/026684(配列番号1～66のCDR配列を有する抗体を含む)、WO2013/039954(2155、1718、1649、1362、954、827、698、706、ならびに表1および3に列挙される抗体を含む)、WO2011/051726(17頁に列挙されるCDR a～fを含有する抗体を含む)、WO2011/028683(抗体36E5、61F6、61G6、3D6、6H6、1D8、17F10、35D8、49A1、9E5、31H6、ならびにハイブリドーマPTA-9889、PTA-9890、PTA-9891、PTA-9892、PTA-9893、PTA-10286、PTA-10287、PTA-10288、PTA-10289、PTA-10290、およびPTA-10291からの抗体Rを含有する抗体を含む)、WO2009/009116(抗体2F8を含む)、WO2007/133822(表1に列挙される抗体を含む)、WO2006/105021(6C8、2F8、HuN6C8-Agly、HuQ6C8-Gly、およびHuQ6C8-Aglyを含む)、WO2006/050172およびWO2004/084942(DTA-1を含む)、WO03/006058(抗GITR/TNFRSF18#AF524を含む)、WO2016/054638(mAb #1-81、#3-167、#5-139、#7-192、#10-116、#11-126、#12-46、#13-169、#14-182、#15-68、および#17-60を含む)、WO2016/196792(6G10、28F3、19D3、18E10、3C3、2G6、8A6、9G7、14E3、および19H8を含む)、WO2017/087678(28F3、19D3、18E10、3C3-1、3C3-2、2G6、8A6、9G7-1、9G7-2、14E3、19H8-1、19H8-2、および6G10を含む)に記載される抗GITR抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗GITR抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0656】

一実施形態では、抗原結合部位は、OX40、例えばhOX40に特異的に結合する。
一実施形態では、OX40抗原結合部位は、GSK3174998、L106 BD(P
harming en製品#340420)、ACT35(Santa Cruz Biot
echnology、カタログ#20073)、MOXR0916、MEDI-0562
、9B12(Weinberg、A. D. , et al. , J Immunother 2
9, 575-585(2006))、Morris et al. , Mol Immuno
l. May 2007; 44(12): 3112-3121に記載されるヒト化抗OX40
Abから、またはWO2017/077085(SAP9、SAP28.2、SAP15
.3、SAP29-50、SAP25-29、およびSAP29-23、ならびに実施例
4および5に記載されるヒト化バージョンを含む)、WO2017/063162(O3
、O19、O21、および実施例5-表2における親和性成熟バージョンを含む、21#
H28H33、21#H65、21#H96、21#VHnew-L80、21#H96
-L80を含む)、WO2017/050729(SP197を含む)、WO2017/
021912およびWO2017/021910(抗体106-222、OX86、なら
びにず6および7に記載される抗体を含む)、WO2016/200836およびWO2
016/200835(MOXR0916/1A7. gr1 IgG1を含む)、WO2
016/196228(3F4、14B6-1、14B6-2、23H3、18E9、8
B11、20B3、20C1、6E1-1、6E1-2、14A2、14A2-1、14
A2-2、L106、OX40.1、OX40.5、OX40.8、OX40.6、なら
びにOX40.16およびOX40.21を含む-図1～10)、WO2016/179
517(11D4、pab1949、pab1949-1、pab2044、pab21
93-1を含む、表1～4)、WO2016/057667(9B12およびOX40m

10

20

30

40

50

A b 2 4を含む)、WO 2 0 1 5 / 1 5 3 5 1 3 (3 C 8、1 D 2、1 A 7、および配列表に記載されるそれらの変異型を含む、A 1 A 7、g r 1および3 C 8、g r . 5、ならびに図1に記載される抗体を含む)、WO 2 0 1 4 / 1 4 8 8 9 5 (A C T 3 5、1 2 H 3、1 2 H 3 (図25)、ならびにヒト化バージョンV L 1 H 1、V L 1 V H 2、V L 1 V H 3、V L 2 H 1、V L 2 V H 2、およびV L 2 V H 3 (図43および44)、および2 0 E 5 (図24)を含む)、WO 2 0 1 3 / 0 6 8 5 6 3 (A 2 6 [図2]を含む)、WO 2 0 1 3 / 0 3 8 1 9 1 (A C T 3 5、1 2 H 3、および1 2 H 3を含む)、WO 2 0 1 3 / 0 2 8 2 3 1 (1 1 9 - 1 2 2、1 1 9 - 4 3 - 1、1 0 6 - 2 2 2、および表1中の抗体を含む)、WO 2 0 1 3 / 0 0 8 1 7 1 (2 F 8、1 D 4、およびV H 6 / V L 9を含むそれらの誘導体、ならびに図4および5および表6および7中の抗体を含む)、WO 2 0 1 2 / 0 2 7 3 2 8 (1 1 9 - 1 2 2、1 1 9 - 4 3 - 1、H u 1 0 6、およびH u 1 0 6 - 2 2 2を含む)、WO 2 0 1 0 / 0 9 6 4 1 8 (A 2 6を含む)、WO 2 0 0 8 / 1 0 6 1 1 6 (表1および2中の抗体、ならびにA 1 0 (i n c A 1 0 A - F)、B 6 6 (図14)、B 2、B 2 4、B 3 6、B 3 7、およびB 3 9を含む)、ならびにWO 2 0 0 7 / 0 6 2 2 4 5 (1 1 2 V 8 (A T C C 番号P T A - 7 2 1 9)、1 1 2 Y 5 5 (A T C C 番号P T A - 7 2 2 0)、1 1 2 Y 1 3 1 (A T C C 番号P T A - 7 2 1 8)、1 1 2 F 3 2 (A T C C 番号P T A - 7 2 1 7)、および1 1 2 Z 5 (A T C C 番号P T A - 7 2 1 6)に記載される抗O X 4 0抗体のいずれか1つからのC D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、およびC D R L 3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗O X 4 0抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

【0657】

一実施形態では、抗原結合部位は、C X C R 3、例えばC X C R 3に特異的に結合する。一実施形態では、C X C R 3抗原結合部位は、G S K 3 1 7 4 9 9 8、またはWO 2 0 1 6 / 2 0 0 8 3 6、WO 2 0 1 6 / 2 0 0 8 3 5、WO 2 0 1 6 / 1 9 6 2 2 8、WO 2 0 1 6 / 1 7 9 5 1 7、WO 2 0 1 6 / 0 5 7 6 6 7、WO 2 0 1 5 / 1 5 3 5 1 3、WO 2 0 1 4 / 1 4 8 8 9 5、WO 2 0 1 3 / 0 6 8 5 6 3、WO 2 0 1 3 / 0 3 8 1 9 1、WO 2 0 1 3 / 0 2 8 2 3 1、WO 2 0 1 3 / 0 0 8 1 7 1、WO 2 0 1 2 / 0 2 7 3 2 8、WO 2 0 1 0 / 0 9 6 4 1 8、WO 2 0 1 1 / 0 7 3 1 8 0、WO 2 0 0 8 / 1 0 6 1 1 6、およびWO 2 0 0 7 / 0 6 2 2 4 5に記載される抗C X C R 3抗体のいずれか1つからのC D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、およびC D R L 3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗C X C R 3抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

30

【0658】

一実施形態では、抗原結合部位は、C D 2 7、例えばh C D 2 7に特異的に結合する。一実施形態では、C D 2 7抗原結合部位は、WO 2 0 1 6 / 1 4 5 0 8 5 (1 F 5を含む)、WO 2 0 1 5 / 0 1 6 7 1 8 (h C D 2 7、1 5および1 F 5を含む)、WO 2 0 1 4 / 1 4 0 3 7 4 (2 F 2、5 F 2 4、5 F 3 2、1 0 F 1 3、1 0 F 3 1、1 1 F 2 6、1 0 5 2 ~ 0 1 5、F 2 A 4 B 2、ならびにh z 5 F 2 4 V H + V 5 Q、h z 5 F 2 4 V L + K 4 5 Qを含むそれらの誘導体を含む)、WO 2 0 1 3 / 1 3 8 5 8 6 (C 2 1 7 7、C 2 1 8 6、C 2 1 9 1、およびC 2 1 9 2、ならびに実施例8 ~ 12および表7 ~ 42における誘導体を含む)、WO 2 0 1 2 / 0 0 4 3 6 7 (h C D 2 7、1 5 / A T C C 番号P T A - 1 1 0 0 8を含む)、WO 2 0 1 1 / 1 3 0 4 3 4 (1 G 5、1 H 8、3 H 1 2、3 H 8、2 G 9、1 F 5、3 A 1 0、2 C 2、m s 1 A 4、m s 9 F 4、およびm s M - T 2 7 1を含む)、WO 2 0 1 1 / 0 8 1 1 6 4およびWO 2 0 1 0 / 0 0 1 9 0 8 (K M 4 0 2 7、K M 4 0 2 8、K M 4 0 2 6、K M 4 0 3 0、K M 4 0 3 2、およびそれらの誘導体を含む)、WO 2 0 0 8 / 0 5 1 4 2 4 (L G 3 A 1 0およびA T 1 2 4 - 1を含む)に記載される抗C D 2 7抗体のいずれか1つからのC D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、およびC D R L 3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗C D 2 7抗体の配列および特徴は、参照に

40

50

より本明細書に組み込まれる。

【0659】

一実施形態では、抗原結合部位は、CD3、例えばhCD3に特異的に結合する。一実施形態では、CD3抗原結合部位は、OKT3抗体、オテリキシズマブ、テプリズマブ、もしくはビジリズマブから、またはWO2017/010874、WO2017/009442、WO2016/204966、WO2016/180721、WO2016/179003、WO2016/116626、WO2016/014974、WO2015/104346、WO2015/095392、WO2015/001085、WO2014/047231、WO2013/188693、WO2013/186613、WO2013/158856、WO2012/173819、WO2012/162067、WO2005/118635、WO2004/108158、WO2004/052397、WO2004/024771、WO01/51644、WO00/05268、WO97/44362、WO93/19196、WO92/06193、およびWO91/09968に記載される抗CD3抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含み、抗CD3抗体の配列および特徴は、参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0660】

態様1b. 免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む免疫サイトカインであって、重鎖が、N末端からC末端方向に、

20

- a) CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含むV_Hドメインと、
- b) 重鎖定常領域と、
- c) 任意に、リンカー(L)と、
- d) IL-2サイトカインと、を含み、

軽鎖が、N末端からC末端方向に、

- e) CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含むV_Lドメインと、
- f) 軽鎖定常領域(C_L)と、を含み、

V_HドメインおよびV_Lドメインが、免疫チェックポイント阻害剤(例えば、PD-1、CTLA-4、TIGIT、TIM-3、LAG-3、およびVISTA、例えば、TIGIT、TIM-3、およびLAG-3)、免疫調節剤(例えば、BTLA、hHVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、およびCD155、例えば、GARP、SIRPα、CXCR4、BTLA、hVEM、およびCSF1R)、ならびに免疫賦活剤(例えば、CD137、GITR、OX40、CD40、CXCR3(例えば、アゴニスティック抗CXCR3抗体)、CD27、CD3、およびICOS(例えば、アゴニスティック抗ICOS抗体)、例えば、ICOS、CD137、GITR、およびOX40)から選択される抗原に特異的に結合する抗原結合部位によって構成されている、免疫サイトカイン。

30

【0661】

別の実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤(例えば、PD-1、CTLA-4、TIGIT、TIM-3、LAG-3、およびVISTA、例えば、TIGIT、TIM-3、およびLAG-3)、免疫調節剤(例えば、BTLA、hHVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、およびCD155、例えば、GARP、SIRPα、CXCR4、BTLA、hVEM、およびCSF1R)、ならびに免疫賦活剤(例えば、CD137、GITR、OX40、CD40、CXCR3(例えば、アゴニスティック抗CXCR3抗体)、CD3、およびICOS(例えば、アゴニスティック抗ICOS抗体)、例えば、ICOS、CD137、GITR、およびOX40)から選択される抗原に特異的に結合する抗原結合部位。

40

【0662】

50

態様 1 および／または態様 1 a の実施形態はいずれも、態様 1 b について準用する。態様 2 ～ 5 4 の特徴または実施形態はいずれも、態様 1 b について準用する。抗体の特徴または概念 1 ～ 7 0 の他の実施形態もしくは特徴はいずれも、態様 1 b について準用する。

【0663】

一実施形態では、抗原結合部位は、態様 1 a に記載される抗原のいずれかに特異的に結合する。

【0664】

一実施形態では、抗原結合部位は、配列番号 1 によって定義される h P D - L 1 に特異的に結合し、当該 h P D - L 1 への結合について抗体 1 D 0 5 と競合し、免疫サイトカインは、モチーフ X₁ G S G X₂ Y G X₃ X₄ F D を含む C D R H 3 を含む V_H ドメインを含み、式中、X₁、X₂、および X₃ が独立して任意のアミノ酸であり、X₄ が存在するかまたは存在しないかのいずれかであり、存在する場合、任意のアミノ酸であり得る。

【0665】

態様 1 または 1 a のいずれにおいても、部分 f) の言い回しは、「f) 例えば、I L - 7、I L - 1 5、I L - 2 1、I L - 1 2、G M - C S F、T N F α、T G F β、C X C L 9、C X C L 1 0、およびインターフェロン - α から選択されるサイトカイン」と読み取られるように置き換えられてもよい。1 b において、部分 d) の言い回しは、「d) 例えば、I L - 7、I L - 1 5、I L - 2 1、I L - 1 2、G M - C S F、T N F α、T G F β、C X C L 9、C X C L 1 0、およびインターフェロン - α から選択されるサイトカイン」と読み取られるように置き換えられてもよい。したがって、本明細書に開示される免疫サイトカインは、I L - 2 サイトカイン活性を有するサイトカイン以外のサイトカインを含み得る。一実施形態では、サイトカインは、I L - 7 (配列番号 3 3 0) である。一実施形態では、サイトカインは、I L - 1 5 (配列番号 3 3 1) である。一実施形態では、サイトカインは、I L - 2 1 (配列番号 3 3 2) である。一実施形態では、サイトカインは、α 鎖 (配列番号 3 3 6) および β 鎖 (配列番号 3 3 7) を含む I L - 1 2 である。一実施形態では、サイトカインは、G M - C S F (配列番号 3 3 3) である。一実施形態では、サイトカインは、T N F α (配列番号 3 3 5) である。一実施形態では、サイトカインは、T G F β である。一実施形態では、サイトカインは、C X C L 9 (配列番号 3 3 8) である。一実施形態では、サイトカインは、C X C L 1 0 (配列番号 3 3 9) である。一実施形態では、サイトカインは、インターフェロン - α (配列番号 3 3 4) である。

【0666】

別の実施形態では、サイトカインは、免疫刺激性サイトカインである。別の実施形態では、サイトカインは、T 細胞刺激性サイトカインである。

【0667】

態様 2 . X₁ が、ヒドロキシル含有アミノ酸、任意選択で T である、態様 1 に記載の免疫サイトカイン。

【0668】

態様 3 . X₂ が、塩基性アミノ酸、任意選択で K である、態様 1 または態様 2 に記載の免疫サイトカイン。

【0669】

態様 4 . X₂ が、ヒドロキシル含有アミノ酸、任意選択で S または T である、態様 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の免疫サイトカイン。

【0670】

態様 5 . X₃ が、芳香族アミノ酸、任意選択で W である、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の免疫サイトカイン。

【0671】

態様 6 . X₄ が、存在しない、態様 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の免疫サイトカイン。

【0672】

態様 7 . X₄ が、存在する、態様 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の免疫サイトカイン。

【0673】

10

20

30

40

50

態様 8. X_4 が、脂肪族アミノ酸、任意選択で G である、態様 7 に記載の免疫サイトカイン。

【0674】

態様 2～7 の特徴は、本明細書の上記の概念 2～7 のいずれかに定義される通りであり得る。

【0675】

態様 9. 免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む免疫サイトカインであって、重鎖が、N 末端から C 末端方向に、

a) CDRH1、CDRH2、および CDRH3 を含む V_H ドメインと、

b) 重鎖定常領域と、を含み、

軽鎖が、N 末端から C 末端方向に、

c) CDRL1、CDRL2、および CDRL3 を含む V_L ドメインと、

d) 軽鎖定常領域 (C_L) と、

e) 任意選択で、リンカー (L) と、

f) IL-2 サイトカインと、を含み、

V_H ドメインおよび V_L ドメインが、hPD-L1 に特異的に結合し、hPD-L1 への結合について抗体 1D05 と競合する抗原結合部位によって構成され、当該抗体または断片が、配列番号 29 もしくは 32 の CDRH3 配列、または 6 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 29 もしくは 32 の CDRH3 配列を含む V_H ドメインを含み、任意選択で、免疫サイトカインは、態様 2～8 のいずれか一項に記載されるものである、免疫サイトカイン。

【0676】

この態様では、概念 9 および 9a～l、ならびに概念 9 の実施形態のいずれかに記載される CDRH3 の特徴がいずれも準用される。

【0677】

態様 10. 免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む免疫サイトカインであって、重鎖が、N 末端から C 末端方向に、

a) CDRH1、CDRH2、および CDRH3 を含む V_H ドメインと、

b) 重鎖定常領域と、を含み、

軽鎖が、N 末端から C 末端方向に、

c) CDRL1、CDRL2、および CDRL3 を含む V_L ドメインと、

d) 軽鎖定常領域 (C_L) と、

e) 任意選択で、リンカー (L) と、

f) IL-2 サイトカインと、を含み、

V_H ドメインおよび V_L ドメインが、hPD-L1 に特異的に結合する抗原結合部位によって構成され、

V_H ドメインが、12～20 個のアミノ酸の CDRH3 を含み、ヒト V_H 遺伝子セグメント、ヒト D 遺伝子セグメント、およびヒト J_H 遺伝子セグメントの組換えに由来し、当該ヒト J_H 遺伝子セグメントが、IGHJ5 (例えば、IGHJ5*02) である、免疫サイトカイン。

【0678】

この態様では、概念 10 および 10a に記載される CDRH3 の特徴がいずれも準用される。

【0679】

態様 11. ヒト V_H 遺伝子セグメントが、IGHV3 (例えば、IGHV3-9*01 等の IGHV3-9) である、態様 10 に記載の免疫サイトカイン。

【0680】

この態様では、概念 11、11a、および 11b に記載される遺伝子セグメントの特徴がいずれも準用される。

【0681】

態様 12. 抗体または断片が、ヒト V κ 遺伝子セグメントおよび J κ 遺伝子セグメントの組換えに由来する V L ドメインを含み、ヒト V κ 遺伝子セグメントが、I G κ V 1 D (例えば、I G κ V 1 D-39*01 等の I G κ V 1 D-39) である、態様 10 または態様 11 に記載の免疫サイトカイン。

【0682】

この態様では、概念 12、12a、および 12b に記載される遺伝子セグメントの特徴がいずれも準用される。

【0683】

態様 13. 免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む免疫サイトカインであって、重鎖が、N 末端から C 末端方向に、

a) CDRH1、CDRH2、および CDRH3 を含む V H ドメインと、

b) 重鎖定常領域と、を含み、

軽鎖が、N 末端から C 末端方向に、

c) CDRL1、CDRL2、および CDRL3 を含む V L ドメインと、

d) 軽鎖定常領域 (C L) と、

e) 任意選択で、リンカー (L) と、

f) IL-2 サイトカインと、を含み、

V H ドメインおよび V L ドメインが、抗体 1D05 が特異的に結合するエピトープと同一であるエピトープに特異的に結合する抗原結合部位によって構成されている、免疫サイトカインが提供される。

【0684】

この態様では、概念 13 および 13a~13l のいずれかに記載されるエピトープ、アッセイ、および他の実施形態の特徴がいずれも準用される。

【0685】

態様 14. エピトープが、無関係のアミノ酸スキャンまたは X 線結晶構造解析によって同定される、態様 13 に記載の免疫サイトカイン。

【0686】

態様 15. エピトープの接触残基が、SPR によって判定される、無関係のアミノ酸スキャン、例えばアラニンスキャンにおける親和性の少なくとも 10 倍の低減によって定義される、態様 14 に記載の免疫サイトカイン。

【0687】

この態様では、概念 15 の特徴がいずれも準用される。

【0688】

態様 16. 免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む免疫サイトカインであって、重鎖が、N 末端から C 末端方向に、

a) CDRH1、CDRH2、および CDRH3 を含む V H ドメインと、

b) 重鎖定常領域と、を含み、

軽鎖が、N 末端から C 末端方向に、

c) CDRL1、CDRL2、および CDRL3 を含む V L ドメインと、

d) 軽鎖定常領域 (C L) と、

e) 任意選択で、リンカー (L) と、

f) IL-2 サイトカインと、を含み、

V H ドメインおよび V L ドメインが、hPD-L1 への結合について抗体 1D05 と競合する抗原結合部位によって構成されている、免疫サイトカイン。

【0689】

この態様では、概念 16a~16l の抗体もしくは概念 16 に記載される競合アッセイおよび他の実施形態のいずれかの特徴、または概念 35 の特徴がいずれも準用される。

【0690】

態様 17. V H ドメインが、配列番号 29 もしくは 32 の CDRH3 配列、または 6 個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号 29 もしくは 32 の CDRH3 配列を含む、態様

10

20

30

40

50

10～16のいずれか一項に記載の免疫サイトカイン。

【0691】

この態様では、概念17a～17lの抗体の特徴がいずれも準用される。

【0692】

態様18．V_Hドメインが、配列番号27もしくは30のCDRH1配列、または3、2、もしくは1個のアミノ酸置換を含有する配列番号27もしくは30のCDRH1配列を含む、態様1～17のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0693】

この態様では、概念18a～18lの抗体の特徴がいずれも準用される。

【0694】

態様19．V_Hドメインが、配列番号28もしくは31のCDRH2配列、または4個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号28もしくは31のCDRH2配列を含む、態様1～18のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0695】

この態様では、概念19a～19lの抗体の特徴がいずれも準用される。

【0696】

態様20．V_Hドメインが、配列番号33のアミノ酸配列、または配列番号33と少なくとも80%（例えば、少なくとも85%または少なくとも90%）同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む（例えば、配列番号47～49の重鎖配列のいずれかのV_Hドメイン配列）、態様1～19のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0697】

この態様では、概念20a～20lの抗体または概念20の実施形態のいずれかの特徴がいずれも準用される。

【0698】

態様21．重鎖の第1および第2のコピーを含む、態様1～20のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0699】

態様22．配列番号37もしくは40のCDRL1配列、または3個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号37もしくは40のCDRL1配列を含むV_Lドメインを含む、態様1～21のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0700】

この態様では、概念22a～22lの抗体の特徴がいずれも準用される。

【0701】

態様23．配列番号38もしくは41のCDRL2配列、または2もしくは1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号38もしくは41のCDRL2配列、例えば配列番号50のCDRL2配列を含むV_Lドメインを含む、態様1～22に記載の免疫サイトカイン。

【0702】

この態様では、概念23a～23lの抗体の特徴がいずれも準用される。

【0703】

態様24．配列番号39もしくは42のCDRL3配列、または4個以下のアミノ酸置換を含有する配列番号39もしくは42のCDRL3配列を含むV_Lドメインを含む、態様1～23のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0704】

この態様では、概念24a～24lの抗体の特徴がいずれも準用される。

【0705】

態様25．配列番号43のアミノ酸配列、または配列番号43と少なくとも80%（例えば、少なくとも85%または少なくとも90%）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列（例えば、配列番号50または51の軽鎖配列中のV_Lドメイン配列）を含むV_Lドメインを含む、態様1～24のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0706】

この態様では、概念25a～25lの抗体または概念25の実施形態のいずれかの特徴がいずれも準用される。

【0707】

態様26．軽鎖の第1および第2のコピーを含む、態様1～25のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0708】

態様27．配列番号2によって定義されるようにカニクイザルPD-L1に特異的に結合する、態様1～26のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0709】

この態様では、概念27の実施形態がいずれも準用される。

【0710】

態様28．抗体または断片が、カップ軽鎖を含む、態様1～27に記載の免疫サイトカイン。

【0711】

この態様では、概念28の実施形態がいずれも準用される。

【0712】

態様29．アミノ酸置換が、保存的アミノ酸置換であり、任意選択で、当該保存的置換が、

- 1) アラニン (A)、セリン (S)、トレオニン (T)、
 - 2) アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)、
 - 3) アスパラギン (N)、グルタミン (Q)、
 - 4) アルギニン (R)、リシン (K)、
 - 5) イソロイシン (I)、ロイシン (L)、メチオニン (M)、バリン (V)、および
 - 6) フェニルアラニン (F)、チロシン (Y)、トリプトファン (W) から選択される
- 6つの群（各群は、互いについて保存的置換であるアミノ酸を含有する）のうちの1つからのものである、態様9～28のいずれか一項に免疫サイトカイン。

【0713】

この態様では、概念9の実施形態がいずれも準用される。

【0714】

態様30．抗体または断片が、定常領域、例えば、IgG1定常領域を含み、任意選択で、定常領域が、配列番号205において定義される欠損したIgG1である、態様1～29のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0715】

この態様では、概念30、31、または32の特徴または実施形態がいずれも準用される。

【0716】

態様31．

A) V_Hドメインが配列番号33のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号43のアミノ酸配列を含み、

B) V_Hドメインが配列番号33と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号43と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

C) V_Hドメインが配列番号47のV_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号43のアミノ酸配列を含み、

D) V_Hドメインが配列番号48のV_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号43のアミノ酸配列を含み、

E) V_Hドメインが配列番号49のV_Hドメインのアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号43のアミノ酸配列を含み、

F) V_Hドメインが配列番号33のアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号50のV_Lドメインのアミノ酸配列を含み、

10

20

30

40

50

EE) V_Hドメインが配列番号138と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、V_Lドメインが配列番号148と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

50

FF) V_H ドメインが配列番号244のアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインが配列番号254のアミノ酸配列を含み、

GG) V_H ドメインが配列番号244と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインが配列番号254と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

HH) V_H ドメインが配列番号264のアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインが配列番号274のアミノ酸配列を含み、

II) V_H ドメインが配列番号264と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインが配列番号274と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

JJ) V_H ドメインが配列番号284のアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインが配列番号294のアミノ酸配列を含み、

KK) V_H ドメインが配列番号284と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインが配列番号294と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

LL) V_H ドメインが配列番号264のアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインが配列番号274のアミノ酸配列を含み、

MM) V_H ドメインが配列番号138と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインが配列番号148と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

NN) V_H ドメインが配列番号349のアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインが配列番号359のアミノ酸配列を含み、

OO) V_H ドメインが配列番号349と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L ドメインが配列番号359と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含む、
態様1～30のいずれか一項に記載の免疫サイトカイン。

【0717】

一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも70%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも75%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも95%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも96%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも97%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも98%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも99%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも99.5%同一である。

【0718】

態様32.

A) V_H および定常領域が、配列番号299のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号45のアミノ酸配列を含み、

B) V_H および定常領域が、配列番号299と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号45と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

C) V_H および定常領域が、配列番号47のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号45のアミノ酸配列を含み、

D) V_H および定常領域が、配列番号48のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号45のアミノ酸配列を含み、

E) V_H および定常領域が、配列番号49のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号45のアミノ酸配列を含み、

F) V_H および定常領域が、配列番号342のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号45のアミノ酸配列を含み、

G) V_H および定常領域が、配列番号238のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号50のアミノ酸配列を含み、

H) V_H および定常領域が、配列番号47のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号50のアミノ酸配列を含み、

I) V_H および定常領域が、配列番号48のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配

10

20

30

40

50

列番号 50 のアミノ酸配列を含み、

J) V_H および定常領域が、配列番号 49 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 50 のアミノ酸配列を含み、

K) V_H および定常領域が、配列番号 342 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 50 のアミノ酸配列を含み、

L) V_H および定常領域が、配列番号 299 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 50 のアミノ酸配列を含み、

M) V_H および定常領域が、配列番号 47 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 51 のアミノ酸配列を含み、

N) V_H および定常領域が、配列番号 48 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 51 のアミノ酸配列を含み、

O) V_H および定常領域が、配列番号 49 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 51 のアミノ酸配列を含み、

P) V_H および定常領域が、配列番号 342 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 51 のアミノ酸配列を含み、

Q) V_H および定常領域が、配列番号 299 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 298 のアミノ酸配列を含み、

R) V_H および定常領域が、配列番号 47 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 298 のアミノ酸配列を含み、

S) V_H および定常領域が、配列番号 48 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 298 のアミノ酸配列を含み、

T) V_H および定常領域が、配列番号 49 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 298 のアミノ酸配列を含み、

U) V_H および定常領域が、配列番号 342 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 298 のアミノ酸配列を含み、

V) V_H および定常領域が、配列番号 60 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 70 のアミノ酸配列を含み、

W) V_H および定常領域が、配列番号 60 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 70 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

X) V_H および定常領域が、配列番号 80 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 90 のアミノ酸配列を含み、

Y) V_H および定常領域が、配列番号 80 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 90 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

Z) V_H および定常領域が、配列番号 100 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 110 のアミノ酸配列を含み、

AA) V_H および定常領域が、配列番号 100 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 110 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

BB) V_H および定常領域が、配列番号 120 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 130 のアミノ酸配列を含み、

CC) V_H および定常領域が、配列番号 120 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 130 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

DD) V_H および定常領域が、配列番号 160 のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 170 のアミノ酸配列を含み、

EE) V_H および定常領域が、配列番号 160 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号 170 と少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含み、

10

20

30

40

50

FF) V_H および定常領域が、配列番号180のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号190のアミノ酸配列を含み、

GG) V_H および定常領域が、配列番号180と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号190と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

HH) V_H および定常領域が、配列番号140のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号150のアミノ酸配列を含み、

II) V_H および定常領域が、配列番号140と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号150と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

JJ) V_H および定常領域が、配列番号246のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号256のアミノ酸配列を含み、

KK) V_H および定常領域が、配列番号246と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号256と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

LL) V_H および定常領域が、配列番号266のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号276のアミノ酸配列を含み、

MM) V_H および定常領域が、配列番号266と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号276と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

NN) V_H および定常領域が、配列番号286のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号296のアミノ酸配列を含み、

OO) V_H および定常領域が、配列番号286と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号296と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

PP) V_H および定常領域が、配列番号15のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号25のアミノ酸配列を含み、

QQ) V_H および定常領域が、配列番号15と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号25と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、

RR) V_H および定常領域が、配列番号351のアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号361のアミノ酸配列を含み、

SS) V_H および定常領域が、配列番号351と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含み、 V_L および C_L が、配列番号361と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含む、態様1～31のいずれか一項に記載の免疫サイトカイン。

【0719】

一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも70%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも75%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも95%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも96%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも97%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも98%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも99%同一である。一実施形態では、アミノ酸配列は、指定の配列と少なくとも99.5%同一である。

【0720】

態様33. 抗原結合部位が、PD-L1に特異的に結合し、IL-2 サイトカインが、高親和性($\alpha\beta\gamma$) IL-2 受容体(IL-2R)に結合する、態様1～32のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0721】

一実施形態では、抗原結合部位は、IL-2 サイトカインが $\alpha\beta\gamma$ IL-2Rに結合

10

20

30

40

50

するのと同時にPD-L1に結合する。一実施形態では、抗原結合部位は、IL-2 サイトカインが $\alpha\beta\gamma$ IL-2Rに結合するのと連続してPD-L1に結合する。一実施形態では、IL-2 サイトカインはさらに、中間体($\beta\gamma$) IL-2Rに結合する。

【0722】

態様34. 免疫サイトカインが、T細胞のPD-L1媒介性抑制を阻害することができる、態様1〜33のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0723】

一実施形態では、免疫サイトカインは、T細胞のPD-L1媒介性抑制を阻害する。一実施形態では、免疫サイトカインは、インビトロアッセイにおいてT細胞のPD-L1媒介性抑制を阻害する。別の実施形態では、抗原結合部位は、概念51または52の特徴または実施形態のいずれかを有する。

【0724】

別の実施形態では、抗原結合部位は、PD-L1に対するPD-1の結合を遮断または阻害する。一実施形態では、抗原結合部位は、PD-L1に対するCD80の結合を遮断または阻害する。

【0725】

態様35. 免疫サイトカインが、IL-2R媒介性T細胞活性化を増加させることができる、態様1〜34のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0726】

一実施形態では、免疫サイトカインは、IL-2R媒介性T細胞活性化を増加させる。一実施形態では、免疫サイトカインは、インビトロアッセイにおけるIL-2R媒介性T細胞活性化を増加させる。

【0727】

態様36. T細胞の抑制またはIL-2R媒介性T細胞活性化の増加が、直接CD3/CD28刺激、超抗原刺激のいずれかによって同時刺激を提供するか、またはT細胞応答を誘導することができる細胞との共インキュベーションによって同時刺激を提供するアッセイにおける、IFN γ 、IL-2、CD25、またはT細胞の増殖のうちの1つ以上の増加によって測定される、態様34または態様35に記載の免疫サイトカイン。

【0728】

測定は、任意の好適な技術を用いて実施され得る。例えば、ELISA、HTRF、BRDU取り込み(増殖)、電気化学発光(ELC)、またはフローサイトメトリー(例えば、FACS)を用いて測定を行うことができる。これらの技術は、当業者に周知であり、本明細書において他の箇所に記載されている。一実施形態では、アッセイは、フローサイトメトリーである。一実施形態では、アッセイは、ELISAである。一実施形態では、アッセイは、HTRFである。

【0729】

この態様において、態様36が態様34に従属する場合に、態様36の特徴または実施形態がいずれも準用される。

【0730】

態様36が態様35に従属する場合に、一実施形態では、IL-2R媒介性T細胞活性化の増加は、IFN γ およびCD25のうち的一方または両方の増加によって測定される。

【0731】

態様36が態様35に従属する場合、一実施形態では、同時刺激は、直接CD3/CD28刺激によって提供される。

【0732】

態様36が態様35に従属する場合、一実施形態では、同時刺激は、staphylococcalエンテロトキシンB(SEB)等のスーパー抗原によって提供される。

【0733】

態様36が態様35に従属する場合、一実施形態では、アッセイは、T細胞応答を誘導することができる細胞との共インキュベーションによって同時刺激を提供する。かかる細

10

20

30

40

50

胞は、抗原提示細胞（APC）、例えば、単球、B細胞、または樹状細胞であり得る。一実施形態では、アッセイは、APCとの共インキュベーションによって同時刺激を提供する。一実施形態では、アッセイは、単球との共インキュベーションによる同時刺激を提供する。一実施形態において、アッセイは、B細胞との共インキュベーションによって共刺激を提供する。一実施形態において、アッセイは、樹状細胞との共インキュベーションによって共刺激を提供する。

【0734】

態様37. リンカー（L）を含まない、態様1～36のいずれかに記載の免疫サイトカイン、またはd）のC_Lが、f）のサイトカインに直接融合している、請求項1～36のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0735】

一実施形態では、軽鎖または重鎖のC_Lは、サイトカインに直接融合している。

【0736】

態様1bの一実施形態では、b）のC_Lは、d）のサイトカインに直接融合している。

【0737】

態様38. リンカーが、1～20アミノ酸長のペプチドリンカーである、態様1～37のいずれか一項に記載の免疫サイトカイン。

【0738】

一実施形態では、リンカーは、1～15アミノ酸長のペプチドリンカーである。一実施形態では、リンカーは、1～10アミノ酸長のペプチドリンカーである。一実施形態では、リンカーは、1～5アミノ酸長のペプチドリンカーである。

【0739】

一実施形態では、リンカーは、化学リンカーであってもよい。組換え融合タンパク質の場合、リンカーは、異なる免疫サイトカイン部分のためのコード領域間でのフレーム中に位置する核酸配列によってコードされる。合成タンパク質の場合、リンカーペプチドは、合成中に導入される。

【0740】

リンカーは、当業者に周知である。例えば、Denardo et al., 1998, Clin. Cancer Res., 4 (10): 2483-90、Peterson et al., 1999, Bioconj. Chem. 10 (4): 553-7、および Zimmerman et al., 1999, Nucl. Med. Biol., 26 (8): 943-50中の記載を参照されたい（その中に記載される修飾は、参照により本明細書に組み込まれる）。

【0741】

態様39. リンカーペプチドが、ポリ-Gまたは（G₄S）_xから選択され、式中、Xが、1、2、3、または4である、態様38に記載の免疫サイトカイン。

【0742】

他の実施形態では、リンカーは、STG、GSTG、RS、TVAAPS、GGGGS、GSTVAAPS、TVAAPSGS、またはGSTVAAPSGSから選択され得る。別の実施形態では、リンカーは、Gln-Arg-Val-Asp（イヌのカッパ定常領域のN末端に由来する）である。別の実施形態では、リンカーは、GGNGTまたはYGGNGTである。

【0743】

態様40. IL-2サイトカインが、ヒトIL-2（hIL-2）またはその変異型である、態様1～39のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0744】

IL-2変異型は、態様1に記載される通りである。

【0745】

本明細書に記載される非IL-2サイトカイン（態様1に記載される非IL-2サイトカイン、例えば、IL-7、IL-15、IL-21、IL-12、GM-CSF、TN

10

20

30

40

50

F α 、CXCL9、CXCL10、およびインターフェロン- α から選択されるものを含む)のいずれかであり得る変異型サイトカインもまた提供される。変異型IL-2サイトカインの定義は、例えば、態様1においてIL-2について記載されるN末端欠失のいずれかを含む、本明細書に記載される他のサイトカイン(免疫刺激性サイトカインおよびT細胞刺激性サイトカインを含む)について準用される。

【0746】

態様41. hIL-2が、配列番号301のアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、態様40に記載の免疫サイトカイン。

【0747】

態様42. hIL-2が、N末端における修飾、任意選択で1~10個のアミノ酸の欠失を含むIL-2を含む、態様40に記載の免疫サイトカイン。

【0748】

本態様で使用される場合、本明細書に記載されるサイトカイン(態様1に記載される非IL-2サイトカイン、例えば、IL-7、IL-15、IL-21、IL-12、GM-CSF、TNF α 、CXCL9、CXCL10、およびインターフェロン- α から選択されるものを含む)のいずれかのN末端における修飾は、1つ以上(例えば、1~10、例えば、1~5)のアミノ酸置換、欠失、または付加を指す。

【0749】

一実施形態では、修飾は、サイトカインのN末端における1つ以上(例えば、1~10、例えば、1~5)のアミノ酸置換である。置換は、例えば、概念9、概念29、または態様29において定義されるような保存的置換であり得る。一実施形態では、修飾は、欠失である。別の実施形態では、修飾は、N末端欠失、例えば、概念9および態様1に記載される欠失のいずれかである。一実施形態では、修飾(例えば、1~10個のアミノ酸の欠失)は、サイトカイン、例えば、IL-2サイトカインの最後の50個のアミノ酸の中である。一実施形態では、修飾(例えば、1~10個のアミノ酸の欠失)は、サイトカイン、例えば、IL-2サイトカインの最後の30個のアミノ酸の中である。一実施形態では、修飾(例えば、1~10個のアミノ酸の欠失)は、サイトカイン、例えば、IL-2サイトカインの最後の25個のアミノ酸の中である。一実施形態では、修飾(例えば、1~10個のアミノ酸の欠失)は、サイトカイン、例えば、IL-2サイトカインの最後の20個のアミノ酸の中である。一実施形態では、修飾(例えば、1~10個のアミノ酸の欠失)は、サイトカイン、例えば、IL-2サイトカインの最後の15個のアミノ酸の中である。一実施形態では、修飾(例えば、1~10個のアミノ酸の欠失)は、サイトカイン、例えば、IL-2サイトカインの最後の10個のアミノ酸の中である。

【0750】

一実施形態では、修飾は、サイトカインのN末端の最後の10個のアミノ酸の中からの1~9個のアミノ酸の欠失、例えば、サイトカインのN末端の最後の1~9個のアミノ酸欠失である。一実施形態では、修飾は、サイトカインのN末端の最後の10個のアミノ酸の中からの1~8個のアミノ酸の欠失、例えば、サイトカインのN末端の最後の1~8個のアミノ酸欠失である。一実施形態では、修飾は、サイトカインのN末端の最後の10個のアミノ酸の中からの1~7個のアミノ酸の欠失、例えば、サイトカインのN末端の最後の1~7個のアミノ酸欠失である。一実施形態では、修飾は、サイトカインのN末端の最後の10個のアミノ酸の中からの1~6個のアミノ酸の欠失、例えば、サイトカインのN末端の最後の1~6個のアミノ酸欠失である。一実施形態では、修飾は、サイトカインのN末端の最後の10個のアミノ酸の中からの1~5個のアミノ酸の欠失、例えば、サイトカインのN末端の最後の1~5個のアミノ酸欠失である。一実施形態では、修飾は、サイトカインのN末端の最後の10個のアミノ酸の中からの1~4個のアミノ酸の欠失、例えば、サイトカインのN末端の最後の1~4個のアミノ酸欠失である。一実施形態では、修飾は、サイトカインのN末端の最後の10個のアミノ酸の中からの1~3個のアミノ酸の欠失、例えば、サイトカインのN末端の最後の1~3個のアミノ酸欠失である。一実施形態では、修飾は、サイトカインのN末端の最後の10個のアミノ酸の中からの1または2

個のアミノ酸の欠失、例えば、サイトカインのN末端の最後の1または2個のアミノ酸欠失である。一実施形態では、修飾は、サイトカインのN末端の最後の10個のアミノ酸の中からの1個のアミノ酸の欠失、例えば、サイトカインのN末端の最後の1個のアミノ酸欠失である。特定の実施形態では、サイトカインは、IL-2 サイトカイン、例えば、ヒトIL-2 サイトカインである。

【0751】

一実施形態では、欠失は、サイトカイン、例えば、IL-2 サイトカイン、例えば、ヒトIL-2 サイトカインのN末端から9個目のアミノ酸のものである。一実施形態では、欠失は、サイトカイン、例えば、IL-2 サイトカイン、例えば、ヒトIL-2 サイトカインのN末端から8および9個目のアミノ酸のものである。一実施形態では、欠失は、サイトカイン、例えば、IL-2 サイトカイン、例えば、ヒトIL-2 サイトカインのN末端から7、8、および9個目のアミノ酸のものである。一実施形態では、欠失は、サイトカイン、例えば、IL-2 サイトカイン、例えば、ヒトIL-2 サイトカインのN末端から6〜9個目のアミノ酸のものである。一実施形態では、欠失は、サイトカイン、例えば、IL-2 サイトカイン、例えば、ヒトIL-2 サイトカインのN末端から4〜9個目のアミノ酸のものである。一実施形態では、欠失は、サイトカイン、例えば、IL-2 サイトカイン、例えば、ヒトIL-2 サイトカインのN末端から3〜9個目のアミノ酸のものである。一実施形態では、欠失は、サイトカイン、例えば、IL-2 サイトカイン、例えば、ヒトIL-2 サイトカインのN末端から2〜9個目のアミノ酸のものである。一実施形態では、欠失は、サイトカイン、例えば、IL-2 サイトカイン、例えば、ヒトIL-2 サイトカインのN末端から2〜6個目のアミノ酸のものである。一実施形態では、欠失は、サイトカイン、例えば、IL-2 サイトカイン、例えば、ヒトIL-2 サイトカインのN末端から3〜7個目のアミノ酸のものである。一実施形態では、欠失は、サイトカイン、例えば、IL-2 サイトカイン、例えば、ヒトIL-2 サイトカインのN末端から4〜8個目のアミノ酸のものである。本明細書の上記の態様1に記載される欠失はいずれも、本態様の非IL-2 サイトカインについて準用され得る。

【0752】

態様42a. 態様42の態様または特徴のいずれかのN末端修飾を含む、変異型hIL-2。態様42aの一実施形態では、変異型hIL-2は、精製された変異型hIL-2である。態様42aの別の実施形態では、変異型hIL-2は、単離および精製された変異型hIL-2である。

【0753】

態様42b. 態様42の態様または特徴のいずれかのN末端修飾を含む、IL-7、IL-15、IL-21、IL-12、GM-CSF、TNF α 、CXCL9、CXCL10、およびインターフェロン α から選択される、変異型サイトカイン。態様42aの一実施形態では、変異型サイトカインは、精製された変異型サイトカインである。態様42aの別の実施形態では、変異型サイトカインは、単離および精製された変異型サイトカインである。

【0754】

態様43. hIL-2が、配列番号303〜323から選択されるN末端配列を含む変異型IL-2を含む、態様40または態様42に記載の免疫サイトカイン。

【0755】

態様43a. 配列番号303〜323から選択されるN末端配列を含む、変異型hIL-2。

【0756】

態様43aの一実施形態では、変異型hIL-2は、精製された変異型hIL-2である。態様43aの別の実施形態では、変異型hIL-2は、単離および精製された変異型hIL-2である。一実施形態では、変異型hIL-2は、配列番号324、517、および518から選択されるIL-2配列に直接融合した、配列番号303〜323から選択されるN末端配列を含む（またはそれからなる）。

【0757】

態様44. h I L - 2 変異型が、

- 1) D 2 0 (例えば、D 2 0 T)、
- 2) R 3 8 (例えば、R 3 8 W、R 3 8 A、またはR 3 8 Q)、
- 3) F 4 2 (例えば、F 4 2 AまたはF 4 2 K)、
- 4) Y 4 5 (例えば、Y 4 5 A)、
- 5) E 6 2 (例えば、E 6 2 A)、
- 6) N 8 8 (例えば、N 8 8 R)、
- 7) C 1 2 5 (例えば、C 1 2 5 S)、
- 8) Q 1 2 6 (例えば、Q 1 2 6 W)、または

9) R 3 8 および F 4 2 (例えば、R 3 8 W および F 4 2 K もしくは R 3 8 A および F 4 2 A)、から独立して選択される1つ以上(例えば、1~5、例えば、1または2)の変異を含み、

残基の付番は、ヒト野生型 I L - 2 配列、配列番号 3 0 1 を参照して定義される、態様 4 0、4 2、または 4 3 のいずれか一項に記載の免疫サイトカイン。

【0758】

態様44a. h I L - 2 変異型が、

- 1) D 2 0 (例えば、D 2 0 T)、
- 2) R 3 8 (例えば、R 3 8 W、R 3 8 A、またはR 3 8 Q)、
- 3) F 4 2 (例えば、F 4 2 AまたはF 4 2 K)、
- 4) Y 4 5 (例えば、Y 4 5 A)、
- 5) E 6 2 (例えば、E 6 2 A)、
- 6) N 8 8 (例えば、N 8 8 R)、
- 7) C 1 2 5 (例えば、C 1 2 5 S)、
- 8) Q 1 2 6 (例えば、Q 1 2 6 W)、または

9) R 3 8 および F 4 2 (例えば、R 3 8 W および F 4 2 K もしくは R 3 8 A および F 4 2 A)、から独立して選択される1つ以上(例えば、1~5、例えば、1または2)の変異を含み、

残基の付番は、ヒト野生型 I L - 2 配列、配列番号 3 0 1 を参照して定義される、態様 4 2 a または 4 3 a のいずれか一項に記載の免疫サイトカイン。

【0759】

一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、R 3 8 (例えば、R 3 8 W、R 3 8 A、または R 3 8 Q、例えば、R 3 8 A) 変異を含む(またはそれからなる)。一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、F 4 2 (例えば、F 4 2 A または F 4 2 K、例えば、F 4 2 A) 変異を含む(またはそれからなる)。一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、Y 4 5 (例えば、Y 4 5 A) 変異を含む(またはそれからなる)。一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、E 6 2 (例えば、E 6 2 A) 変異を含む(またはそれからなる)。

【0760】

一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、R 3 8 (例えば、R 3 8 W、R 3 8 A、または R 3 8 Q、例えば、R 3 8 A) 変異、および F 4 2 (例えば、F 4 2 A または F 4 2 K、例えば、F 4 2 A) 変異を含む(またはそれらからなる)。一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、R 3 8 (例えば、R 3 8 W、R 3 8 A、または R 3 8 Q、例えば、R 3 8 A) 変異、および Y 4 5 (例えば、Y 4 5 A) 変異を含む(またはそれらからなる)。一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、R 3 8 (例えば、R 3 8 W、R 3 8 A、または R 3 8 Q、例えば、R 3 8 A) 変異、および E 6 2 (例えば、E 6 2 A) を含む(またはそれらからなる)。一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、Y 4 5 (例えば、Y 4 5 A) 変異および E 6 2 (例えば、E 6 2 A) を含む(またはそれらからなる)。一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、F 4 2 (例えば、F 4 2 A または F 4 2 K、例えば、F 4 2 A) 変異、および E 6 2 (例えば、E 6 2 A) 変異を含む(またはそれらからなる)。一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、F 4 2 (例えば、F 4 2 A または F 4 2 K、例えば、F 4 2 A

10

20

30

40

50

）変異、および Y 4 5（例えば、Y 4 5 A）変異を含む（またはそれらからなる）。

【0761】

一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、R 3 8（例えば、R 3 8 W、R 3 8 A、または R 3 8 Q、例えば、R 3 8 A）変異、F 4 2（例えば、F 4 2 A または F 4 2 K、例えば、F 4 2 A）変異、および Y 4 5（例えば、Y 4 5 A）変異を含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、R 3 8（例えば、R 3 8 W、R 3 8 A、または R 3 8 Q、例えば、R 3 8 A）変異、F 4 2（例えば、F 4 2 A または F 4 2 K、例えば、F 4 2 A）変異、および E 6 2（例えば、E 6 2 A）変異を含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、R 3 8（例えば、R 3 8 W、R 3 8 A、または R 3 8 Q、例えば、R 3 8 A）変異、Y 4 5（例えば、Y 4 5 A）変異、および E 6 2（例えば、E 6 2 A）変異を含む（またはそれらからなる）。

10

【0762】

一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、R 3 8（例えば、R 3 8 W、R 3 8 A、または R 3 8 Q、例えば、R 3 8 A）変異、F 4 2（例えば、F 4 2 A または F 4 2 K、例えば、F 4 2 A）変異、Y 4 5（例えば、Y 4 5 A）変異、および E 6 2（例えば、E 6 2 A）変異を含む（またはそれらからなる）。一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、R 3 8 A、F 4 2 A、Y 4 5 A、および E 6 2 A 変異を含む（またはそれらからなる）。

【0763】

他の h I L - 2 変異は、当業者に既知である。一実施形態では、h I L - 2 変異は、W O 2 0 1 2 / 0 6 2 2 2 8（請求項 2～7 を参照されたい、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるものである。一実施形態では、h I L - 2 変異は、W O 1 9 9 9 / 6 0 1 2 8（請求項 6、7、8、10、11、および 12 を参照されたい、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるものである。一実施形態では、h I L - 2 変異は、W O 1 9 9 3 / 2 0 8 4 9（請求項 4 および 5 を参照されたい、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるものである。一実施形態では、h I L - 2 変異は、W O 2 0 0 3 / 0 1 5 6 9 7（請求項 7 および 10 を参照されたい、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるものである。一実施形態では、h I L - 2 変異は、W O 2 0 0 5 / 0 0 7 1 2 1（請求項 9～14 を参照されたい、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるものである。一実施形態では、h I L - 2 変異は、W O 2 0 0 5 / 0 8 6 7 9 8（請求項 5～10 を参照されたい、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるものである。一実施形態では、h I L - 2 変異は、W O 2 0 0 5 / 0 8 6 7 5 1（請求項 5～9 を参照されたい、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるものである。一実施形態では、h I L - 2 変異は、W O 2 0 0 9 / 0 6 1 8 5 3（請求項 5 を参照されたい、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるものである。一実施形態では、h I L - 2 変異は、W O 2 0 1 2 / 0 8 8 4 4 6（請求項 3～8 および 11～13 を参照されたい、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるものである。一実施形態では、h I L - 2 変異は、W O 2 0 1 2 / 1 0 7 4 1 7（請求項 2、4、6、および 9 を参照されたい、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるものである。一実施形態では、h I L - 1 変異は、W O 2 0 1 2 / 1 1 9 0 9 3（請求項 1～7 を参照されたい、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるものである。一実施形態では、h I L - 3 変異は、W O 2 0 1 5 / 1 6 4 8 1 5（請求項 3～19 を参照されたい、参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるものである。

20

30

40

【0764】

これらの態様では、残基付番が、ヒト野生型 I L - 2 配列を参照して定義される場合、例えば、サイトカインの N 末端からの単一のアミノ酸欠失があり、請求項が N 8 8 アミノ酸変異を記載する場合には、単一のアミノ酸欠失を有する変異型 I L - 2 について、N は事実上、87 位におけるものであることになる。サイトカインの N 末端から 3 個のアミノ酸が欠失しており、変異が F 4 2 A である場合、変異される位置は事実上、変異型配列中の F 3 9 であることになる。

【0765】

50

態様45. h I L - 2 が、配列番号324のアミノ酸配列に融合した、配列番号242～262から選択されるN末端配列からなる変異型 I L - 2 を含む、態様40に記載の免疫サイトカイン。

【0766】

一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、配列番号324、517、および518から選択されるアミノ酸配列に融合した、配列番号303～323から選択されるN末端配列を含む（またはそれからなる）。

【0767】

一実施形態では、免疫サイトカインは、1 D 0 5 D 1 - 9 I C K である。一実施形態では、免疫サイトカインは、1 D 0 5 D 1 - 9 である。一実施形態では、免疫サイトカインは、1 D 0 5 D 9 - 2 I C K である。一実施形態では、免疫サイトカインは、1 D 0 5 D 9 - 7 I C K である。

【0768】

態様45a. 配列番号324のアミノ酸配列に融合した、配列番号303～323から選択されるN末端配列を含む、変異型 h I L - 2 。

【0769】

態様45aの一実施形態では、変異型 h I L - 2 は、精製された変異型 h I L - 2 である。態様44aの別の実施形態では、変異型 h I L - 2 は、単離および精製された変異型 h I L - 2 である。

【0770】

態様46. I L - 2 サイトカインが、遊離 I L - 2 よりも小さい効力で、例えば、細胞増殖アッセイにおいて測定した場合、例えば、20 p M 超、50 p M 超、または100 p M 超の E C ₅₀ で、高親和性 (α β γ) I L - 2 受容体に結合する、態様1～45のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0771】

遊離 I L - 2 は、細胞増殖アッセイにおいて α β γ (高親和性) 受容体に対して約10 p M の効力を有する。本明細書で使用される場合、E C ₅₀ は、I L 2 R の最大限の活性化の50%をもたらすための有効濃度を指す。E C ₅₀ が高くなるほど、物質の効力は低くなり、したがって、1 p M の E C ₅₀ を有する物質は、1 n M の E C ₅₀ を有する物質よりも強力である。α 鎖、β 鎖、および γ 鎖の配列は、それぞれ配列番号327、328、および329に提供される。

【0772】

一実施形態では、I L - 2 サイトカインは、5 p M ～20 p M の範囲の E C ₅₀ を有する。一実施形態では、E C ₅₀ は、5 p M ～1 n M の範囲内である。一実施形態では、E C ₅₀ は、5 p M ～750 p M、5 p M ～500 p M、5 p M ～250 p M、または5 p m ～100 p M、例えば、5 p M ～50 p M の範囲内である。

【0773】

一実施形態では、E C ₅₀ は、10 p M ～1 n M の範囲内である。一実施形態では、E C ₅₀ は、10 p M ～750 p M、10 p M ～500 p M、10 p M ～250 p M、または10 p m ～100 p M、例えば、10 p M ～50 p M または10 p M ～30 p M の範囲内である。

【0774】

一実施形態では、E C ₅₀ は、20 p M ～1 n M の範囲内である。一実施形態では、E C ₅₀ は、20 p M ～750 p M、20 p M ～500 p M、20 p M ～250 p M、または20 p m ～100 p M、例えば、20 p M ～50 p M の範囲内である。

【0775】

別の実施形態では、I L - 2 サイトカインは、50 p M ～1 n M の範囲の E C ₅₀ を有する。一実施形態では、E C ₅₀ は、50 p M ～750 p M、50 p M ～500 p M、50 p M ～250 p M、または50 p m ～100 p M、例えば、50 p M ～75 p M の範囲内である。別の実施形態では、I L - 2 サイトカインは、100 p M ～1 n M の範囲の E

10

20

30

40

50

EC₅₀を有する。一実施形態では、EC₅₀は、100 pM～800 pM、100 pM～700 pM、100 pM～600 pM、または100 pM～500 pM、例えば、100 pM～400 pMの範囲内である。別の実施形態では、IL-2 サイトカインは、100 pM～300 pMの範囲のEC₅₀を有する。別の実施形態では、IL-2 サイトカインは、100 pM～200 pMの範囲のEC₅₀を有する。

【0776】

別の実施形態では、EC₅₀は、5 pM超である。別の実施形態では、EC₅₀は、10 pM超である。別の実施形態では、EC₅₀は、20 pM超である。別の実施形態では、EC₅₀は、30 pM超、40 pM超、50 pM超、60 pM超、または70 pM超である。別の実施形態では、EC₅₀は、100 pM超、125 pM超、150 pM超、175 pM超、または200 pM超である。別の実施形態では、EC₅₀は、250 pM超、300 pM超、350 pM超、400 pM超である。別の実施形態では、EC₅₀は、500 pM超、600 pM超、700 pM超、または800 pM超である。

【0777】

一実施形態では、EC₅₀は、5 nM未満である。一実施形態では、EC₅₀は、1 nM未満である。一実施形態では、EC₅₀は、800 pM未満である。一実施形態では、EC₅₀は、700 pM未満である。一実施形態では、EC₅₀は、600 pM未満である。一実施形態では、EC₅₀は、500 pM未満である。一実施形態では、EC₅₀は、400 pM未満である。一実施形態では、EC₅₀は、300 pM未満である。一実施形態では、EC₅₀は、200 pM未満である。一実施形態では、EC₅₀は、100 pM未満である。一実施形態では、EC₅₀は、50 pM未満である。

【0778】

αβγ IL-2 Rに対する免疫サイトカインの効力は、細胞増殖アッセイにおいて測定され得、これは当業者には周知であり、本明細書の以下の実施例においてさらに詳述される（実施例13および図12を参照されたい）。

【0779】

態様47. IL-2 サイトカインが、遊離IL-2よりも小さい効力で、例えば、細胞増殖アッセイにおいて測定した場合、例えば、1 nM超、5 nM超、または10 nM超のEC₅₀で、中親和性（βγ）IL-2 受容体に結合する、態様1～46のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0780】

遊離IL-2は、細胞増殖アッセイにおいてβγ（中親和性）受容体に対して約100 pMの効力を有する。本明細書で使用される場合、EC₅₀は、IL-2 Rの最大限の活性化の50%をもたらすための有効濃度を指す。EC₅₀が高くなるほど、物質の効力は低くなり、したがって、1 pMのEC₅₀を有する物質は、1 nMのEC₅₀を有する物質よりも強力である。α鎖、β鎖、およびγ鎖の配列は、それぞれ配列番号327、328、および329に提供される。

【0781】

一実施形態では、EC₅₀は、1～100 nMの範囲内である。一実施形態では、EC₅₀は、10 nM～100 nMの範囲内である。一実施形態では、EC₅₀は、20 nM～100 nMの範囲内である。別の実施形態では、IL-2 サイトカインは、30 nM～100 nM、40 nM～100 nM、50 nM～100 nMの範囲のEC₅₀を有する。一実施形態では、EC₅₀は、50 nM～100 nM、60 nM～100 nM、70 nM～100 nMの範囲内である。

【0782】

一実施形態では、EC₅₀は、1～50 nMの範囲内である。一実施形態では、EC₅₀は、10 nM～50 nMの範囲内である。一実施形態では、EC₅₀は、20 nM～50 nMの範囲内である。別の実施形態では、IL-2 サイトカインは、30 nM～50 nMまたは40 nM～50 nMの範囲のEC₅₀を有する。

【0783】

10

20

30

40

50

一実施形態では、 EC_{50} は、 $1 \sim 10 \text{ nM}$ の範囲内である。一実施形態では、 EC_{50} は、 $1 \sim 20 \text{ nM}$ の範囲内である。一実施形態では、 EC_{50} は、 $1 \sim 30 \text{ nM}$ の範囲内である。一実施形態では、 EC_{50} は、 $1 \text{ nM} \sim 9 \text{ nM}$ の範囲内である。一実施形態では、 EC_{50} は、 $1 \text{ nM} \sim 8 \text{ nM}$ の範囲内である。別の実施形態では、 $IL-2$ サイトカインは、 $1 \text{ nM} \sim 7 \text{ nM}$ 、 $1 \text{ nM} \sim 6 \text{ nM}$ 、または $1 \text{ nM} \sim 5 \text{ nM}$ の範囲の EC_{50} を有する。

【0784】

別の実施形態では、 EC_{50} は、 0.5 nM 超、 0.6 nM 超、 0.7 nM 超、 0.8 nM 超、または 0.9 nM 超である。別の実施形態では、 EC_{50} は、 1 nM 超、 1.25 nM 超、 1.5 nM 超、 1.75 nM 超、または 2 nM 超である。別の実施形態では、 EC_{50} は、 2.5 nM 超、 3 nM 超、 3.5 nM 超、 4 nM 超である。別の実施形態では、 EC_{50} は、 5 nM 超、 6 nM 超、 7 nM 超、または 8 nM 超である。別の実施形態では、 EC_{50} は、 1 nM 超である。

10

【0785】

一実施形態では、 EC_{50} は、 10 nM 未満である。一実施形態では、 EC_{50} は、 20 nM 未満である。一実施形態では、 EC_{50} は、 30 nM 未満である。一実施形態では、 EC_{50} は、 40 nM 未満である。一実施形態では、 EC_{50} は、 50 nM 未満である。

【0786】

一実施形態では、 EC_{50} は、 100 nM 未満である。一実施形態では、 EC_{50} は、 200 nM 未満である。一実施形態では、 EC_{50} は、 300 nM 未満である。

20

【0787】

別の実施形態では、 EC_{50} は、 75 nM 未満または 50 nM 未満である。

【0788】

一実施形態では、 $IL-2$ は、細胞増殖アッセイにおいて $\beta\gamma$ $IL-2R$ に対する検出可能な効力を示さない。

【0789】

$\beta\gamma$ $IL-2R$ に対する免疫サイトカインの効力は、細胞増殖アッセイにおいて測定され得、これは当業者には周知であり、本明細書の以下の実施例においてさらに詳述される（実施例13および図12を参照されたい）。

【0790】

態様48. $IL-2$ が、中親和性 ($\beta\gamma$) $IL-2$ 受容体よりも高親和性 ($\alpha\beta\gamma$) $IL-2$ 受容体に優先的に結合する、態様1～47のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

30

【0791】

態様49. 高親和性 ($\alpha\beta\gamma$) $IL-2$ 受容体に対する $IL-2$ の効力：中親和性 ($\beta\gamma$) $IL-2$ 受容体に対する $IL-2$ の効力の比が、少なくとも2：1である、態様48に記載の免疫サイトカイン。

【0792】

一実施形態では、この比は、少なくとも3：1である。一実施形態では、この比は、少なくとも4：1である。一実施形態では、この比は、少なくとも5：1である。一実施形態では、この比は、少なくとも7.5：1である。一実施形態では、この比は、少なくとも10：1である。一実施形態では、この比は、少なくとも12.5：1である。一実施形態では、この比は、少なくとも15：1である。一実施形態では、この比は、少なくとも17.5：1である。一実施形態では、この比は、少なくとも20：1である。

40

【0793】

別の実施形態では、この比は、少なくとも50：1である。別の実施形態では、この比は、少なくとも75：1である。別の実施形態では、この比は、少なくとも100：1である。別の実施形態では、この比は、少なくとも250：1である。別の実施形態では、この比は、少なくとも500：1である。別の実施形態では、この比は、少なくとも750：1である。別の実施形態では、この比は、少なくとも1000：1である。

【0794】

50

別の実施形態では、この比は、少なくとも1250：1である。別の実施形態では、この比は、少なくとも1500：1である。別の実施形態では、この比は、少なくとも1750：1である。別の実施形態では、この比は、少なくとも2000：1である。

【0795】

態様50. 抗原結合部位が、500 pM未満（例えば、300 pM未満または200 pM未満）の親和性でhPD-L1に結合し、任意選択で、免疫サイトカインが、少なくとも2：1の、高親和性（ $\alpha\beta\gamma$ ）受容体に対するIL-2サイトカインの効力：hPD-L1に対する抗PD-L1抗原結合部位の親和性の比を提供する、態様1～49のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0796】

一実施形態では、抗原結合部位は、200 pM未満の親和性でhPD-L1に結合する。一実施形態では、抗原結合部位は、100 pM未満または50 pM未満の親和性でhPD-L1に結合する。

【0797】

一実施形態では、抗原結合部位は、50 pM～500 pM、または75 pM～500 pM、または100 pM～500 pM、または200 pM～500 pMの親和性でhPD-L1に結合する。

【0798】

一実施形態では、抗原結合部位は、50 pM～400 pM、または50 pM～300 pM、または50 pM～200 pM、または50 pM～100 pMの親和性でhPD-L1に結合する。

【0799】

一実施形態では、抗原結合部位は、100 pM～500 pM、または100 pM～400 pM、または100 pM～300 pMの親和性でhPD-L1に結合する。

【0800】

一実施形態では、高親和性（ $\alpha\beta\gamma$ ）受容体に対するIL-2サイトカインの効力：hPD-L1に対する抗PD-L1抗原結合部位の親和性の比は、少なくとも3：1である。一実施形態では、高親和性（ $\alpha\beta\gamma$ ）受容体に対するIL-2サイトカインの効力：hPD-L1に対する抗PD-L1抗原結合部位の親和性の比は、少なくとも4：1である。一実施形態では、高親和性（ $\alpha\beta\gamma$ ）受容体に対するIL-2サイトカインの効力：hPD-L1に対する抗PD-L1抗原結合部位の親和性の比は、少なくとも5：1である。一実施形態では、高親和性（ $\alpha\beta\gamma$ ）受容体に対するIL-2サイトカインの効力：hPD-L1に対する抗PD-L1抗原結合部位の親和性の比は、少なくとも7：1である。一実施形態では、高親和性（ $\alpha\beta\gamma$ ）受容体に対するIL-2サイトカインの効力：hPD-L1に対する抗PD-L1抗原結合部位の親和性の比は、少なくとも10：1である。

【0801】

概念1～40における抗PD-L1抗体の半減期、 K_{ON} 速度、 K_{OFF} 速度、または結合特性がいずれも、本明細書に開示される免疫サイトカインについて準用される。

【0802】

態様50a. 抗原結合部位は、500 nM未満（例えば、100 nM未満、10 nM未満、または1 nM未満）の親和性でmPD-L1（配列番号325）に結合する、態様1～50のいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0803】

一実施形態では、抗原結合部位は、1 nM～500 nM、または1 nM～250 nM、または1 nM～100 nM、または1 nM～50 nMの親和性でhPD-L1に結合する。

【0804】

一実施形態では、抗原結合部位は、10 nM～500 nM、または10 nM～250 nM、または10 nM～100 nM、または1 nM～50 nM、とりわけ、10 nM～10

10

20

30

40

50

0 nMの親和性でhPD-L1 に結合する。

【0805】

一実施形態では、抗原結合部位は、100 nM～500 nM、または100 nM～400 nM、または100 nM～300 nM、または100 nM～200 nMの親和性でhPD-L1 に結合する。

【0806】

hPD-L1またはmPD-L1に対する抗原結合部位の親和性は、当業者に周知である任意の技術によって測定され得る。一実施形態では、親和性は、SPRを使用して測定され、その詳細は上記に提供される。

【0807】

態様51. 例えば、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、乳癌、卵巣癌、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、結腸直腸癌（MSIまたはマイクロサテライト不安定性を伴わない）、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（例えば、黒色腫、乳癌、卵巣癌、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、結腸直腸癌（MSIまたはマイクロサテライト不安定性を伴わない）、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫、または例えばウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）および軟部肉腫）から選択される、hPD-L1媒介性疾患または病的状態の治療または予防における使用のための、態様1～50aのいずれかに記載の免疫サイトカイン。

【0808】

態様52. ヒトにおけるhPD-L1媒介性疾患または病的状態を治療または予防するためのヒトへの投与のための医薬品の製造における、態様1～50のいずれか一項に記載の免疫サイトカインの使用であって、例えば、当該hPD-L1媒介性疾患または病的状態が、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、乳癌、卵巣癌、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、結腸直腸癌（MSIまたはマイクロサテライト不安定性を伴わない）、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（例えば、黒色腫、乳癌、卵巣癌、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、結腸直腸癌（MSIまたはマイクロサテライト不安定性を伴わない）、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫、または例えばウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）および軟部肉腫）から選択される、使用。

【0809】

態様53. ヒトにおける、例えば、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、乳癌、卵巣癌、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、結腸直腸癌（MSIまたはマイクロサテライト不安定性を伴わない）、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（例えば、黒色腫、乳癌、卵巣癌、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、結腸直腸癌（MSIまたはマイクロサテライト不安定性を伴わない）、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫、または例えばウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）および軟部肉腫）から選択される、hPD-L1媒介性疾患または病的状態を治療または予防する方法であって、治療有効量の概念1～50のいずれか一項に記載の免疫サイトカインをヒトに投与することを含み、hPD-L1媒介性疾患または病的状態が、それにより治療または予防される、方法。

【0810】

態様51～53のいずれにおいても、hPD-L1媒介性疾患は、本明細書に記載されるもののいずれかであり得る。一実施形態では、態様51～53のいずれにおいても、h

10

20

30

40

50

PD-L1 媒介性疾患は、子宮頸癌および上咽頭癌、例えば、HPV 感染によって引き起こされた子宮頸癌等のウイルス誘導性癌である。一実施形態では、態様 51～53 のいずれにおいても、hPD-L1 媒介性疾患は、慢性ウイルス感染症である。一実施形態では、態様 51～53 のいずれにおいても、hPD-L1 媒介性疾患は、腫瘍性疾患である。一実施形態では、態様 51～53 のいずれにおいても、hPD-L1 媒介性疾患は、非腫瘍性疾患である。一実施形態では、態様 51～53 のいずれにおいても、hPD-L1 媒介性疾患は、悪性腫瘍である。一実施形態では、態様 51～53 のいずれにおいても、hPD-L1 媒介性疾患は、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、暴行癌、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫等の、PD-L1 療法に対して応答性であることが知られている癌である。一実施形態では、態様 51～53 のいずれにおいても、hPD-L1 媒介性疾患は、軟部肉腫である癌である。一実施形態では、態様 51～53 のいずれにおいても、hPD-L1 媒介性疾患は、神経変性疾患、障害、または病的状態であり、任意選択で、当該神経変性疾患、障害、または病的状態が、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、ハンチントン病、一次性進行型多発性硬化症、二次性進行型多発性硬化症、大脳皮質基底核変性症、レット症候群、加齢黄斑変性および網膜色素変性症から選択される網膜変性障害、前部虚血性視神経症、緑内障、ブドウ膜炎、うつ病、外傷関連ストレスまたは心的外傷後ストレス障害、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、軽度認知障害、後皮質萎縮、原発性進行性失語および進行性核上性麻痺または加齢認知症、特に、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、およびハンチントン病から選択され、例えば、アルツハイマー病から選択される。

10

20

【0811】

態様 54. hPD-L1 媒介性疾患または病的状態が、癌である、態様 51 に記載の免疫サイトカイン、態様 52 に記載の使用、または態様 53 に記載の方法。

【0812】

態様 55. 癌が、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、非ホジキンリンパ腫、マイクロサテライト不安定性を伴う結腸直腸癌、または乳癌、卵巣癌、結腸直腸癌（MSI もしくはマイクロサテライト不安定性を伴わない）から選択される癌、特に、黒色腫および腎細胞癌である、態様 54 に記載の免疫サイトカイン、使用、または方法。

【0813】

一実施形態では、癌は、黒色腫および腎細胞癌等の、IL-2 療法および PD-L1 療法の両方に応答性であることが知られている癌である。

30

【0814】

一実施形態では、癌は、マイクロサテライト不安定性（MSI）を伴う結腸直腸癌である。一実施形態では、癌は、乳癌である。一実施形態では、癌は、卵巣癌である。

【0815】

態様 56. さらなる療法、例えば治療剤をヒトに投与することをさらに含み、任意選択で、さらなる治療剤が、

A) 他の免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗 TIM-3 抗体、抗 CTLA-4 抗体、抗 TIGIT 抗体、および抗 LAG-3 抗体）、

B) 免疫刺激剤（例えば、抗 OX40 抗体、抗 GITR 抗体、抗 CD137 抗体、抗 ICOS 抗体、および抗 CD40 抗体）、

40

C) ケモカイン受容体アンタゴニスト（例えば、CXCR4、CCR4、および CXCR2）、

D) 標的化キナーゼ阻害剤（例えば、CSF-1R もしくは VEGFR 阻害剤）、

E) 血管新生阻害剤（例えば、抗 VEGF-A もしくはデルタ様リガンド 4）、

F) 免疫刺激ペプチドもしくはケモカイン（例えば、CXCL9 もしくは CXCL10）、

G) サイトカイン（例えば、IL-15 および IL-21）、

H) CD3 に対して少なくとも 1 つの特異性を有する二重特異性 T 細胞エンゲージャー（BiTE）（例えば、CD3/CD19 BiTE）、

50

I) 他の二重特異性分子（例えば、腫瘍関連抗原を標的とするIL-15含有分子、例えば、EGFR、Her-2、New York Esophageal Cancer-1 (NY-ESO-1)、GD2、EpCAM、もしくは黒色腫瘍関連抗原-3 (MAGE-A3) などの上皮成長因子受容体）、

J) 腫瘍溶解性ウイルス（例えば、HSVウイルス（任意選択でGM-CSFを分泌する）、ニューカッスル病ウイルス、およびワクシニアウイルス）、

K) 腫瘍関連抗原（例えば、New York Esophageal Cancer-1 [NY-ESO-1]、黒色腫瘍関連抗原-3 (MAGE-3)）によるワクチン接種、

L) 細胞療法（例えば、抗CD19、抗EpCam、もしくは抗メソテリンを発現するキメラ抗原受容体T細胞 (CAR-T) 等）、

M) NKG2DもしくはCD16a等の、活性化MK受容体に対する特異性を有する二重特異性NK細胞エンゲージャー、ならびに

n) 腫瘍特異的T細胞またはLAK細胞の養子移入、からなる群から独立して選択されるか、

または任意選択で、さらなる療法が、化学療法、放射線療法、および腫瘍の外科的切除である、態様51～55のいずれか一項に記載の免疫サイトカイン、使用、または方法。

【0816】

放射線療法は、患部組織に直接、または全身のいずれかに送達される、単回線量または分割線量であり得る。

【0817】

この態様では、概念46の特徴および実施形態がいずれも準用される。

【0818】

この態様では、二重特異性分子には、「二重特異性抗体」および抗体融合タンパク質が含まれ、概念37～40に記載されるフォーマットおよび分子が含まれる。

【0819】

抗体は、構成5、5aに記載されるか、または態様1aに詳述される配列または抗体のいずれかであり得る。

【0820】

態様57、態様1～50のいずれか一項に記載の免疫サイトカインと、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体と、を含み、任意選択で、

A) 他の免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗TIM-3抗体、抗CTLA-4抗体、抗TIGIT抗体、およびLAG-3抗体）、

B) 免疫刺激剤（例えば、抗OX40抗体、抗GITR抗体、抗CD137抗体、抗ICOS抗体、および抗CD40抗体）、

C) ケモカイン受容体アンタゴニスト（例えば、CXCR4、CCR4、およびCXCR2）、

D) 標的化キナーゼ阻害剤（例えば、CSF-1RもしくはVEGFR阻害剤）、

E) 血管新生阻害剤（例えば、抗VEGF-Aもしくはデルタ様リガンド4）、

F) 免疫刺激ペプチドもしくはケモカイン（例えば、CXCL9もしくはCXCL10）、

G) サイトカイン（例えば、IL-15およびIL-21）、

H) CD3に対して少なくとも1つの特異性を有する二重特異性T細胞エンゲージャー (BiTE)（例えば、CD3/CD19 BiTE）、

I) 他の二重特異性分子（例えば、腫瘍関連抗原を標的とするIL-15含有分子、例えば、EGFR、Her-2、New York Esophageal Cancer-1 (NY-ESO-1)、GD2、EpCAM、もしくは黒色腫瘍関連抗原-3 (MAGE-A3) などの上皮成長因子受容体）、

J) 腫瘍溶解性ウイルス（例えば、HSVウイルス（任意選択でGM-CSFを分泌する）、ニューカッスル病ウイルス、およびワクシニアウイルス）、

K) 腫瘍関連抗原（例えば、New York Esophageal Cancer-

10

20

30

40

50

1 [NY-ESO-1]、黒色腫関連抗原-3 (MAGE-3) によるワクチン接種、
L) 細胞療法 (例えば、抗CD19、抗EpCam、もしくは抗メソテリンを発現するキメラ抗原受容体T細胞 (CAR-T) 等)、

M) NKG2DもしくはCD16a等の、活性化MK受容体に対する特異性を有する二重特異性NK細胞エンゲージャー、ならびに

N) 腫瘍特異的T細胞またはLAK細胞の養子移入、からなる群から独立して選択されるさらなる治療剤をさらに含む、医薬組成物。

【0821】

一実施形態では、さらなる治療剤は、免疫サイトカインと連続的または同時に投与される。

【0822】

この態様では、概念48の特徴および実施形態がいずれも準用される。

【0823】

この態様では、二重特異性分子には、「二重特異性抗体」および抗体融合タンパク質が含まれ、概念37~40に記載されるフォーマットおよび分子が含まれる。

【0824】

抗体は、構成5、5aに記載されるか、または態様1aに詳述される配列または抗体のいずれかであり得る。

【0825】

態様58. 態様57に記載の医薬組成物、または態様57に記載の医薬組成物を含むキットであって、当該組成物が、例えば、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、乳癌、卵巣癌、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌 (扁平上皮および非扁平上皮)、腎細胞癌、膀胱癌、結腸直腸癌 (MSIまたはマイクロサテライト不安定性を伴わない)、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌 (例えば子宮頸癌および上咽頭癌)、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (例えば、黒色腫、乳癌、卵巣癌、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌 (扁平上皮および非扁平上皮)、腎細胞癌、膀胱癌、結腸直腸癌 (MSIまたはマイクロサテライト不安定性を伴わない)、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫、または例えばウイルス誘導性癌 (例えば子宮頸癌および上咽頭癌) および軟部肉腫) から選択される、hPD-L1媒介性疾患または病的状態を治療または予防するためのものである、医薬組成物またはキット。

【0826】

態様59. ヒトにおける疾患または病的状態を治療および／もしくは予防に使用するためのラベルもしくは説明書と組み合わせた態様57もしくは態様58に記載の医薬組成物、またはそれを含む態様58に記載のキットであって、任意選択で、ラベルまたは説明書が、販売承認番号 (例えば、FDAまたはEMA承認番号) を含み、任意選択で、キットが、免疫サイトカインを含むIVまたは注射デバイスを含む、態様57もしくは態様58に記載の医薬組成物、または態様58に記載のキット。

【0827】

態様60. 動物 (例えば、ヒト) における増殖性疾患を治療する方法であって、有効量の態様1~50のいずれか一項に記載の免疫サイトカインを当該患者に投与することを含む、方法。

【0828】

増殖性疾患は、本明細書の他の箇所に記載されるいずれかであり得る。

【0829】

態様61. 態様1~50のいずれか一項に記載の免疫サイトカインの重鎖および／または軽鎖をコードする核酸。

【0830】

一実施形態では、核酸は、態様1~50のいずれか一項に記載の免疫サイトカインの軽鎖をコードする。

10

20

30

40

50

【0831】

態様62．態様61に記載の核酸を含むベクターであって、任意選択で、ベクターが、CHOまたはHEK293ベクターである、ベクター。

【0832】

態様63．態様61に記載の核酸または態様62に記載のベクターを含む宿主。

【0833】

4．ICOS抗体

ICOS抗体が本明細書に提供される。ICOS抗体は、英国特許出願第1620414．1号（2016年12月1日出願）に記載されるもののいずれかであり得、その中に開示される抗ICOS抗体の配列は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0834】

STIM001は、配列番号363のCDRH1アミノ酸配列、配列番号364のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号365のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号366の重鎖可変領域（V_H）アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号367である。STIM001は、配列番号370のCDRL1アミノ酸配列、配列番号371のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号372のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号373の軽鎖可変領域（V_L）アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号374である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号368（重鎖核酸配列配列番号369）である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号375（軽鎖核酸配列配列番号376）である。

【0835】

STIM002は、配列番号377のCDRH1アミノ酸配列、配列番号378のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号379のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号380の重鎖可変領域（V_H）アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号381である。STIM002は、配列番号384のCDRL1アミノ酸配列、配列番号385のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号386のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号387の軽鎖可変領域（V_L）アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号388または配列番号519である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号382（重鎖核酸配列配列番号383）である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号389（軽鎖核酸配列配列番号390または配列番号520）である。

【0836】

STIM002-Bは、配列番号391のCDRH1アミノ酸配列、配列番号392のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号393のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号394の重鎖可変領域（V_H）アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号395である。STIM002-Bは、配列番号398のCDRL1アミノ

酸配列、配列番号 399 の C D R L 2 アミノ酸配列、および配列番号 400 の C D R L 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 401 の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_L ドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 402 である。V_H ドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号 532、または配列番号 534 と組み合わせられ得る。V_L ドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および 538 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 396 (重鎖核酸配列配列番号 397) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 403 (軽鎖核酸配列配列番号 404) である。

【0837】

S T I M 0 0 3 は、配列番号 405 の C D R H 1 アミノ酸配列、配列番号 406 の C D R H 2 アミノ酸配列、および配列番号 407 の C D R H 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 408 の重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列を有する。V_H ドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 409 または配列番号 521 である。S T I M 0 0 3 は、配列番号 412 の C D R L 1 アミノ酸配列、配列番号 413 の C D R L 2 アミノ酸配列、および配列番号 414 の C D R L 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 415 の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_L ドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 4416 である。V_H ドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号 532、または配列番号 534 と組み合わせられ得る。V_L ドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および 538 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 410 (重鎖核酸配列配列番号 411 または配列番号 522) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 417 (軽鎖核酸配列配列番号 418) である。

【0838】

S T I M 0 0 4 は、配列番号 419 の C D R H 1 アミノ酸配列、配列番号 420 の C D R H 2 アミノ酸配列、および配列番号 421 の C D R H 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 422 の重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列を有する。V_H ドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 423 である。S T I M 0 0 4 は、配列番号 426 の C D R L 1 アミノ酸配列、配列番号 427 の C D R L 2 アミノ酸配列、および配列番号 428 の C D R L 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 429 の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_L ドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 430 または配列番号 431 である。V_H ドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号 532、または配列番号 534 と組み合わせられ得る。V_L ドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および 538 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 424 (重鎖核酸配列配列番号 425) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 432 (軽鎖核酸配列配列番号 433 または配列番号 434) である。

【0839】

S T I M 0 0 5 は、配列番号 435 の C D R H 1 アミノ酸配列、配列番号 436 の C D

R H 2 アミノ酸配列、および配列番号 4 3 7 の C D R H 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 4 3 8 の重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 4 3 9 である。S T I M 0 0 5 は、配列番号 4 4 2 の C D R L 1 アミノ酸配列、配列番号 4 4 3 の C D R L 2 アミノ酸配列、および配列番号 4 4 4 の C D R L 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 4 4 5 の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 4 4 6 である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 1 9 3、配列番号 1 9 5、配列番号 1 9 7、配列番号 1 9 9、配列番号 2 0 1、配列番号 2 0 3、配列番号 2 0 5、配列番号 3 4 0、配列番号 5 2 4、配列番号 5 2 6、配列番号 5 2 8、配列番号 5 3 0、配列番号 5 3 2、または配列番号 5 3 4 と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 2 0 7、2 0 9、2 1 1、2 1 3、2 1 5、2 1 7、2 1 9、2 2 1、2 2 3、2 2 5、2 2 7、2 2 9、2 3 1、2 3 3、2 3 5、2 3 7、5 3 6、および 5 3 8 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 4 4 0 (重鎖核酸配列配列番号 4 4 1) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 4 4 7 (軽鎖核酸配列配列番号 4 4 8) である。

【0840】

S T I M 0 0 6 は、配列番号 4 4 9 の C D R H 1 アミノ酸配列、配列番号 4 5 0 の C D R H 2 アミノ酸配列、および配列番号 4 5 1 の C D R H 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 4 5 2 の重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 4 5 3 である。S T I M 0 0 6 は、配列番号 4 5 6 の C D R L 1 アミノ酸配列、配列番号 4 5 7 の C D R L 2 アミノ酸配列、および配列番号 4 5 8 の C D R L 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 4 5 9 の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 4 6 0 である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 1 9 3、配列番号 1 9 5、配列番号 1 9 7、配列番号 1 9 9、配列番号 2 0 1、配列番号 2 0 3、配列番号 2 0 5、配列番号 3 4 0、配列番号 5 2 4、配列番号 5 2 6、配列番号 5 2 8、配列番号 5 3 0、配列番号 5 3 2、または配列番号 5 3 4 と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 2 0 7、2 0 9、2 1 1、2 1 3、2 1 5、2 1 7、2 1 9、2 2 1、2 2 3、2 2 5、2 2 7、2 2 9、2 3 1、2 3 3、2 3 5、2 3 7、5 3 6、および 5 3 8 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 4 5 4 (重鎖核酸配列配列番号 4 5 5) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 4 6 1 (軽鎖核酸配列配列番号 4 6 2) である。

【0841】

S T I M 0 0 7 は、配列番号 4 6 3 の C D R H 1 アミノ酸配列、配列番号 4 6 4 の C D R H 2 アミノ酸配列、および配列番号 4 6 5 の C D R H 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 4 6 6 の重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 4 6 7 である。S T I M 0 0 7 は、配列番号 4 7 0 の C D R L 1 アミノ酸配列、配列番号 4 7 1 の C D R L 2 アミノ酸配列、および配列番号 4 7 2 の C D R L 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 4 7 3 の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 4 7 4 である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 1 9 3、配列番号 1 9 5、配列番号 1 9 7、配列番号 1 9 9、配列番号 2 0 1、配列番号 2 0 3、配列番号 2 0 5、配列番号 3 4 0、配列番号 5 2 4、配列番号 5 2 6、配列番号 5 2 8、配列番号 5 3 0、配列番号 5 3 2、または配列番号 5 3 4 と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 2 0 7、2 0 9、2 1 1、2 1 3、2 1 5、2 1 7、2 1 9、2 2 1、2 2 3、2 2 5、2 2 7、2 2 9、2 3 1、2 3 3、2 3 5、2 3 7、5 3 6、および 5 3 8 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 4 6 8 (重鎖核酸配列配列番号 4 6 9) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 4 7 5 (軽鎖核酸配列配列番号 4 7 6) である。

【0842】

STIM008は、配列番号477のCDRH1アミノ酸配列、配列番号478のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号479のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号480の重鎖可変領域(V_H)アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号481である。STIM008は、配列番号484のCDRL1アミノ酸配列、配列番号485のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号486のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号487の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号488である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号482(重鎖核酸配列配列番号483)である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号489(軽鎖核酸配列配列番号490)である。

【0843】

STIM009は、配列番号491のCDRH1アミノ酸配列、配列番号492のCDRH2アミノ酸配列、および配列番号493のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号494の重鎖可変領域(V_H)アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号495である。STIM009は、配列番号498のCDRL1アミノ酸配列、配列番号499のCDRL2アミノ酸配列、および配列番号500のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号501の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号502である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、または配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、および538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号496(重鎖核酸配列配列番号497)である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号503(軽鎖核酸配列配列番号504)である。

【0844】

抗体STIM001-009は、英国特許出願第1620414.1号(2016年12月1日出願)により詳細に記載されており、その内容は、参照により本明細書に組み込まれる。ICOS抗体はまた、以下の番号付けされた文に記載される通りであり得る。文1. ヒトおよび/またはマウスICOSの細胞外ドメインに結合する単離された抗体であって、

相補性決定領域(CDR)、HCDR1、HCDR2、およびHCDR3を含む抗体V_Hドメインと、

相補性決定領域LCDR1、LCDR2、およびLCDR3を含む抗体V_Lドメインと、を含み、

HCDR1が、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009のHCDR1であるか、または1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するそのHCDR1を含み、

HCDR2が、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009のHCDR2であるか、または1、2、3、4、もしくは

5個のアミノ酸改変を有するそのHCDR2を含み、／または

HCDR3が、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009のHCDR3であるか、または1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するそのHCDR3を含む、単離された抗体。

【0845】

文2．抗体重鎖CDRが、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009のものであるか、または1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するSTIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009重鎖CDRを含む、文1に記載の抗体。

10

【0846】

文3．抗体V_Hドメインが、STIM003の重鎖CDRを有する、文2に記載の抗体。

【0847】

文4．ヒトおよび／またはマウスICOSの細胞外ドメインに結合する単離された抗体であって、

相補性決定領域HCDR1、HCDR2、およびHCDR3を含む抗体V_Hドメインと、相補性決定領域LCDR1、LCDR2、およびLCDR3を含む抗体V_Lドメインと、を含み、

20

LCDR1が、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009のLCDR1であるか、または1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するそのLCDR1を含み、

LCDR2が、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009のLCDR2であるか、または1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するそのLCDR2を含み、／または

LCDR3が、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009のLCDR3であるか、または1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するそのLCDR3を含む、単離された抗体。

30

【0848】

文5．抗体軽鎖CDRが、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009のものであるか、または1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するSTIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009軽鎖CDRを含む、文1～4のいずれかに記載の抗体。

40

【0849】

文6．抗体V_Lドメインが、STIM003の軽鎖CDRを有する、文5に記載の抗体。

【0850】

文7．ヒト生殖細胞系遺伝子セグメント配列のV_Hおよび／またはV_Lドメインフレームワーク領域を含む、文1～6のいずれかに記載の抗体。

【0851】

文8．

(i) ヒト重鎖V遺伝子セグメント、ヒト重鎖D遺伝子セグメント、およびヒト重鎖J遺伝子セグメントの組換えに由来するV_Hドメインであって、

Vセグメントが、IGHV1-18（例えば、V1-18*01）、IGHV3-2

50

0 (例えば、V3-20*d01)、IGHV3-11 (例えば、V3-11*01)、もしくはIGHV2-5 (例えば、V2-5*10)であり、

D遺伝子セグメントが、IGHD6-19 (例えば、IGHD6-19*01)、IGHD3-10 (例えば、IGHD3-10*01)、もしくはIGHD3-9 (例えば、IGHD3-9*01)であり、及び／又は

J遺伝子セグメントが、IGHJ6 (例えば、IGHJ6*02)、IGHJ4 (例えば、IGHJ4*02)、もしくはIGHJ3 (例えば、IGHJ3*02)である、V_Hドメイン、あるいは

(ii) フレームワーク領域FR1、FR2、FR3、およびFR4を含むV_Hドメインであって、

FR1が、任意選択で、1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGHV1-18 (例えば、V1-18*01)、IGHV3-20 (例えば、V3-20*d01)、IGHV3-11 (例えば、V3-11*01)、もしくはIGHV2-5 (例えば、V2-5*10)と整列し、

FR2が、任意選択で、1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGHV1-18 (例えば、V1-18*01)、IGHV3-20 (例えば、V3-20*d01)、IGHV3-11 (例えば、V3-11*01)、もしくはIGHV2-5 (例えば、V2-5*10)と整列し、

FR3が、任意選択で、1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGHV1-18 (例えば、V1-18*01)、IGHV3-20 (例えば、V3-20*d01)、IGHV3-11 (例えば、V3-11*01)、もしくはIGHV2-5 (例えば、V2-5*10)と整列し、及び／又は

FR4が、任意選択で、1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGHJ6 (例えば、JH6*02)、IGHJ4 (例えば、JH4*02)、もしくはIGHJ3 (例えば、JH3*02)と整列する、V_Hドメインを含む、文1～7のいずれかに記載の抗体。

【0852】

文9.

(i) ヒト軽鎖V遺伝子セグメントおよびヒト軽鎖J遺伝子セグメントの組換えに由来する抗体V_Lドメインであって、

Vセグメントが、IGKV2-28 (例えば、IGKV2-28*01)、IGKV3-20 (例えば、IGKV3-20*01)、IGKV1D-39 (例えば、IGKV1D-39*01)、もしくはIGKV3-11 (例えば、IGKV3-11*01)であり、及び／又は

J遺伝子セグメントが、IGKJ4 (例えば、IGKJ4*01)、IGKJ2 (例えば、IGKJ2*04)、IGLJ3 (例えば、IGKJ3*01)、もしくはIGKJ1 (例えば、IGKJ1*01)である、抗体V_Lドメイン、あるいは

(ii) フレームワーク領域FR1、FR2、FR3、およびFR4を含む抗体V_Lドメインであって、

FR1が、任意選択で、1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGKV2-28 (例えば、IGKV2-28*01)、IGKV3-20 (例えば、IGKV3-20*01)、IGKV1D-39 (例えば、IGKV1D-39*01)、もしくはIGKV3-11 (例えば、IGKV3-11*01)と整列し、

FR2が、任意選択で、1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGKV2-28 (例えば、IGKV2-28*01)、IGKV3-20 (例えば、IGKV3-20*01)、IGKV1D-39 (例えば、IGKV1D-39*01)、もしくはIGKV3-11 (例えば、IGKV3-11*01)と整列し、

FR3が、任意選択で、1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するヒト

10

20

30

40

50

生殖細胞系V遺伝子セグメントIGKV2-28（例えば、IGKV2-28*01）、IGKV3-20（例えば、IGKV3-20*01）、IGKV1D-39（例えば、IGKV1D-39*01）、もしくはIGKV3-11（例えば、IGKV3-11*01）と整列し、及び／又は

FR4が、任意選択で、1、2、3、4、もしくは5個のアミノ酸改変を有するヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGKJ4（例えば、IGKJ4*01）、IGKJ2（例えば、IGKJ2*04）、IGKJ3（例えば、IGKJ3*01）、もしくはIGKJ1（例えば、IGKJ1*01）と整列する、抗体VLドメインを含む、文1～8のいずれかに記載の抗体。

【0853】

文10. STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009のVHドメインであるか、またはSTIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009の抗体VHドメイン配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を有する、抗体VHドメインを含む、文1～9のいずれかに記載の抗体。

【0854】

文11. STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009のVLドメインであるか、またはSTIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009の抗体VLドメイン配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を有する、抗体VLドメインを含む、文1～10のいずれかに記載の抗体。

【0855】

文12.

STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009のVHドメインから選択されるか、またはSTIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、もしくはSTIM009の抗体VHドメイン配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を有する、抗体VHドメインと、

当該選択された抗体のVLドメインであるか、または当該選択された抗体の抗体VLドメインと少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を有する、抗体VLドメインと、を含む、文11に記載の抗体。

【0856】

文13. STIM003 VHドメインおよびSTIM003 VLドメインを含む、文12に記載の抗体。

【0857】

文14. 抗体定常領域を含む、文1～13のいずれかに記載の抗体。

【0858】

文15. 定常領域が、ヒト重鎖および／または軽鎖定常領域を含む、文14に記載の抗体。

【0859】

文16. 定常領域が、Fcエフェクター陽性である、文14または文15に記載の抗体。

【0860】

文17. 天然ヒトFc領域と比較して増強したADCC、ADCP、および／またはCDC機能を有するFc領域を含む、文16に記載の抗体。

【0861】

10

20

30

40

50

- 文18．抗体が、IgG1である、文14～17のいずれかに記載の抗体。
【0862】
- 文19．抗体が、フコシル化されていない、文17または文18に記載の抗体。
【0863】
- 文20．細胞傷害性薬物またはプロドラッグとコンジュゲートされている、文1～19のいずれかに記載の抗体。
【0864】
- 文21．多重特異性抗体である、文1～20のいずれかに記載の抗体。
【0865】
- 文22．ヒトICOSへの結合についてSTIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、またはSTIM009の重鎖および軽鎖相補性決定領域を含むヒトIgG1抗体と競合する、単離された抗体。
【0866】
- 文23．表面プラズモン共鳴によって判定した場合、50nM未満の親和性(KD)でヒトおよびマウスICOSの細胞外ドメインに結合する、単離された抗体。
【0867】
- 文24．抗体が、表面プラズモン共鳴によって判定した場合、5nM未満の親和性(KD)でヒトおよびマウスICOSの細胞外ドメインに結合する、文23に記載の抗体。
【0868】
- 文25．ヒトICOSの細胞外ドメインに結合するKDが、マウスICOSの細胞外ドメインに結合するKDの10倍以内である、文23または文24に記載の抗体。
【0869】
- 文26．文1～25のいずれかに記載の単離された抗体と、薬学的に許容される賦形剤と、を含む、組成物。
【0870】
- 文27．文1～25のいずれかに記載の抗体をコードする単離された核酸と、薬学的に許容される賦形剤と、を含む、組成物。
【0871】
- 文28．患者において制御性T細胞を枯渇させ、及び／又はエフェクターT細胞応答を増加させる方法であって、文26に記載の組成物を患者に投与することを含む、方法。
【0872】
- 文29．患者において制御性T細胞を枯渇させ、及び／又はエフェクターT細胞応答を増加させることによって療法を受けることができる疾患または病的状態を治療する方法であって、文26に記載の組成物を患者に投与することを含む、方法。
【0873】
- 文30．療法によるヒトの身体の治療方法における使用のための、文26に記載の組成物。
【0874】
- 文31．患者における制御性T細胞の枯渇および／またはエフェクターT細胞応答の増加における使用のための、文30に記載の使用のための組成物。
【0875】
- 文32．患者における制御性T細胞の枯渇および／またはエフェクターT細胞応答の増加による療法を受けることができる疾患または病的状態の治療における使用のための、文30に記載の使用のための組成物。
【0876】
- 文33．疾患が、癌または固形腫瘍である、文29に記載の方法、または文32に記載の使用のための組成物。
【0877】
- 文34．当該方法が、抗体および別の療法剤を患者に投与することを含む、文29～3

10

20

30

40

50

3のいずれかに記載の方法、または使用のための組成物。

【0878】

文35．療法剤が、抗PD-L1抗体である、文34に記載の方法、または使用のための組成物。

【0879】

文36．抗ICOS抗体および抗PD-L1抗体が、ADCC、ADCP、および／またはCDCを各々媒介することができる、文35に記載の方法、または使用のための組成物。

【0880】

文37．抗ICOS抗体が、ヒトIgG1抗体であり、抗PD-L1抗体が、ヒトIgG1抗体である、文35に記載の方法、または使用のための組成物。

10

【0881】

文38．他の療法剤が、IL-2である、文34に記載の方法、または使用のための組成物。

【0882】

文39．当該方法が、他の療法剤を投与した後に抗ICOS抗体を投与することを含む、文34～38のいずれかに記載の方法、または使用のための組成物。

【0883】

文40．

抗ICOS抗体が、プロドラッグとコンジュゲートされ、

当該方法または使用が、

抗ICOS抗体を患者に投与することと、

標的組織部位でプロドラッグを選択的に活性化させることと、を含む、文28～39のいずれかに記載の方法、または使用のための組成物。

20

【0884】

文41．患者が、固形腫瘍を有し、当該方法が、腫瘍においてプロドラッグを選択的に活性化させることを含む、文40に記載の方法、または使用のための組成物。

【0885】

文42．光活性化によってプロドラッグを選択的に活性化させることを含む、文40または文41に記載の方法、または使用のための組成物。

【0886】

文43．癌を治療する方法における使用のための、抗ICOSヒトIgG1抗体と抗PD-L1ヒトIgG1抗体との組み合わせ。

30

【0887】

文44．抗ICOS抗体および抗PD-L1抗体が、投与のために別々の組成物で提供される、文43に記載の組み合わせ。

【0888】

文45．ヒトIgG1定常領域が、添付の配列表に示される野生型アミノ酸配列を有する、文37に記載の使用のための方法もしくは組成物、または文43もしくは文44に記載の組み合わせ。

【0889】

文46．患者におけるICOS陽性制御性T細胞の急上昇を低減または逆転させる方法における使用のための抗ICOS抗体であって、当該急上昇が、別の療法剤での患者の治療から生じる、抗ICOS抗体。

40

【0890】

文47．患者を治療する方法であって、当該方法が、患者におけるICOS陽性制御性T細胞の急上昇を低減または逆転させることを含み、当該急上昇が、別の療法剤での患者の治療から生じる、方法。

【0891】

文48．患者を治療する方法における使用のための抗ICOS抗体であって、当該方法が、抗ICOS抗体を、別の療法剤での治療後に増加したレベルICOS陽性制御性T細胞

50

胞を有する患者に投与することを含む、抗ICOS抗体。

【0892】

文49．患者を治療する方法であって、抗ICOS抗体を、別の療法剤での治療後に増加したレベルのICOS陽性制御性T細胞を有する患者に投与することを含む、方法。

【0893】

文50．当該方法は、療法剤を患者に投与することと、当該患者が当該薬剤での治療後に増加したレベルのICOS陽性制御性T細胞を有すると判定することと、抗ICOS抗体を患者に投与して制御性T細胞のレベルを低減させることと、を含む、文46もしくは文48に記載の使用のための抗ICOS抗体、または文47もしくは文49に記載の方法。

【0894】

文51．療法剤が、IL-2または免疫調節抗体（例えば、抗PD-L1、抗PD-1、または抗CTLA-4）である、文46～50のいずれかに使用または方法のための抗ICOS抗体。

【0895】

文52．当該方法が、腫瘍、例えば、転移性黒色腫等の黒色腫を治療することを含む、文46～51のいずれかに記載の使用のための抗ICOS抗体または方法。

【0896】

文53．患者における癌を、患者に自身の癌細胞に対するインビボのワクチン接種を行うことによって治療する方法における使用のための抗ICOS抗体であって、当該方法が、抗原特異的エフェクターT細胞に対する抗原の提示をもたらす、癌細胞の免疫学的細胞死を引き起こす療法によって患者を治療することと、

抗ICOS抗体を患者に投与することであって、抗ICOS抗体が、抗原特異的エフェクターT細胞応答を増強する、投与することと、を含む、抗ICOS抗体。

【0897】

文54．患者における癌を、患者に自身の癌細胞に対するインビボのワクチン接種を行うことによって治療する方法であって、当該方法が、

抗原特異的エフェクターT細胞に対する抗原の提示をもたらす、癌細胞の免疫学的細胞死を引き起こす療法によって患者を治療することと、

抗ICOS抗体を患者に投与することであって、抗ICOS抗体が、抗原特異的エフェクターT細胞応答を増強する、投与することと、を含む、方法。

【0898】

文55．患者における癌を、患者に自身の癌細胞に対するインビボのワクチン接種を行うことによって治療する方法であって、当該方法が、抗ICOS抗体を患者に投与することを含み、

患者が、抗原特異的エフェクターT細胞に対する抗原の提示をもたらす、癌細胞の免疫学的細胞死を引き起こす療法によって以前に治療されている患者であり、

抗ICOS抗体が、抗原特異的エフェクターT細胞応答を増強する、方法。

【0899】

文56．免疫学的細胞死を引き起こす療法が、癌細胞の放射線照射、化学療法剤の投与、および／または腫瘍関連抗原に対する抗体の投与である、文53～55のいずれかに記載の使用のための抗ICOS抗体または方法。

【0900】

文57．化学療法剤が、オキサリプラチンである、文56に記載の使用のための抗ICOS抗体または方法。

【0901】

文58．腫瘍関連抗原が、HER2またはCD20である、文56に記載の使用のための抗ICOS抗体または方法。

【0902】

文59．当該方法が、抗体およびワクチン組成物を患者に投与することを含む、患者にワクチン接種する方法における使用のための抗ICOS抗体。

10

20

30

40

50

【0903】

文60．抗ICOS抗体およびワクチン組成物を患者に投与することを含む、患者にワクチン接種する方法。

【0904】

文61．ワクチン組成物が、B型肝炎、マラリア、またはHIVに対するワクチンである、文59に記載の使用のための抗ICOS抗体、または文60に記載の方法。

【0905】

文62．癌が、ICOSリガンドおよび／またはFOXP3の発現について陽性であると特徴付けられるか、または特徴付けられている、患者の癌を治療する方法における使用のための抗ICOS抗体。

10

【0906】

文63．癌が、ICOSリガンドおよび／またはFOXP3の発現について陽性であると特徴付けられるか、または特徴付けられており、当該方法が、抗ICOS抗体を患者に投与することを含む、患者の癌を治療する方法。

【0907】

文64．当該方法が、
患者からの試料を試験して、癌が、ICOSリガンドおよび／またはFOXP3を発現することを判定することと、

患者を抗ICOS抗体による治療のために選択することと、
抗ICOS抗体を患者に投与することと、を含む、文62に記載の使用のための抗ICOS抗体、または文63に記載の方法。

20

【0908】

文65．当該方法が、抗ICOS抗体を、癌がICOSリガンドおよび／またはFOXP3の発現について陽性であることを示した試験試料の患者に投与することを含む、文62に記載の使用のための抗ICOS抗体、または文63に記載の方法。

【0909】

文66．試料が、固形腫瘍の生検試料である、文64または文65に記載の使用のための抗ICOS抗体または方法。

【0910】

文67．癌が、免疫腫瘍学的薬物、例えば、抗CTLA-4抗体、抗PD1抗体、抗PD-L1抗体、抗CD137抗体、または抗GITR抗体での治療に対して難治性であると特徴付けられるか、または特徴付けられている、患者の癌を治療する方法における使用のための抗ICOS抗体。

30

【0911】

文68．患者の癌を治療する方法であって、癌が、免疫腫瘍学的薬物、例えば、抗CTLA-4抗体、抗PD1抗体、抗PD-L1抗体、抗CD137抗体、または抗GITR抗体での治療に対して難治性であると特徴付けられるか、または特徴付けられており、当該方法が、抗ICOS抗体を患者に投与することを含む、方法。

【0912】

文69．当該方法が、
患者を免疫腫瘍学的薬物で治療することと、
癌がその薬物に応答しないことを判定することと、
患者を抗ICOS抗体による治療のために選択することと、
抗ICOS抗体を患者に投与することと、を含む、文67に記載の使用のための抗ICOS抗体、または文68に記載の方法。

40

【0913】

文70．当該方法が、抗ICOS抗体を、癌が免疫腫瘍学的薬物での前治療に応答しなかった患者に投与することを含む、文67に記載の使用のための抗ICOS抗体、または文68に記載の方法。

【0914】

50

文 7 1 . 癌が、I C O S リガンドを発現する能力を獲得した細胞に由来する腫瘍である、文 6 2 ～ 7 0 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体または方法。

【 0 9 1 5 】

文 7 2 . 癌が、黒色腫である、文 7 1 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体または方法。

【 0 9 1 6 】

文 7 3 . 癌が、B リンパ球（例えば、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫等の B 細胞リンパ腫）または T リンパ球等の抗原提示細胞に由来する、文 6 2 ～ 7 0 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体または方法。

【 0 9 1 7 】

文 7 4 . 癌が、抗 C D 2 0 抗体による治療に耐性である、文 6 2 ～ 7 0 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体または方法。

10

【 0 9 1 8 】

文 7 5 . 癌が、B 細胞リンパ腫である、文 7 4 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体または方法。

【 0 9 1 9 】

文 7 6 . 抗 C D 2 0 抗体が、リツキシマブである、文 7 5 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体または方法。

【 0 9 2 0 】

文 7 7 . 当該方法が、抗 C D 2 0 抗体で患者を治療することと、
癌が抗 C D 2 0 抗体に応答しないことを判定することと、
患者からの試料を試験して、癌が、I C O S リガンドを発現することを判定することと、
患者を抗 I C O S 抗体による治療のために選択することと、
抗 I C O S 抗体を患者に投与することと、を含む、文 7 4 ～ 7 6 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体または方法。

20

【 0 9 2 1 】

文 7 8 . 当該方法が、抗 I C O S 抗体を、癌が抗 C D - 2 0 抗体での前治療に応答しなかった患者に投与することを含む、文 7 4 ～ 7 6 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体または方法。

【 0 9 2 2 】

文 7 9 . 癌が、固形腫瘍である、文 5 2 ～ 7 8 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体または方法。

30

【 0 9 2 3 】

文 8 0 . 癌が、血液学的液体腫瘍である、文 5 2 ～ 7 8 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体または方法。

【 0 9 2 4 】

文 8 1 . 腫瘍が、制御性 T 細胞に富む、文 7 9 または 8 0 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体または方法。

【 0 9 2 5 】

文 8 2 . 抗 I C O S 抗体が、文 1 ～ 2 5 のいずれかに記載される通りであるか、または文 2 6 に記載される組成物中に提供される、文 4 3 ～ 8 1 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体または方法。

40

【 0 9 2 6 】

文 8 3 . ヒト可変領域遺伝子セグメントをコードするヒトまたはヒト化免疫グロブリン遺伝子座を含むゲノムを有するトランスジェニック非ヒト哺乳動物であって、当該哺乳動物が、I C O S を発現しない、トランスジェニック非ヒト哺乳動物。

【 0 9 2 7 】

文 8 4 . ヒトおよび非ヒト I C O S の細胞外ドメインに結合する抗体を産生する方法であって、

(a) 文 8 3 に記載の哺乳動物をヒト I C O S 抗原で免疫付与することと、

(b) 哺乳動物によって生成された抗体を単離することと、

50

(c) ヒトICOSおよび非ヒトICOSに結合する能力について抗体を試験することと、

(d) ヒトおよび非ヒトICOSの両方に結合する1つ以上の抗体を選択することと、を含む、方法。

【0928】

文85．哺乳動物を、ヒトICOSを発現する細胞で免疫付与することを含む、文84に記載の方法。

【0929】

文86．

(c) 表面プラズモン共鳴を使用してヒトICOSおよび非ヒトICOSに結合する能力について抗体を試験し、結合親和性を判定することと、

(d) ヒトICOSに対する結合のKDが50nM未満であり、非ヒトICOSに対する結合のKDが500nM未満である1つ以上の抗体を選択することと、を含む、文84または文85に記載の方法。

【0930】

文87．

(d) ヒトICOSに対する結合のKDが10nM未満であり、非ヒトICOSに対する結合のKDが100nM未満である1つ以上の抗体を選択することと、を含む、文86に記載の方法。

【0931】

文88．

(c) 表面プラズモン共鳴を使用してヒトICOSおよび非ヒトICOSに結合する能力について抗体を試験し、結合親和性を判定することと、

(d) ヒトICOSに対する結合のKDが、非ヒトICOSに対する結合のKDの10倍以内である1つ以上の抗体を選択することと、を含む、文84～87のいずれかに記載の方法。

【0932】

文89．

(d) ヒトICOSに対する結合のKDが、非ヒトICOSに対する結合のKDの5倍以内である1つ以上の抗体を選択することと、を含む、文88に記載の方法。

【0933】

文90．哺乳動物と同じ種からの非ヒトICOSに結合する能力について抗体を試験することを含む、文84～89のいずれかに記載の方法。

【0934】

文91．哺乳動物とは異なる種からの非ヒトICOSに結合する能力について抗体を試験することを含む、文84～90のいずれかに記載の方法。

【0935】

文92．哺乳動物が、マウスまたはラットである、文84～91のいずれかに記載の方法。

【0936】

文93．非ヒトICOSが、マウスICOSまたはラットICOSである、文84～92のいずれかに記載の方法。

【0937】

文94．ヒトまたはヒト化免疫グロブリン遺伝子座が、内因性定常領域の上流にヒト可変領域遺伝子セグメントを含む、文84～93のいずれかに記載の方法。

【0938】

文95．

(a) 文83に記載の哺乳動物をヒトICOS抗原で免疫付与することであって、当該哺乳動物が、マウスである、免疫付与することと、

(b) マウスによって生成された抗体を単離することと、

10

20

30

40

50

(c) ヒトICOSおよびマウスICOSに結合する能力について抗体を試験することと、
(d) ヒトおよびマウスICOSの両方に結合する1つ以上の抗体を選択することと、を
含む、文94に記載の方法。

【0939】

文96. 抗体重鎖可変ドメインおよび／または抗体軽鎖可変ドメインをコードする核酸
を単離することを含む、文84～95のいずれかに記載の方法。

【0940】

文97. 哺乳動物が、ヒト可変領域遺伝子セグメントおよび内因性定常領域の組換えに
よって抗体を生成する、文84～96のいずれかに記載の方法。

【0941】

文98. 重鎖および／または軽鎖可変ドメインをコードする核酸を、ヒト重鎖定常領域
および／またはヒト軽鎖定常領域とそれぞれコンジュゲートすることを含む、文96 また
は文97に記載の方法。

【0942】

文99. 核酸を宿主細胞に導入することを含む、文96～98のいずれかに記載の方法。

【0943】

文100. 抗体、または抗体重鎖および／もしくは軽鎖可変ドメインの発現のための条
件下で宿主細胞を培養することを含む、文99に記載の方法。

【0944】

文101. 文84～100のいずれかに記載の方法によって産生された、抗体、または
抗体重鎖および／もしくは軽鎖可変ドメイン。

【0945】

文102. 任意選択で、ICOSアゴニスト抗体を選択するために、ICOSに結合す
る抗体を選択する方法であって、アッセイが、

試験ウェル中で基質に固定化（結合または接着）された抗体のアレイを提供することと、
試験ウェルに、ICOS発現細胞（例えば、活性化初代T細胞またはMJ細胞）を添加
することと、

細胞の形態を観察することと、

ウェル内での、丸い形状から基質に対して平坦化された形状への形状変化を検出するこ
とであって、形状変化は、抗体が、ICOSに結合する抗体、任意選択でICOSアゴニ
スト抗体であることを示す、検出することと、

試験ウェルから抗体を選択することと、
選択された抗体のCDRをコードする核酸を発現することと、
抗体を、1つ以上の追加の成分を含む組成物中に製剤化することと、を含む、方法。

【0946】

抗ICOS抗体を説明する代替的な文がいかに記載される。

文1a. ヒトICOS（hICOS）（配列番号508、507、および／または506
）に特異的に結合し、

a) 当該hICOSへの結合について抗体STIM001と競合し、抗体または断片が
、配列番号365のCDRH3配列、または3、2、もしくは1個のアミノ酸置換（複数
可）を含む配列番号365のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含み、

b) 当該hICOSへの結合について抗体STIM002と競合し、抗体または断片が
、配列番号379のCDRH3配列、または3、2、もしくは1個のアミノ酸置換（複数
可）を含む配列番号379のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含み、

c) 当該hICOSへの結合について抗体STIM002-Bと競合し、抗体または断
片が、配列番号393のCDRH3配列、または3、2、もしくは1個のアミノ酸置換（
複数可）を含む配列番号393のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含み、

d) 当該hICOSへの結合について抗体STIM003と競合し、抗体または断片が
、配列番号407のCDRH3配列、または3、2、もしくは1個のアミノ酸置換（複数
可）を含む配列番号407のCDRH3配列を含むV_Hドメインを含み、

10

20

30

40

50

e) 当該h I C O Sへの結合について抗体S T I M 0 0 4と競合し、抗体または断片が、配列番号4 2 1のC D R H 3配列、または3、2、もしくは1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号4 2 1のC D R H 3配列を含むV_Hドメインを含み、

f) 当該h I C O Sへの結合について抗体S T I M 0 0 5と競合し、抗体または断片が、配列番号4 3 7のC D R H 3配列、または3、2、もしくは1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号4 3 7のC D R H 3配列を含むV_Hドメインを含み、

g) 当該h I C O Sへの結合について抗体S T I M 0 0 6と競合し、抗体または断片が、配列番号4 5 1のC D R H 3配列、または3、2、もしくは1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号4 5 1のC D R H 3配列を含むV_Hドメインを含み、

h) 当該h I C O Sへの結合について抗体S T I M 0 0 7と競合し、抗体または断片が、配列番号4 6 5のC D R H 3配列、または3、2、もしくは1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号4 6 5のC D R H 3配列を含むV_Hドメインを含み、

i) 当該h I C O Sへの結合について抗体S T I M 0 0 8と競合し、抗体または断片が、配列番号4 7 9のC D R H 3配列、または3、2、もしくは1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号4 7 9のC D R H 3配列を含むV_Hドメインを含むか、または

j) 当該h I C O Sへの結合について抗体S T I M 0 0 9と競合し、抗体または断片が、配列番号4 9 3のC D R H 3配列、または3、2、もしくは1個のアミノ酸置換（複数可）を含む配列番号4 9 3のC D R H 3配列を含むV_Hドメインを含む、抗体またはその断片。

【0947】

文2 a. V_Hドメインが、

a) 配列番号3 6 3のC D R H 1配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号3 6 3のC D R H 1配列、

b) 配列番号3 7 7のC D R H 1配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号3 7 7のC D R H 1配列、

c) 配列番号3 9 1のC D R H 1配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号3 9 1のC D R H 1配列、

d) 配列番号4 0 5のC D R H 1配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号4 0 5のC D R H 1配列、

e) 配列番号4 1 9のC D R H 1配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号4 1 9のC D R H 1配列、

f) 配列番号4 3 5のC D R H 1配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号4 3 5のC D R H 1配列、

g) 配列番号4 4 9のC D R H 1配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号4 4 9のC D R H 1配列、

h) 配列番号4 6 3のC D R H 1配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号4 6 3のC D R H 1配列、または

i) 配列番号4 7 7のC D R H 1配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号4 7 7のC D R H 1配列、

j) 配列番号4 9 1のC D R H 1配列、または1個のアミノ酸置換を含有する配列番号4 9 1のC D R H 1配列、を含む、文1 aに記載の抗体またはその断片。

【0948】

文3 a. V_Hドメインが、

a) 配列番号3 6 4のC D R H 2配列、または2もしくは1個のアミノ酸置換を含有する配列番号3 6 4のC D R H 2配列、

b) 配列番号3 7 8のC D R H 2配列、または2もしくは1個のアミノ酸置換を含有する配列番号3 7 8のC D R H 2配列、

c) 配列番号3 9 2のC D R H 2配列、または2もしくは1個のアミノ酸置換を含有する配列番号3 9 2のC D R H 2配列、

d) 配列番号4 0 6のC D R H 2配列、または2もしくは1個のアミノ酸置換を含有す

10

20

30

40

50

る配列番号 406 の CDRH2 配列、

e) 配列番号 420 の CDRH2 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 420 の CDRH2 配列、

f) 配列番号 436 の CDRH2 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 436 の CDRH2 配列、

g) 配列番号 450 の CDRH2 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 450 の CDRH2 配列、

h) 配列番号 464 の CDRH2 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 464 の CDRH2 配列、

i) 配列番号 478 の CDRH2 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 478 の CDRH2 配列、または

j) 配列番号 492 の CDRH2 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 492 の CDRH2 配列を含む、文 1 a または文 2 a に記載の抗体またはその断片。

【0949】

文 4 a. V_Hドメインが、

a) 配列番号 366 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 366 と少なくとも 98% 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列、

b) 配列番号 380 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 380 と少なくとも 98% 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列、

c) 配列番号 394 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 394 と少なくとも 98% 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列、

d) 配列番号 408 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 408 と少なくとも 98% 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列、

e) 配列番号 422 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 422 と少なくとも 98% 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列、

f) 配列番号 438 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 438 と少なくとも 98% 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列、

g) 配列番号 452 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 452 と少なくとも 98% 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列、

h) 配列番号 466 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 466 と少なくとも 98% 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列、

i) 配列番号 480 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 480 と少なくとも 98% 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列、または

j) 配列番号 494 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 494 と少なくとも 98% 同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、文 1 a ~ 3 a のいずれか一項に記載の抗体またはその断片。

【0950】

文 5 a. V_Hドメインの第 1 および第 2 のコピーを含む、文 1 a ~ 4 a のいずれかに記載の抗体または断片。

【0951】

文 6 a.

a) 配列番号 370 の CDR L1 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 370 の CDR L1 配列、

b) 配列番号 384 の CDR L1 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 384 の CDR L1 配列、

c) 配列番号 398 の CDR L1 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 398 の CDR L1 配列、

d) 配列番号 412 の CDR L1 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 412 の CDR L1 配列、

10

20

30

40

50

e) 配列番号 4 2 6 の C D R L 1 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 2 6 の C D R L 1 配列、

f) 配列番号 4 4 2 の C D R L 1 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 4 2 の C D R L 1 配列、

g) 配列番号 4 5 6 の C D R L 1 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 5 6 の C D R L 1 配列、

h) 配列番号 4 7 0 の C D R L 1 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 7 0 の C D R L 1 配列、または

i) 配列番号 4 8 4 の C D R L 1 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 8 4 の C D R L 1 配列、

j) 配列番号 4 9 8 の C D R L 1 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 9 8 の C D R L 1 配列、を含む V_L ドメインを含む、文 1 a ~ 5 a のいずれか一項に記載の抗体またはその断片。

【0952】

文 7 a .

a) 配列番号 3 7 1 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 3 7 1 の C D R L 2 配列、

b) 配列番号 3 8 5 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 3 8 5 の C D R L 2 配列、

c) 配列番号 3 9 9 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 3 9 9 の C D R L 2 配列、

d) 配列番号 4 1 3 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 1 3 の C D R L 2 配列、

e) 配列番号 4 2 7 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 2 7 の C D R L 2 配列、

f) 配列番号 4 4 3 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 4 3 の C D R L 2 配列、

g) 配列番号 4 5 7 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 5 7 の C D R L 2 配列、

h) 配列番号 4 7 1 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 7 1 の C D R L 2 配列、

i) 配列番号 4 8 5 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 8 5 の C D R L 2 配列、または

j) 配列番号 4 9 9 の C D R L 2 配列、または 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 9 9 の C D R L 2 配列、を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、文 1 a ~ 文 6 a のいずれか一項に記載の抗体またはその断片。

【0953】

文 8 a .

a) 配列番号 3 7 2 の C D R L 3 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 3 7 2 の C D R L 3 配列、

b) 配列番号 3 8 6 の C D R L 3 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 3 8 6 の C D R L 3 配列、

c) 配列番号 4 0 0 の C D R L 3 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 0 0 の C D R L 3 配列、

d) 配列番号 4 1 4 の C D R L 3 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 1 4 の C D R L 3 配列、

e) 配列番号 4 2 8 の C D R L 3 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 2 8 の C D R L 3 配列、

f) 配列番号 4 4 4 の C D R L 3 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 4 4 4 の C D R L 3 配列、

10

20

30

40

50

g) 配列番号 458 の C D R L 3 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 458 の C D R L 3 配列、

h) 配列番号 472 の C D R L 3 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 472 の C D R L 3 配列、

i) 配列番号 486 の C D R L 3 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 486 の C D R L 3 配列、または

j) 配列番号 500 の C D R L 3 配列、または 2 もしくは 1 個のアミノ酸置換を含有する配列番号 500 の C D R L 3 配列、を含む V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含む、文 1 a ~ 文 7 a のいずれか一項に記載の抗体またはその断片。

【0954】

文 9 a . V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインを含み、V_L ドメインが、

a) 配列番号 373 のアミノ酸配列、または配列番号 373 のアミノ酸配列と少なくとも 98 % 同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列、

b) 配列番号 387 のアミノ酸配列、または配列番号 387 のアミノ酸配列と少なくとも 98 % 同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列、

c) 配列番号 401 のアミノ酸配列、または配列番号 401 のアミノ酸配列と少なくとも 98 % 同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列、

d) 配列番号 415 のアミノ酸配列、または配列番号 415 のアミノ酸配列と少なくとも 98 % 同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列、

e) 配列番号 429 のアミノ酸配列、または配列番号 429 のアミノ酸配列と少なくとも 98 % 同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列、

f) 配列番号 445 のアミノ酸配列、または配列番号 445 のアミノ酸配列と少なくとも 98 % 同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列、

g) 配列番号 459 のアミノ酸配列、または配列番号 459 のアミノ酸配列と少なくとも 98 % 同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列、

h) 配列番号 473 のアミノ酸配列、または配列番号 473 のアミノ酸配列と少なくとも 98 % 同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列、

i) 配列番号 487 のアミノ酸配列、または配列番号 487 のアミノ酸配列と少なくとも 98 % 同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列、または

j) 配列番号 501 のアミノ酸配列、または配列番号 501 のアミノ酸配列と少なくとも 98 % 同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、文 1 a ~ 8 a のいずれか一項に記載の抗体またはその断片。

【0955】

文 10 a . V_L ドメインまたは当該 V_L ドメインの第 1 および第 2 のコピーを含む、文 6 a ~ 9 a のいずれか一項に記載の抗体または断片。

【0956】

文 11 . アミノ酸置換が、保存的アミノ酸置換であり、任意選択で、当該保存的置換が、

1) アラニン (A)、セリン (S)、トレオニン (T)、

2) アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)、

3) アスパラギン (N)、グルタミン (Q)、

4) アルギニン (R)、リシン (K)、

5) イソロイシン (I)、ロイシン (L)、メチオニン (M)、バリン (V)、および

6) フェニルアラニン (F)、チロシン (Y)、トリプトファン (W) から選択される 6 つの群 (各群は、互いについて保存的置換であるアミノ酸を含有する) のうちの 1 つからのものである、文 1 a ~ 10 a のいずれか一項に抗体またはその断片。

【0957】

文 12 a .

a) 抗体 S T I M 0 0 1 が特異的に結合するエピトープと同一であり、

b) 抗体 S T I M 0 0 2 が特異的に結合するエピトープと同一であり、

c) 抗体 S T I M 0 0 2 - B が特異的に結合するエピトープと同一であり、

d) 抗体 S T I M 0 0 3 が特異的に結合するエピトープと同一であり、
e) 抗体 S T I M 0 0 4 が特異的に結合するエピトープと同一であり、
f) 抗体 S T I M 0 0 5 が特異的に結合するエピトープと同一であり、
g) 抗体 S T I M 0 0 6 が特異的に結合するエピトープと同一であり、
h) 抗体 S T I M 0 0 7 が特異的に結合するエピトープと同一であり、
i) 抗体 S T I M 0 0 8 が特異的に結合するエピトープと同一であり、または
j) 抗体 S T I M 0 0 9 が特異的に結合するエピトープと同一である、エピトープに特異的に結合する、抗体またはその断片。

【0958】

文13a. エピトープが、無関係のアミノ酸スキャンまたはX線結晶構造解析によって
同定される、文12aに記載の抗体または断片。

【0959】

文14a. エピトープの接触残基が、SPRによって判定される、無関係のアミノ酸スキャン、例えばアラニンスキャンにおける親和性の少なくとも10倍の低減によって定義される、文13aに記載の抗体または断片。

【0960】

文15a.

- a) h I C O S への結合について抗体 S T I M 0 0 1 と競合し、
- b) h I C O S への結合について抗体 S T I M 0 0 2 と競合し、
- c) h I C O S への結合について抗体 S T I M 0 0 2 - B と競合し、
- d) h I C O S への結合について抗体 S T I M 0 0 3 と競合し、
- e) h I C O S への結合について抗体 S T I M 0 0 4 と競合し、
- f) h I C O S への結合について抗体 S T I M 0 0 5 と競合し、
- g) h I C O S への結合について抗体 S T I M 0 0 6 と競合し、
- h) h I C O S への結合について抗体 S T I M 0 0 7 と競合し、
- i) h I C O S への結合について抗体 S T I M 0 0 8 と競合し、または
- j) h I C O S への結合について抗体 S T I M 0 0 9 と競合する、抗体またはその断片。

【0961】

文16a. カニクイザル I C O S (配列番号513、配列番号513、もしくは配列番号514) および／またはマウス I C O S (配列番号510、配列番号511、もしくは配列番号512) に特異的に結合する、文1a～15aのいずれかに記載の抗体または断片。

【0962】

文17a. h I C O S アイソフォームもしくは天然変異型、マウス I C O S アイソフォームもしくは天然変異型、および／またはカニクイザル I C O S アイソフォームもしくは天然変異型に特異的に結合する、文1a～16aのいずれかに記載の抗体または断片。

【0963】

文18a. h I C O S アイソフォームが、配列番号509によって定義されるアミノ酸配列を含む、文17aに記載の抗体または断片。

【0964】

文19a. 抗体または断片が、定常領域、例えばヒト定常領域、例えばエフェクターヌルヒト定常領域、例えば I g G 4 定常領域または I g G 1 定常領域を含み、任意選択で、定常領域が、I g G 4 - P E (配列番号199)、または欠損した I g G 1 (配列番号205)である、文1a～18aのいずれかに記載の抗体または断片。

【0965】

文20a. 定常領域が、マウス定常領域である、文19aに記載の抗体または断片。

【0966】

文21a. 定常領域が、C D C および／または A D C C 活性を有する、文19aまたは文20aに記載の抗体または断片。

【0967】

10

20

30

40

50

5. 抗ICOS二重特異性抗体

上述のように、本明細書に提供されるPD-L1抗体は、概念37～40において本明細書の上記に開示されるように、多重特異性（例えば、二重特異性）抗体としてフォーマット化され得る。その中に開示される一実施形態では、本明細書に開示されるPD-L1抗体は、PD-L1（例えば、ヒトPD-L1）およびICOS（例えば、ヒトICOS等のICOSに対するアゴニスト）の両方に対して特異性を有する二重特異性抗体中でフォーマット化され得る。

【0968】

したがって、PD-L1（例えば、ヒトPD-L1）およびICOS（例えば、ヒトICOS）に対して特異性を有する多重特異性（例えば、二重特異性抗体または二重結合抗体）が提供される。一実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性または二重結合）抗体は、ICOS（例えば、ヒトICOS）に対するアゴニスト活性を有する。

【0969】

様々なICOS含有多重特異性抗体は、以下の構成で記載される。

構成1. ICOS（例えば、ヒトICOS）と別の標的抗原とを結合させる（任意に、それらに対する特異性を有していてもよい）多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体または二重結合抗体）。

【0970】

一実施形態では、ICOS（例えば、ヒトICOS）および別の標的抗原に結合する二重特異性抗体または二重結合抗体が提供される。一実施形態では、ICOS（例えば、ヒトICOS）および別の標的抗原に対する特異性を有する二重特異性抗体または二重結合抗体が提供される。一実施形態では、ICOS（例えば、ヒトICOS）および別の標的抗原に結合する二重特異性抗体または二重結合抗体であって、二重特異性抗体フォーマットが、mAb²である、二重特異性抗体または二重結合抗体が提供される。一実施形態では、ICOS（例えば、ヒトICOS）および別の標的抗原に結合する二重特異性抗体または二重結合抗体であって、二重特異性抗体フォーマットが、mAb²であり、別の標的抗原に対する結合が、修飾された定常領域（すなわち、Fcab）によって提供される、二重特異性抗体または二重結合抗体が提供される。一実施形態では、ICOS（例えば、ヒトICOS）、およびPD-L1（例えば、ヒトPD-L1）である別の標的抗原に結合する二重特異性抗体または二重結合抗体であって、二重特異性抗体フォーマットが、mAb²であり、ICOSに対する結合が、修飾された定常領域（すなわち、Fcab）によって提供される、二重特異性抗体または二重結合抗体が提供される。一実施形態では、ICOS（例えば、ヒトICOS）、およびPD-L1（例えば、ヒトPD-L1）である別の標的抗原に結合する二重特異性抗体または二重結合抗体であって、二重特異性抗体フォーマットが、mAb²であり、PD-L1に対する結合が、修飾された定常領域（すなわち、Fcab）によって提供され、ICOSに対する結合が、文1～102に記載される抗体のいずれかによって提供される、二重特異性抗体または二重結合抗体が提供される。

【0971】

一実施形態では、多重特異性（例えば、二重特異性または二重結合）抗体は、ICOS

10

20

30

40

50

(例えば、ヒトICOS)に対するアゴニスト活性を有する。別の標的抗原は、概念39に指定される標的抗原のいずれかであり得る。一実施形態では、別の標的抗原は、PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIGIT、TIM-3、LAG-3、およびVISTA、例えば、PD-L1、TIGIT、CTLA-4、TIM-3、およびLAG-3等の免疫チェックポイント阻害剤である。一実施形態では、別の標的抗原は、BTLA、hVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、およびCD155、例えば、GARP、SIRPα、CXCR4、BTLA、hVEM、およびCSF1R等の免疫調節剤である。一実施形態では、別の標的抗原は、CD137、GITR、OX40、CD40、CXCR3 (例えば、アゴニスティック抗CXCR3抗体)、CD27、およびCD3、またはCD137、GITR、OX40、CD40、CXCR3 (例えば、アゴニスティック抗CXCR3抗体)、およびCD3、例えば、CD137、GITR、およびOX40)等の免疫賦活剤である。一実施形態では、別の標的抗原は、PD-L1である。一実施形態では、別の標的抗原は、CTLA-4である。一実施形態では、別の標的抗原は、TIGITである。一実施形態では、別の標的抗原は、TIM-3である。一実施形態では、別の標的抗原は、LAG-3である。一実施形態では、別の標的抗原は、GITRである。一実施形態では、別の標的抗原は、VISTAである。一実施形態では、別の標的抗原は、CD137である。一実施形態では、別の標的抗原は、SIRPαである。一実施形態では、別の標的抗原は、CXCL10である。一実施形態では、別の標的抗原は、CD155である。一実施形態では、別の標的抗原は、CD40である。これらの別の標的抗原に対する抗体は、本明細書の上記の態様1aに記載されるもののいずれかであり得る。

【0972】

多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体のフォーマットは、本明細書に開示されるフォーマット、例えば、概念37~40に記載されるフォーマットのいずれかであり得る。特に、ICOSに対する結合および／または特異性は、非免疫グロブリンフォーマット、例えば、T細胞受容体結合ドメイン、免疫グロブリンスーパーファミリドメイン、無顎類可変リンパ球受容体、フィブロネクチンドメイン (例えば、Adnectin (商標))、抗体定常ドメイン (例えば、CH₃ドメイン、例えば、Fcab (商標)のCH₂および／またはCH₃) (当該定常ドメインは、機能的CH₁ドメインではない)、scFv、(scFv)₂、sc-dibody、scFab、CTLA-4から選択される骨格に由来するセンチリン (centyrin) およびエピトープ結合ドメイン (Evibody (商標))、リポカリンドメイン、タンパク質AのZドメイン等のタンパク質A (例えば、Affibody (商標)またはSpA)、Aドメイン (例えば、Avimer (商標)またはMaxibody (商標))、熱ショックタンパク質 (GroEIおよびGroESに由来するエピトープ結合ドメイン等)、トランスフェリンドメイン (例えば、トランスボディ)、アンキリンリピートタンパク質 (例えば、DARPin (商標))、ペプチドアプタマー、C型レクチンドメイン (例えば、Tetranelectin (商標))、ヒトγ-クリスタリンまたはヒトユビキチン (アフィリン)、PDZドメイン、サソリ毒、ならびにヒトプロテアーゼ阻害剤のクーニッツ型ドメインによって提供され得る。別の標的抗原に対する結合および／または特異性は、免疫グロブリン由来の抗原結合タンパク質によって提供され得る。

【0973】

「特異的に結合する」は、本明細書の上記に提供される意味を有する。結合定数、例えば、K_Dは、本明細書の他の箇所に記載されるように判定され得、目的の特定のK_Dは、以下の構成2、および本明細書の上記の概念1に記載される (PD-L1結合について指定されているものの、K_Dの値は、抗ICOS結合にも同等に適用され得る)。

【0974】

構成2. ICOSが、ヒトICOSである、構成1に記載の多重特異性抗体。

【0975】

10

20

30

40

50

ヒトICOSの配列は、配列番号506、507、および508に提供される。一実施形態では、多重特異性抗体は、野生型ヒトICOSに対して特異的である。別の実施形態では、多重特異性抗体は、hICOSのアイソフォームまたは天然変異型、例えば、配列番号509のアイソフォームに対して交差反応性である。他のアイソフォームおよび天然変異型は、当業者に周知である。別の実施形態では、多重特異性抗体は、野生型hICOSよりもアイソフォームまたは天然変異型（例えば、配列番号509のアミノ酸配列を有するICOSアイソフォーム）に対して特異的である。

【0976】

抗体、例えば、多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体の種交差反応性の程度を定量化する1つの方法は、異なる抗原と比較した、抗原へのその親和性の倍数変化（例えば、マウスICOSに対するヒトICOSへの親和性の倍数変化、またはhICOSのアイソフォームに対する野生型hICOSへの親和性の倍数変化）としてである。親和性は、 K_D として定量化され得、これは、SPR（任意選択で、本明細書の他の箇所に記載されるFabフォーマットの抗体を用いる）によって判定される抗体-抗原反応の平衡解離定数を指す。種またはアイソフォーム交差反応性抗ICOS抗体は、30倍以下、25倍以下、20倍以下、15倍以下、10倍以下、または5倍以下の、ヒトおよびマウスICOSへの結合の倍数変化を有し得る。言い換えると、hICOSの細胞外ドメインへの結合の K_D は、マウスICOSの細胞外ドメインへの結合の K_D の30倍、25倍、20倍、15倍、10倍、または5倍以内であり得る。抗体はまた、両方の種の抗原への結合の K_D が、閾値を満たす場合、例えば、hICOSへの結合の K_D およびマウスICOSへの結合の K_D がいずれも10mM以下、好ましくは5mM以下、より好ましくは1mM以下である場合に、交差反応性であると見なされ得る。 K_D は、10nM以下、5nM以下、2nM以下、または1nM以下であり得る。 K_D は、0.9nM以下、0.8nM以下、0.7nM以下、0.6nM以下、0.5nM以下、0.4nM以下、0.3nM以下、0.2nM以下、または0.1nM以下であり得る。

【0977】

hICOSおよびマウスICOS、またはWT hICOSおよびhICOSのアイソフォームの結合の交差反応性の代替的な尺度は、例えば、HTRFアッセイ（本明細書の他の箇所に記載される）における、ICOS受容体へのICOSリガンドの結合を中和させる抗体の能力である。種交差反応性抗体の例は、本明細書に提供され、これにはSTIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM005、およびSTIM006が含まれ、これらの各々は、HTRFアッセイにおいて、hICOSへのヒトB7-H2（ICOSリガンド）の結合を中和させ、マウスICOSへのマウスB7-H2の結合を結合を中和させることが確認された。これらの抗体またはそれらの変異型はいずれも、ヒトおよびマウスICOSに対する抗体交差反応性が所望される場合に選択され得る。種交差反応性抗ICOS抗体は、HTRFアッセイによって判定される、マウスICOS受容体へのマウスICOSを阻害するためのIC50の25倍、20倍、15倍、10倍、または5倍以内の、ヒトICOS受容体へのhICOSの結合を阻害するためのIC50を有し得る。抗体はまた、ヒトICOS受容体へのhICOSの結合を阻害するためのIC50およびマウスICOS受容体へのマウスICOSの結合を阻害するためのIC50がいずれも、1mM以下、好ましくは0.5mM以下、例えば、30nM以下、20nM以下、10nM以下である場合に、交差反応性であると見なされ得る。IC50は、5nM以下、4nM以下、3nM以下、または2nM以下であり得る。場合によっては、IC50は、少なくとも0.1nM、少なくとも0.5nM、または少なくとも1nMである。

【0978】

親和性はまた、本明細書の上記の概略27に開示される通りであり得る。

【0979】

構成3. CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含むV_Hドメインを含み、当該V_Hドメインが、hICOSに結合する（任意に、それに対する特異性を有していてもよ

10

20

30

40

50

い)を含む、構成2に記載の多重特異性抗体。

【0980】

一実施形態では、多重特異性抗体は、hICOSに結合する少なくとも1つのV_Hドメインを含む。例えば、多重特異性抗体は、hICOSに結合する（任意に、それに対する特異性を有していてもよい）V_H領域のみを含む、一本鎖Fv（scFv）、一本鎖抗体、単ドメイン抗体、またはドメイン抗体を含み得る。

【0981】

構成4．CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含むV_Lドメインを含み、当該V_Lドメインが、hICOSに結合する（任意に、それに対する特異性を有していてもよい）を含む、構成2または構成3に記載の多重特異性抗体。

【0982】

一実施形態では、多重特異性抗体は、hICOSに結合する少なくとも1つのV_Lドメインを含む。例えば、多重特異性抗体は、hICOSに結合する（任意に、それに対する特異性を有していてもよい）V_L領域のみを含む、一本鎖Fv（scFv）、一本鎖抗体、単ドメイン抗体、またはドメイン抗体を含み得る。

【0983】

別の実施形態では、多重特異性抗体は、無傷もしくは全長抗体、Fab断片、Fab'断片、F(ab')₂断片、またはFv断片を含むがこれらに限定されないV_HおよびV_Lドメインの対を含む。

【0984】

構成5．V_Hおよび／またはV_Lドメインが、

a．抗体7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710、35A9S89、もしくはWO2016/154177およびUS2016/0304610に記載される任意の他の抗体、

b．抗体422.2、H2L5、もしくはWO2016/120789およびUS2016/0215059に記載される任意の他の抗体、

c．抗体314-8、ハイブリドーマCNCM I-4180から産生された抗体、もしくはWO2014/033327およびUS2015/0239978に記載される任意の他の抗体、

d．抗体Icos145-1、ハイブリドーマCNCM I-4179によって産生された抗体、もしくはWO2012/131004、US9,376,493、およびUS2016/0264666に記載される任意の他の抗体、

e．抗体136、「136」、もしくはWO2010/056804に記載される任意の他の抗体、

f．抗体MIC-944、9F3、もしくはWO99/15553、US7,259,247、US7,132,099、US7,125,551、US7,306,800、US7,722,872、WO05/103086、US8,318,905、およびUS8,916,155に記載される任意の他の抗体、

g．任意のJMAB抗体、例えば、JMAB-124、JMAB-126、JMAB-127、JMAB-128、JMAB-135、JMAB-136、JMAB-137、JMAB-138、JMAB-139、JMAB-140、JMAB-141のいずれか、例えば、JMAB136、もしくはWO98/3821、US7,932,358B2、US2002/156242、US7,030,225、US7,045,615、US7,279,560、US7,226,909、US7,196,175、US7,932,358、US8,389,690、WO02/070010、US7,438,905、US7,438,905、WO01/87981、US6,803,039、US7,166,283、US7,988,965、WO01/15732、US7,465

10

20

30

40

50

、445、およびUS7,998,478に記載される任意の他の抗体、
 h. 抗体17G9、もしくはWO2014/08911に記載される任意の他の抗体、
 i. WO2012/174338に記載される任意の抗体、
 j. US2016/0145344に記載される任意の抗体、
 k. WO2011/020024、US2016/002336、US2016/024211、およびUS8,840,889に記載される任意の抗体、
 l. US8,497,244に記載される任意の抗体、
 m. GSK3359609として知られる抗体、
 n. JTX-2011として知られる抗体、または
 o. 抗体クローンISA-3 (eBioscience)、クローンSP98 (Novus Biologicals)、クローン1 G1、クローン3G4 (Abnova Corporation)、クローン669222 (R&D Systems)、クローンTQ09 (Creative Diagnostics)、もしくはクローンC398.4A (BioLegend)、のV_Hおよび/またはV_Lドメインである、構成3または4に記載の多重特異性抗体。

【0985】

構成5a.

a. 抗体7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710、35A9S89、もしくはWO2016/154177およびUS2016/0304610に記載される任意の他の抗体、

b. 抗体422.2、H2L5、もしくはWO2016/120789およびUS2016/0215059に記載される任意の他の抗体、

c. 抗体314-8、ハイブリドーマCNCM I-4180から産生された抗体、もしくはWO2014/033327およびUS2015/0239978に記載される任意の他の抗体、

d. 抗体Icos145-1、ハイブリドーマCNCM I-4179によって産生された抗体、もしくはWO2012/131004、US9,376,493、およびUS2016/0264666に記載される任意の他の抗体、

e. 抗体136、「136」、もしくはWO2010/056804に記載される任意の他の抗体、

f. 抗体MIC-944、9F3、もしくはWO99/15553、US7,259,247、US7,132,099、US7,125,551、US7,306,800、US7,722,872、WO05/103086、US8,318,905、およびUS8,916,155に記載される任意の他の抗体、

g. 任意のJMAB抗体、例えば、JMAB-124、JMAB-126、JMAB-127、JMAB-128、JMAB-135、JMAB-136、JMAB-137、JMAB-138、JMAB-139、JMAB-140、JMAB-141のいずれか、例えば、JMAB136、もしくはWO98/3821、US7,932,358B2、US2002/156242、US7,030,225、US7,045,615、US7,279,560、US7,226,909、US7,196,175、US7,932,358、US8,389,690、WO02/070010、US7,438,905、US7,438,905、WO01/87981、US6,803,039、US7,166,283、US7,988,965、WO01/15732、US7,465,445、およびUS7,998,478に記載される任意の他の抗体、

h. 抗体17G9、もしくはWO2014/08911に記載される任意の他の抗体、

i. WO2012/174338に記載される任意の他の抗体、

j. US2016/0145344に記載される任意の他の抗体、

10

20

30

40

50

k. WO2011/020024、US2016/002336、US2016/024211、およびUS8,840,889に記載される任意の抗体、

l. US8,497,244に記載される任意の抗体、

m. GSK3359609として知られる抗体、

n. JTX-2011として知られる抗体、または

o. 抗体クローンISA-3 (eBioscience)、クローンSP98 (Novus Biologicals)、クローン1 G1、クローン3 G4 (Abnova Corporation)、クローン669222 (R&D Systems)、クローンTQ09 (Creative Diagnostics)、もしくはクローンC398.4A (BioLegend)、のCDRH1、CDRH2、CDR3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3、またはV_H、もしくはV_L、もしくはV_HおよびV_L領域を含む、構成1～5のいずれか一項に記載の多重特異性抗体。

10

【0986】

構成6. V_Hおよび／またはV_Lドメインが、文1～102または文1a～21aに記載のV_Hおよび／またはV_Lドメインのいずれかである、構成3または4に記載の多重特異性抗体。

【0987】

一実施形態では、抗ICOSのV_Hおよび／またはV_Lは、英国特許出願第1620414.1号(2016年12月1日出願)に記載される通りであり、その内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0988】

構成7. Icosに対するアゴニスト活性を有する、構成1～6のいずれかに記載の多重特異性抗体。

【0989】

アゴニズムは、架橋剤を含むかまたはそれを排除して可溶性形態(例えば、免疫グロブリンフォーマットまたは2つの空間的に離間した抗原結合部位、例えば、2つのV_H-V_L対)の抗体を使用して、または繋がれた抗原結合部位のアレイを提供するために固体表面に結合した抗体(例えば、多重特異性抗体)を使用して、インビトロT細胞活性化アッセイにおいて試験され得る。アゴニズムアッセイは、MJ細胞(ATCC CRL-8294)等のhICOS陽性Tリンパ球細胞株をかけるアッセイにおける活性化のための標的T細胞として使用し得る。試験抗体についてT細胞活性化の1つ以上の尺度を判定することができ、参照分子または陰性対照と比較して、試験抗体(例えば、多重特異性抗体)によってもたらされたT細胞活性化に、参照分子または対照と比較した統計学的に有意な(p<0.05)差異が存在するかどうかを判定することができる。T細胞活性化の1つの好適な尺度は、サイトカイン、例えば、IFN γ 、TNF α 、またはIL-2の産生である。当業者は、適宜、好適な対照を含め、試験抗体と対照との間のアッセイ条件を標準化するであろう。好適な陰性対照は、ICOSに結合しない同じフォーマットの抗体(例えば、アイソタイプ対照)、例えば、アッセイ系に存在しない抗原について特異的である抗体(例えば、多重特異性抗体)である。アッセイのダイナミックレンジ内で同起源のアイソタイプ対照と比較して試験対象について認められる有意差は、そのアッセイにおいて、抗体が、ICOS受容体のアゴニストとして作用することを示す。

30

40

【0990】

アゴニスト抗体は、T細胞活性化アッセイにおいて試験された場合に、対照抗体と比較して、IFN γ 産生の誘導について有意に低いEC₅₀を有し、対照抗体と比較して、有意に高い最大IFN γ 産生を誘導し、ICOSL-Fcと比較して、IFN γ 産生の誘導について有意に低いEC₅₀を有し、ICOSL-Fcと比較して、有意に高い最大IFN γ 産生を誘導し、参照抗体C398.4Aと比較して、IFN γ 産生の誘導について有意に低いEC₅₀を有し、及び／又は

参照抗体C398.4Aと比較して、有意に高い最大IFN γ 産生を誘導するものとし

50

て定義され得る。

【0991】

有意に低いまたは有意に高い値は、例えば、参照または対照値と比較して、最大で0.5倍異なる、最大で0.75倍異なる、最大で2倍異なる、最大で3倍異なる、最大で4倍異なる、または最大で5倍異なることであり得る。

【0992】

したがって、一例では、ビーズ結合フォーマットの抗体を使用するM J細胞活性化アッセイにおいて、本明細書に提供される抗体（例えば、多重特異性抗体）は、IFN γ の誘導について、対照と比較して有意に低い、例えば少なくとも2倍低いEC₅₀を有する。

【0993】

ビーズ結合アッセイは、ビーズの表面に結合した抗体（例えば、多重特異性抗体）（および、対照または参照実験について、対照抗体、参照抗体、またはICOSL-Fc）を使用する。磁気ビーズを使用してもよく、様々な種類、例えば、トシル活性化DYNABEADS M-450（DYNAL Inc, 5 Delaware Drive, Lake Success, N. Y. 11042 Prod No. 140.03, 140.04）が市販されている。ビーズは、一般に、炭酸緩衝液（pH 9.6、0.2 M）中にコーティング材を溶解することによって、または当該技術分野で既知の他の方法によって、コーティングされてもよい（コーティング方法は、当業者に周知である）。ビーズの使用は、ビーズ表面に結合したタンパク質の量を良好な程度の精度で判定することを好都合に可能にする。標準的なFcタンパク質定量化方法は、ビーズ上に結合したタンパク質の定量化のために使用され得る。アッセイのダイナミックレンジ内の妥当な標準に関して、任意の好適な方法が使用され得る。DEL FIA、ELISA、または他の方法を使用することができる。

【0994】

抗体のアゴニズム活性はまた、初代ヒトTリンパ球においてエキスピボで測定することもできる。かかるT細胞中でIFN γ の発現を誘導する抗体（例えば、多重特異性抗体）の能力は、ICOSアゴニズムを示す。好ましくは、抗体は、T細胞活性化アッセイにおいて、対照抗体と比較して、5 μ g/mLのIFN γ の有意な（ $p < 0.05$ ）誘導を示す。抗ICOS抗体は、かかるアッセイにおいて、ICOS-LまたはC398.4よりも大きい程度までT細胞活性化を刺激し得る。したがって、抗体は、T細胞活性化アッセイにおいて、対照または参照抗体と比較して、5 μ g/mLの有意に（ $p < 0.05$ ）大きいIFN γ の誘導を示し得る。TNF α またはIL-2誘導は、代替的なアッセイ読み出し値として測定され得る。

【0995】

抗ICOS抗体のアゴニズムは、例えば、腫瘍微小環境等の病理部位において、Teff細胞のために、インビボでTregおよびTeff細胞の集団のバランスを変えるその能力に貢献し得る。本明細書の他の箇所に考察されるように、活性化されたICOS陽性エフェクターT細胞による腫瘍細胞殺滅を増強する抗体の能力が判定され得る。

【0996】

構成8. マウスICOSおよび／またはカニクイザルICOSに結合する（任意に、それに対する特異性を有していてもよい）、構成1～7のいずれかに記載の多重特異性抗体。

【0997】

本明細書に記載される多重特異性抗体は、交差反応性であり得、例えば、マウスICOSおよびヒトICOSの細胞外ドメインに結合し得る。多重特異性抗体は、カニクイザル等の霊長類のICOSを含む、他の非ヒトICOSに結合し得る。ヒトにおける治療用の使用が意図される抗ICOS多重特異性抗体は、ヒトICOSに結合しなければならない一方、他の種のICOSへの結合は、ヒトの臨床的文脈において直接的な治療的な関連性を有しない。しかしながら、根底にある理論にかかわらず、交差反応性抗体は、価値の高いものであり、前臨床および臨床研究のための治療用分子として優れた候補である。交差反応性は、本明細書の上記の構成2に記載されるように判定され得る。

10

20

30

40

50

【0998】

構成9．二重特異性抗体である、構成1～8のいずれかに記載の多重特異性抗体。

【0999】

二重特異性抗体は、本明細書の上記の意味のいずれかを有する。

【1000】

構成10．二重特異性抗体フォーマットが、DVD-Ig、mAb²、FIT-Ig、mAb-dAb、ドック・ロック、SEEDbody、scDiabody-Fc、diabody-Fc、tandem scFv-Fc、Fab-scFv-Fc、Fab-scFv、細胞内抗体、BiTE、ダイアボディ、DART、TandAb、scDiabody、scDiabody-CH₃、Diabody-CH₃、ミニボディ、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、電荷対、共通の軽鎖を有する電荷対、特にmAb²、ノブ・イン・ホール、共通の軽鎖を有するノブ・イン・ホール、共通の軽鎖および電荷対を有するノブ・イン・ホール、およびFIT-Igから、例えばmAb²およびFIT-Igから選択される、構成9に記載の二重特異性抗体。

10

【1001】

一実施形態では、二重特異性抗体フォーマットは、本明細書の上記の概念37～40に記載される通りであるか、または定義の節に記載される通りである。一実施形態では、二重特異性抗体フォーマットは、mAb²であり、ICOS結合は、二重特異性抗体のFcab部分によって提供される。別の実施形態では、二重特異性抗体フォーマットは、mAb²であり、ICOS結合は、二重特異性抗体のFab部分によって提供される。

20

【1002】

別の実施形態では、二重特異性抗体は、mAb²二重特異性抗体ではない。

【1003】

構成11．二重結合抗体である、構成1～8のいずれか一項に記載の多重特異性抗体。

【1004】

二重結合抗体は、本明細書の上記の意味のいずれかを有する。

【1005】

構成12．別の標的抗原が、免疫チェックポイント阻害剤、免疫調節剤、および免疫賦活剤から選択される、構成1～11のいずれか一項に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体。

30

【1006】

構成13．別の標的抗原が、PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIGIT、TIM-3、LAG-3、VISTA、BTLA、HVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、CD155、CD137、GITR、OX40、CXCR3、CD27、およびCD3から選択される、構成12に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体。

【1007】

構成13a．別の標的抗原が、PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIGIT、TIM-3、LAG-3、VISTA、BTLA、HVEM、CSF1R、CCR4、CD39、CD40、CD73、CD96、CXCR2、CXCR4、CD200、GARP、SIRPα、CXCL9、CXCL10、CD155、CD137、GITR、OX40、CXCR3、およびCD3から選択される、構成12に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体。

40

【1008】

一実施形態では、別の標的抗原に結合する抗原結合部位は、本明細書の上記の態様1aにより詳細に記載される、構成13に列挙される標的に対する抗体のいずれか1つからのCDRH1、CDRH2、CDR3、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3によって提供される。

50

【1009】

構成14．別の標的抗原が、PD-L1、TIGIT、TIM-3、LAG-3、GARP、SIRPα、CXCR4、BTLA、HVEM、CSF1R、アゴニスティック抗CXCR3抗体)、CD137、GITR、およびOX40から選択される、構成13に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体。

【1010】

構成15．別の標的抗原が、PD-L1（例えば、ヒトPD-L1）である、構成14に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体。

【1011】

構成16．PD-L1の結合（および任意選択で、それに対する特異性）が、概念1～70に記載の抗体または断片のいずれかによって提供される、構成15に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体。

10

【1012】

構成17．CDRH1、CDRH2、およびCDRH3を含むV_Hを含み、当該V_Hドメインが、ヒトPD-L1に対する特異性を有する、構成15または構成16に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体。

【1013】

構成18．CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を含むV_Lを含み、当該V_Lドメインが、ヒトPD-L1に対する特異性を有する、構成15～17のいずれか一項に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体。

20

【1014】

構成19．V_Hおよび／またはV_Lドメインが、アテゾリズマブ（Roche）、アベルマブ（Merck）、BMS-936559（BMS）、デュルバルマブ（Medimmune）から、またはWO2016/061142、WO2016/022630、WO2016/007235、WO2015/173267、WO2015/181342、WO2015/109124、WO2015/112805、WO2015/061668、WO2014/159562、WO2014/165082、WO2014/100079、WO2014/055897、WO2013/181634、WO2013/173223、WO2013/079174、WO2012/145493、WO2011/066389、WO2010/077634、WO2010/036959、もしくはWO2007/005874に開示されるPD-L1抗体からのV_Hおよび／またはV_Lドメインのいずれかである、構成17または構成18に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体。

30

【1015】

構成20．V_Hおよび／またはV_Lドメインが、概念1～70に記載されるV_Hおよび／またはV_Lドメインのいずれかである、構成17または構成18に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体。

【1016】

構成21．マウスPD-L1および／またはカニクイザルPD-L1に結合する（任意に、それに対する特異性を有していてもよい）、構成15～20のいずれか一項に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体。

40

【1017】

交差反応性は、構成2または概念27について、本明細書の上記の通りであり得る。

【1018】

構成22．構成1～21のいずれかに記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体と、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体と、を含み、任意選択で、

a) 他の免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗TIM-3抗体、抗PD-1抗体、抗CTLA-4抗体、抗TIGIT抗体、および抗LAG-3抗体）、

b) 免疫刺激剤（例えば、抗OX40抗体、抗GITR抗体、抗CD137抗体、抗ICOS抗体、および抗CD40抗体）、

50

- c) ケモカイン受容体アンタゴニスト（例えば、C X C R 4、C C R 4、および C X C R 2）、
- d) 標的化キナーゼ阻害剤（例えば、C S F - 1 RもしくはV E G F R阻害剤）、
- e) 血管新生阻害剤（例えば、抗V E G F - Aもしくはデルタ様リガンド4）、
- f) 免疫刺激ペプチドもしくはケモカイン（例えば、C X C L 9もしくはC X C L 10）、
- g) サイトカイン（例えば、I L - 15およびI L - 21）、
- h) C D 3に対して少なくとも1つの特異性を有する二重特異性T細胞エンゲージャー（B i T E）（例えば、C D 3 / C D 19 B i T E）、
- i) 他の二重特異性分子（例えば、腫瘍関連抗原を標的とするI L - 15含有分子、例えば、E G F R、H e r - 2、N e w Y o r k E s o p h a g e a l C a n c e r - 1（N Y - E S O - 1）、G D 2、E p C A M、もしくは黒色腫関連抗原-3（M A G E - A 3））、
- j) 腫瘍溶解性ウイルス（例えば、H S Vウイルス（任意選択でG M C S Fを分泌する）、ニューカッスル病ウイルス、およびワクシニアウイルス）、
- k) 腫瘍関連抗原（例えば、N e w Y o r k E s o p h a g e a l C a n c e r - 1 [N Y - E S O - 1]、黒色腫関連抗原-3（M A G E - 3））によるワクチン接種、
- l) 細胞療法（例えば、抗C D 19、抗E p C a m、もしくは抗メソテリンを発現するキメラ抗原受容体T細胞（C A R - T）等）、
- m) N K G 2 DもしくはC D 16 a等の、活性化M K受容体に対する特異性を有する二重特異性N K細胞エンゲージャー、ならびに
- n) 腫瘍特異的T細胞またはL A K細胞の養子移入、からなる群から独立して選択されるさらなる治療剤をさらに含む、組成物。

【1019】

抗体は、構成5に記載されるか、または態様1aに詳述される配列または抗体のいずれかであり得る。この構成の他の特徴は、概念49に記載される通りであり得る。

【1020】

構成22a．組成物が、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫から選択される病的状態または疾患を治療および／または予防するためのものである、構成22に記載の医薬組成物、または構成22に記載の医薬組成物を含むキット。

【1021】

構成22b．ヒトにおける疾患または病的状態を治療および／もしくは予防に使用するためのラベルもしくは説明書と組み合わせた態様57もしくは態様58に記載の医薬組成物、またはそれを含む態様58に記載のキットであって、任意選択で、ラベルまたは説明書が、販売承認番号（例えば、F D AまたはE M A承認番号）を含み、任意選択で、キットが、多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体を含むI Vまたは注射デバイスを含む、構成22または構成22aに記載の医薬組成物、または構成22aに記載のキット。

【1022】

構成23．神経疾患、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫（例えば、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫、または例えばウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）および軟部肉腫）から選択される、疾患または病的状態の治療または予防における使用のための、構成1～21のいずれか

10

20

30

40

50

一項に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体。

【1023】

構成24. 神経疾患、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫（例えば、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫、または例えばウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）および軟部肉腫）から選択される、ヒトにおける疾患または病的状態の治療または予防のための当該ヒトへの投与のための医薬品の製造における、構成1～21のいずれか一項に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体の使用。

10

【1024】

構成25. 神経疾患、腫瘍性もしくは非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍、例えば黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、中皮腫、ウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）、軟部肉腫、血液系腫瘍、例えばホジキンおよび非ホジキン病、およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫（例えば、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫、または例えばウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）および軟部肉腫）から選択される、ヒトにおける疾患または病的状態を治療または予防する方法であって、治療有効量の、構成1～21のいずれか一項に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体を当該ヒトに投与することを含み、当該疾患または病的状態が、それにより治療または予防される、方法。

20

【1025】

これらの構成において提供される多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体によって治療または予防され得る疾患および病的状態は、例えば、概念41～45、態様51～55、または本明細書に記載される文のいずれかにおいて提供される疾患のいずれかであり得る。

【1026】

構成26. 神経疾患が、神経変性疾患、障害、または病的状態であり、任意選択で、当該神経変性疾患、障害、または病的状態が、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、ハンチントン病、一次性進行型多発性硬化症、二次性進行型多発性硬化症、大脳皮質基底核変性症、レット症候群、加齢黄斑変性および網膜色素変性症から選択される網膜変性障害、前部虚血性視神経症、緑内障、ブドウ膜炎、うつ病、外傷関連ストレスまたは心的外傷後ストレス障害、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、軽度認知障害、後皮質萎縮、原発性進行性失語および進行性核上性麻痺または加齢認知症、特に、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、およびハンチントン病から選択され、例えば、アルツハイマー病から選択される、構成23に記載の多重特異性、二重特異性、もしくは二重結合抗体、構成24に記載の使用、または構成25に記載の方法。

30

40

【1027】

構成27. 癌が、黒色腫、メルケル細胞癌、非小細胞肺癌（扁平上皮および非扁平上皮）、腎細胞癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮癌、および中皮腫から選択されるか、またはウイルス誘導性癌（例えば子宮頸癌および上咽頭癌）および軟部肉腫から選択される、構成3に記載の多重特異性、二重特異性、もしくは二重結合抗体、構成24に記載の使用、または構成25に記載の方法。。

【1028】

構成28. さらなる療法、例えば治療剤をヒトに投与することをさらに含み、任意選択で、さらなる治療剤が、

a. 他の免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗TIM-3抗体、抗PD-1抗体、

50

抗CTLA-4抗体、抗TIGIT抗体、および抗LAG-3抗体)、

b. 免疫刺激剤 (例えば、抗OX40抗体、抗GITR抗体、抗CD137抗体、および抗CD40抗体)、

c. ケモカイン受容体アンタゴニスト (例えば、CXCR4、CCR4、およびCXCR2)、

d. 標的化キナーゼ阻害剤 (例えば、CSF-1RもしくはVEGFR阻害剤)、

e. 血管新生阻害剤 (例えば、抗VEGF-Aもしくはデルタ様リガンド4)、

f. 免疫刺激ペプチドもしくはケモカイン (例えば、CXCL9もしくはCXCL10)、

g. サイトカイン (例えば、IL-15およびIL-21)、

h. CD3に対して少なくとも1つの特異性を有する二重特異性T細胞エンゲージャー (BiTE) (例えば、CD3/CD19 BiTE)、

i. 他の二重特異性分子 (例えば、腫瘍関連抗原を標的とするIL-15含有分子、例えば、EGFR、Her-2、New York Esophageal Cancer-1 (NY-ESO-1)、GD2、EpCAM、もしくは黒色腫瘍関連抗原-3 (MAGE-A3))、

j. 腫瘍溶解性ウイルス (例えば、HSVウイルス (任意選択でGMCSFを分泌する))、ニューカッスル病ウイルス、およびワクシニアウイルス)、

k. 腫瘍関連抗原 (例えば、New York Esophageal Cancer-1 [NY-ESO-1]、黒色腫瘍関連抗原-3 (MAGE-3)) によるワクチン接種、

l. 細胞療法 (例えば、抗CD19、抗EpCam、もしくは抗メソテリンを発現するキメラ抗原受容体T細胞 (CAR-T) 等)、

m. NKG2DもしくはCD16a等の、活性化MK受容体に対する特異性を有する二重特異性NK細胞エンゲージャー、ならびに

n. 腫瘍特異的T細胞またはLAK細胞の養子移入、からなる群から独立して選択されるか、

または任意選択で、さらなる療法が、化学療法、放射線療法、および腫瘍の外科的切除である、構成23~27のいずれか一項に記載の多重特異性、二重特異性、もしくは二重結合抗体、使用、または方法。

【1029】

放射線療法は、患部組織に直接、または全身のいずれかに送達される、単回線量または分割線量であり得る。

【1030】

この構成では、概念46の特徴および実施形態がいずれも準用される。

【1031】

この態様では、二重特異性分子には、「二重特異性抗体」および抗体融合タンパク質が含まれ、概念37~40に記載される形式および分子が含まれる。

【1032】

構成29. 構成1~21のいずれか一項に記載の多重特異性、二重特異性、または二重結合抗体の重鎖および/または軽鎖をコードする核酸。

【1033】

構成30. 構成29に記載の核酸を含むベクターであって、任意選択で、ベクターが、CHOまたはHEK293ベクターである、ベクター。

【1034】

構成31. 構成29に記載の核酸または構成30に記載のベクターを含む宿主。

【1035】

6. 抗体および免疫サイトカインの使用

文脈から別途明らかなでない限り、抗体または断片の使用は、本発明の免疫サイトカインおよび多重特異性 (例えば、二重特異性または二重結合抗体) について準用される。

【1036】

10

20

30

40

50

治療薬

一実施形態では、本明細書に記載されるPD-L1特異的抗体およびその抗原結合断片は、PD-1/PD-L1経路の治療的調節のために使用され得る。一実施形態では、PD-L1特異的抗体またはその断片は、本明細書の任意の概念、態様、または実施形態に記載される通りである。

【1037】

一実施形態では、抗体または抗体結合断片は、PD-L1に特異的に結合し、それによりPD-L1活性を阻害する。別の実施形態では、抗体または抗体結合断片は、PD-L1に特異的に結合し、それによりPD-1に対するPD-L1の結合を阻害する。別の実施形態では、抗体または抗体結合断片は、PD-L1に特異的に結合し、それによりB7-1に対するPD-L1の結合を阻害する。なお別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-L1誘導性T細胞抑制を遮断し、それにより抗腫瘍免疫を増強する。

【1038】

なお別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、リンパ球反応において以下の活性、T細胞増殖、IFN- γ 、CD25、および/またはIL-2の分泌のうちの1つ以上を刺激することができる。

【1039】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-L1に特異的に結合し、PD-L1誘導性細胞増殖、例えば腫瘍細胞増殖を阻害し、及び/又は腫瘍細胞生存を阻害する。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-L1に特異的に結合し、それにより、腫瘍反応性T細胞を含むがこれに限定されないT細胞のPD-L1媒介性抑制を阻害し、それにより抗腫瘍細胞溶解性T細胞活性を増強する。他の実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍細胞接着、運動性、浸潤、および細胞転移を阻害し、腫瘍成長を低減させる。他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍および非腫瘍細胞を含む、PD-L1を発現する細胞に結合し、抗体のFc部分との相互作用を用いて、抗体依存性細胞傷害(ADCC)および抗体依存性細胞食作用(ADCP)を含むがこれらに限定されない機構によって標的細胞に対する細胞エフェクター機能を動員することができる。

【1040】

なおさらなる実施形態は、治療有効用量の抗体またはその抗原結合断片を動物に投与することによって、哺乳動物における増殖性または浸潤関連疾患を治療する方法を含む。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、腫瘍性または非腫瘍性疾患、慢性ウイルス感染症、および悪性腫瘍から選択される疾患を患う哺乳動物を治療するための方法において使用され得、当該方法は、治療有効用量の抗体またはその抗原結合断片を哺乳動物に投与することを含む。

【1041】

なおさらなる実施形態は、治療有効用量の、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片を動物に投与することによって、哺乳動物における免疫機能低下の疾患を治療する方法を含む。ヒトにおける例示的な免疫機能低下には、アルツハイマー病等の神経障害の疾患が含まれる。

【1042】

免疫応答、とりわけIFN γ 依存性全身性免疫応答が、神経炎症性の構成要素を共有するアルツハイマー病および他のCNSの病理学について有益であり得ることがさらに提唱されている。WO2015/136541(参照により本明細書に組み込まれる)は、抗PD-1抗体を使用したアルツハイマー病の治療を提唱している(また、Baruch K. et al., PD-1 immune checkpoint blockade reduces pathology and improves memory in mouse models of Alzheimer's disease, Nature Medicine, 2016, 22(2):137-137も参照されたい)。

【1043】

したがって、一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-L1に特異的に結合し、PD-1/PD-L1免疫チェックポイント経路によって免疫系にかけられた抑制を解除することによって、個体における全身性免疫抑制のレベルを低減させる。一態様では、PD-1/PD-L1阻害性免疫チェックポイント経路遮断は、全身適合性免疫活性の抑制からの一次的な解除をもたらす、これは、IFN-γ産生細胞によるIFN-γ分泌の上昇によって主に顕在化される、末梢における免疫応答の一次的な増大をもたらす。IFN-γ活性の増加は、脳の脈絡叢が、選択的な白血球移動、ならびに損傷したCNS内へのT細胞および単球の浸潤、神経変性病理および神経炎症の部位への免疫細胞のホーミングを行うことを可能にさせ得、毒性薬剤のクリアランス、神経のレスキュー、再生、および修復のために、より毒性が低く、より許容的になるように環境を調節し得る。

10

【1044】

したがって、PD-L1媒介性疾患または病的状態は、神経変性疾患、障害、または病的状態である。一実施形態では、神経変性疾患、障害、または病的状態は、アルツハイマー病である。別の実施形態では、神経変性疾患、障害、または病的状態は、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、ハンチントン病、一次性進行型多発性硬化症、二次性進行型多発性硬化症、大脳皮質基底核変性症、レット症候群、加齢黄斑変性および網膜色素変性症から選択される網膜変性障害、前部虚血性視神経症、緑内障、ブドウ膜炎、うつ病、外傷関連ストレスまたは心的外傷後ストレス障害、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、軽度認知障害、後皮質萎縮、原発性進行性失語および進行性核上性麻痺または加齢認知症選択される。別の実施形態では、神経変性疾患、障害、または病的状態は、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、およびハンチントン病から選択される。

20

【1045】

本明細書に記載される抗PD-L1抗体は、任意選択で、1つ以上の他の免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗TIM-3抗体、抗CTLA-4抗体、抗TIGIT抗体、および抗LAG-3抗体）または1つ以上の他の免疫刺激剤（例えば、本明細書において態様1aに具体的に記載されるものを含む、抗OX40抗体、抗GITR抗体、抗CD137抗体、抗ICOS抗体、および抗CD40抗体）と組み合わせて、アルツハイマー病または他の神経変性疾患の治療において使用され得る。他の組み合わせのパートには、WO2015/136541の請求項10に列挙される活性薬剤のいずれかが含まれ得、これは、参照により本明細書に組み込まれる。

30

【1046】

本明細書に記載されるPD-L1抗体（少なくとも概念1～40のいずれかに記載される抗体および態様1aに記載されるPD-L1抗体を含む）はいずれも、上記の神経変性疾患、障害、または病的状態の治療のために使用され得る。

【1047】

ヒトにおける例示的な癌には、メルケル細胞癌、乳癌、前立腺癌、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳およびCNSの癌（例えば、神経膠芽腫）、子宮頸癌、絨毛癌、結腸および直腸の癌、結合組織の癌、消化器系の癌；子宮内膜癌、食道癌；眼癌；頭頸部癌；上咽頭癌；胃癌（gastric cancer）；上皮内腫瘍；腎臓癌；咽頭癌；白血病；肝臓癌；肺癌（例えば、小細胞および非小細胞）；DLBCLを含むがこれに限定されない、ホジキンおよび非ホジキンリンパ腫を含むリンパ腫；慢性リンパ球性白血病、黒色腫；ブドウ膜黒色腫、骨髄腫、神経芽腫、口腔癌（例えば、唇、舌、口、および咽頭）；卵巣癌；脾臓癌、網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；直腸癌、腎癌（腎細胞癌種（RCC））、呼吸器系の癌；肉腫、皮膚癌、；胃癌（stomach cancer）、精巣癌、甲状腺癌；子宮癌、泌尿器系の癌、ならびに他の癌種および肉腫が含まれる。ウイルス誘導性癌のさらなる例としては、上咽頭癌、ある特定の種類のNHL（例えば、限定されないが、EBV+CNSリンパ腫、DLBCL、およびBL、ホジキンリンパ腫（EBV誘導性と考えられる）、HPV関連子宮頸癌および頭頸部扁平上皮癌）；HBV幹細胞癌が挙げられる。

40

50

【1048】

ヒトにおける例示的な慢性感染症には、HIV、B型肝炎ウイルス（HBV）、およびC型肝炎ウイルス（HCV）が含まれる。

【1049】

本明細書に記載される抗体または抗原結合断片で治療することができる増殖性または浸潤関連疾患には、腫瘍性疾患、およびかかる腫瘍性疾患と関連する転移、例えば、黒色腫、ブドウ膜黒色腫、皮膚癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、唾液腺、神経膠腫、肝細胞（肝臓）癌、胆嚢癌、甲状腺腫瘍、骨癌、胃（gastric）（胃（stomach））癌、前立腺癌、乳癌（トリプルネガティブ乳癌を含む）、卵巣癌、子宮頸癌、子宮癌、外陰部癌、子宮内膜癌、精巣癌、膀胱癌、肺癌、膠芽腫、向上せん癌、子宮内膜癌、腎臓癌、結腸癌、結腸直腸癌、膵臓癌、食道癌、脳／CNSの癌、神経細胞の癌、頭頸部癌（頭頸部扁平上皮癌（SCCHN）を含むがこれに限定されない）、中皮腫、肉腫、胆道（cholangiocarcinoma胆管癌）、小腸の腺癌、小児性悪性腫瘍、類表皮癌、肉腫、側膜／腹膜の癌、ならびに急性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、および多発性骨髄腫を含む白血病が含まれる。治療可能な慢性ウイルス感染症には、ヒトにおけるHIV、B型肝炎ウイルス（HBV）、およびC型肝炎ウイルス（HCV）、サルにおけるサル免疫不全ウイルス（SIV）、ならびにマウスにおけるリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）が含まれる。

10

【1050】

抗体またはその抗原結合断片は、単独で、または他の抗体もしくは化学療法薬、放射線療法、もしくは治療用ワクチンと組み合わせて投与され得る。一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、抗体またはその抗原結合断片が細胞傷害性薬剤または細胞増殖抑制剤等の薬物部分と結合している、抗体-薬物コンジュゲートとして投与される。コンジュゲートされていない薬物の投与は、許容できないレベルの毒性をもたらし得る一方で、癌の治療における細胞傷害性薬剤または細胞増殖抑制剤の局所送達のための抗体-薬物コンジュゲートの使用は、腫瘍への薬物部分の標的化送達を可能にする。抗体薬物コンジュゲート中の薬物には、ダウノマイシン、ドキソルビシン、メトトレキサート、およびビンデシンが含まれ得るが、これらに限定されない。毒素もまた抗体-毒素コンジュゲートに使用され得、これには、ジフテリア毒素等の細菌毒素、リシン等の植物毒素、ゲルダナマイシン等の小分子毒素が含まれる。毒素は、チューブリン結合、DNA結合、またはトポイソメラーゼを含む機構によってそれらの細胞傷害性または細胞増殖抑制効果をもたらし得る。

20

30

【1051】

検出

別の実施形態では、抗体または抗原結合断片を使用して、試料中の表面発現されたPD-L1発現の存在、不在、および／またはレベルを検出することができる。PD-L1表面発現は、インビボおよび／またはインビトロで検出され得、PD-L1の発現および／または過剰発現を伴う疾患または病的状態の診断の補助において有用である。

【1052】

インビトロ診断

別の実施形態では、PD-L1特異的抗体またはその抗原結合断片は、患者からの生体試料の発現および局在化の評価のために使用され得る。一実施形態では、生体試料は、組織試料であり、PD-L1発現は、フローサイトメトリー、新鮮な組織におけるIHC、FFPE組織におけるIHC、および／または凍結した組織におけるIHC等の既知の方法を使用して検出される。他の実施形態では、生体試料は、血液、血漿、または血清である。

40

【1053】

一実施形態では、本明細書に記載される抗体または抗体断片は、検出可能な部分、例えば、放射標識、蛍光標識、酵素標識、化学発光標識、またはビオチニル基で標識されている。評者性同位体または放射性核種には、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc

50

、 ^{115}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I が含まれ得、蛍光標識には、ローダミン、ランタニド蛍光体、またはFITCが含まれ得、構想標識には、西洋ワサビペルオキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリフォスファターゼが含まれ得る。さらなる標識には、制限的ではなく例示目的で、グルコース-6-リン酸脱水酵素（「G6PDH」）、アルファ-D-ガラクトシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、グルコースアミラーゼ、炭酸脱水酵素、アセチルコリンエステラーゼ、リゾチーム、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、およびペルオキシダーゼ等の酵素；色素；フルオレセインおよびその誘導体、蛍光色素、GFP（「緑色蛍光タンパク質」のGFP）、ダンシル、ウンベリフェロン、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、*o*-フタアルデヒド（phthaldehyde）、およびフルオレスカミン等の追加の蛍光標識または蛍光体；ランタニドクリプテートおよびキレート等のフルオロフォア、例えば、ユーロピウム等（パーキンエルマーおよびシスビオ（Cisbio）アッセイ）；イソルミノール、ルミノール、およびジオキセタン等の化学蛍光標識または化学蛍光体；増感剤；補酵素；酵素基質；ラテックスまたは炭素粒子等の粒子；金属ゾル；微結晶；リポソーム；細胞等が含まれ、これらは、色素、触媒、または他の検出可能な基；ビオチン、ジゴキシゲニン、または5-ブロモデオキシウリジン等の分子；例えば、*Pseudomonas* 菌外毒素（PEまたはその細胞毒性断片もしくは変異体）、*Diphtheria* 毒素またはその細胞毒性断片もしくは変異体、ボツリヌス毒素A、B、C、D、E、またはF、リシンまたはその細胞毒性断片、例えば、リシンA、アブリンまたはその細胞毒性断片、サポリンまたはその細胞毒性断片、ヤマゴボウ抗ウイルス毒素またはその細胞毒性断片、およびブリオジン（bryodin）1またはその細胞毒性断片からなる群から選択される毒素部分等の毒素部分でさらに標識され得る。

【1054】

インビボ診断

一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、患者に投与され得、抗体または抗原結合断片は、標識とコンジュゲートされている。患者における標識の存在が測定または観察され得、比較的多い量の標識は、疾患の高リスクを示し得、比較的小さい量の標識は、疾患の低リスクを示し得る。一実施形態では、標識は、造影剤、同位体タグ、または緑色蛍光タンパク質等の蛍光マーカーであり得る。

【1055】

一実施形態では、抗体または抗原結合断片は、他の治療剤、例えば、化学療法剤またはPD-L1に特異的に結合する他の抗体の使用を伴う療法を監視するために使用される。一実施形態では、抗体は、治療用PD-L1抗体と競合しない。

【1056】

患者選択のガイド

一実施形態では、PD-L1発現の検出を使用して、患者選択をガイドすることができる。一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片を使用して、WO2011/066389、表題「Targeted Binding Agents Against B7-H1」（その抗体および配列は、参照により本明細書に組み込まれる）に開示される抗PD-L1抗体を含むがこれに限定されない、抗PD-L1抗体での治療用抗体のための患者選択を補助することができる。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片を使用して、抗PD-L1、抗CTLA4、抗OX40、抗PD-1、ワクチン等の免疫療法での治療のための患者選択を補助することができる。場合によって、高レベルのPD-L1は、療法の成功を示し得、より低いレベルは、成功の可能性の低減を示し得る。スプライス変異型および／またはタンパク質プロセッシングの優先的発現は、固有の混合プロファイルを産生し得、これは、治療に対する患者の応答に影響を及ぼし得るか、または後の治療を変化させ得る。これらのプロファイルは、患者を同定し、治療を受けるか、治療を受け続けるべきか、または代替的な治療を受けるべき患者のサブセットを定義することを補助し得る。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-L1アイソフォームの検出のために使用され得る。患者試料には、例えば、血液、血漿、血清、痰、唾液、尿

、C S F、涙液、吐き出された外来性粒子試料、細胞上清、細胞もしくは組織可溶化物、または組織試料が含まれ得る。

【1057】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片を使用して、ベースライン、すなわち治療前のPD-L1発現の存在、不在、および／またはレベルを特定することができる。

【1058】

別の実施形態では、PD-L1特異的抗体またはその抗原結合断片は、PD-L1を標的としない療法での治療を示すための排除マーカーとして使用され得る。別の実施形態では、PD-L1特異的抗体またはその抗原結合断片は、平均余命のための予後診断マーカーとして使用され得る。とりわけ、腫瘍上のPD-L1発現は、予後不良に関連し、腫瘍型内での過去のデータに基づいて平均余命を推測することができる。

【1059】

タンパク質の検出のための方法は既知であり、これには例えば、IHC、フローサイトメトリー、ウェスタンブロッティング、および質量分析法、免疫沈降法、アプタマー、免疫PCR、ならびにタンパク質アレイが含まれる。

【1060】

療法のガイド

抗体を使用して、療法をガイドすることができる。例えば、抗体またはその抗原結合断片を使用して、治療中または治療後にPD-L1発現の存在、不在、および／またはレベルを特定することができる。一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、患者管理、薬物承認、および償還において補助するための初期応答バイオマーカーとして使用され得る。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片を使用して、療法のガイドを補助するためにPD-L1発現の存在、不在、および／またはレベルを特定することができる。例えば、PD-L1発現は、治療が有効であるかどうか、したがって、治療が継続されるべきかどうか、または用量が調節（増加または減少）されるべきかどうか、および併用レジメンが変更されるべきかどうかの判定を補助することができる。例えば、一実施形態では、PD-L1特異的抗体またはその抗原結合断片は、投与量設定（PK/PD）のために、PD-L1療法で治療された患者における細胞上のPD-L1の受容体占有を判定するために使用され得る。とりわけ、受容体占有は、標的関与または標的網羅範囲の尺度として使用され得る。生物学的または臨床的応答を引き出すために必要な標的関与の量または時間の推測は、患者が十分に投薬されているかどうかを判定するために使用され得る。とりわけ、抗体は、用量、曝露、受容体占有、薬力学的応答、および臨床的有用性の間の関係の評価を補助するために使用され得る。

【1061】

治療の有効性の監視

別の実施形態では、PD-L1特異的抗体またはその抗原結合断片は、治療の経過が有効であるかどうか、および治療が継続されるべきかどうかの評価を補助するために、患者の監視に使用され得る。例えば、一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、患者がPD-L1を標的とする療法的治療を受ける前に発現を検出するために使用され得る。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、療法中、または療法的抗PD-L1治療を受けた後に発現を検出するために使用され得る。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、療法の経過が有効であるかどうか、および継続されるべきかまたは中断されるべきかの判定を補助するために、初期応答マーカーとして使用され得る。一実施形態では、PD-L1の発現は、洗い出し後に検出され、「洗い出し」という用語は、その後、投与された薬物が身体から除去される時間を指す。とりわけ、PD-L1の発現は、患者が検出抗体と競合する抗PD-L1療法で治療された場合に、洗い出しの後に検出され得る。しかしながら、患者が、抗CTLA-4または抗PD-1等の抗PD-L1抗体と競合しない抗体で治療された場合、検出は、洗い出しを待つことなく実施されてもよい。別の実施形態では、検出抗体は、PD-L1に結合するが、PD-L1に結合する治療用抗体と競合しない場合がある。この状況では、洗い出しは必要ない場合がある。洗

10

20

30

40

50

い出し期間は、多くの要因によって変動し得るが、一般に、直近の化学療法または免疫療法での治療から、少なくとも約1、2、3、4、5、または6週間、および最大で約1、2、3、4、5、または6カ月の期間である。抗体またはその抗原結合断片を使用して、生検試料または循環腫瘍細胞（CTC）上のPD-L1の発現を判定することができる。

【1062】

一実施形態では、標識された抗体またはその抗原結合断片を使用して、治療前、治療中、および治療後の腫瘍ステータスの非侵襲的評価を可能にするために末梢相関を特定することができる。

【1063】

タンパク質の検出のための方法は既知であり、これには例えば、IHC、フローサイトメトリー、ウェスタンブロットティング、および質量分析法、免疫沈降法、アプタマー、免疫PCR、ならびにタンパク質アレイが含まれる。

【1064】

PD-L1のタンパク質結合パートナーの同定

別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、タンパク質「プルダウン」の文脈において、PD-L1タンパク質種のタンパク質結合パートナーの検査のための捕捉試薬または検出試薬として使用され得る。タンパク質「プルダウン」とは、無傷タンパク質複合体、例えば、抗体、ならびに任意のタンパク質またはそれに結合したリガンドの免疫沈降を指し、免疫共沈降（Co-IP）としても知られる。Co-IPは、タンパク質のより大きい複合体のメンバーであると考えられている既知のタンパク質を標的とする抗体を選択することによって機能する。抗体を用いて既知のメンバーを標的化することによって、タンパク質複合体全体を溶液外に引き出し、それにより複合体の未知のメンバーを同定することが可能となり得る。PD-1軸対CTL A-4等を通して免疫認識の制御の完全な理解は、完全には理解されていない。このように、抗体および抗原結合断片は、特定の両方または免疫療法残飯に応答する患者の傾向を判定し得る、アクセサリタンパク質と因子との間の相互作用の知識を改善することができる。

【1065】

7. 医薬組成物

文脈から別途明らかな限り、抗体または断片の組成物は、本発明の免疫サイトカインおよび多重特異性（例えば、二重特異性または二重結合抗体）について準用される。

【1066】

一実施形態では、有効量の抗体または抗原結合断片と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物が提供される。治療用に用いられる抗体の有効量は、例えば、治療目的、投与経路、および患者の状態に依拠することになる。一実施形態では、組成物は、他の賦形剤または安定化剤を含む。

【1067】

薬学的に許容される担体は既知であり、用いられる投薬量および濃度で、それに曝される細胞または哺乳動物に対して無毒である担体、賦形剤、または安定化剤が含まれる。しばしば、生理学的に許容される担体は、pH緩衝水溶液である。生理学的に許容される担体の例としては、リン酸、クエン酸、および他の有機酸等の緩衝液；アスコルビン酸を含む抗酸化剤；低分子量（約10個未満の残基）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリン等のタンパク質；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、アルギニン、もしくはリジン等のアミノ酸；単糖類、二糖類、およびグルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む他の炭水化物；エチレンジアミン四酢酸（EDTA）等のキレート剤；マンニトールもしくはソルビトール等の糖アルコール；ナトリウム等の塩形成対イオン；ならびに／またはTWEEN（商標）ポリエチレングリコール（PEG）、およびPLURONICS（商標）等の非イオン性界面活性剤が挙げられる。

【1068】

抗体または抗原結合断片は、例えば、液体または粉末エアゾール（凍結乾燥した）とし

10

20

30

40

50

て、静脈内に、または鼻、肺を通して投与され得る。組成物はまた、非経口的または皮下に投与されてもよい。全身に投与される場合、組成物は、滅菌され、パイロジェンを含まず、pH、等張性、および安定性を鑑みた生理学的に許容される溶液中になければならない。これらの条件は、当業者に既知である。

【1069】

予防剤もしくは治療剤（例えば、本明細書に開示される抗体）、または医薬組成物を投与する方法には、非経口投与（例えば、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、および皮下）、硬膜外、ならびに粘膜（例えば、鼻腔内および経口経路）が含まれるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、予防剤もしくは治療剤（例えば、本明細書に開示される抗体）、または医薬組成物は、鼻腔内、筋肉内、静脈内、または皮下に投与される。予防剤もしくは治療剤、または医薬組成物は、任意の好都合な経路によって、例えば、注入またはボラス注射によって、上皮内層または粘膜皮膚内層（例えば、口腔粘膜、鼻腔内粘膜、直腸および腸管粘膜等）からの吸収によって投与されてもよく、他の生物学的に活性な薬剤と共に投与されてもよい。投与は、全身または局所であり得る。各用量は、同一の投与経路によって投与されてもされなくてもよい。一実施形態では、本明細書に開示される抗PD-L1抗体または断片は、本明細書に開示される、同じまたは異なる抗PD-L1抗体または断片の他の用量と同時または連続的に、複数の投与経路を介して投与され得る。

【1070】

様々な送達系が既知であり、予防剤または治療剤（例えば、本明細書に開示される抗体または断片）を投与するために使用され得、これには、リポソーム中のカプセル化、微小粒子、マイクロカプセル、抗体を発現することができる組換え細胞、受容体媒介性エンドサイトーシス（例えば、Wu and Wu, J. Biol. Chem. 262:4429-4432 (1987) を参照されたい）、レトロウイルスまたは他のベクターの一部としての核酸の構築等が含まれるが、これらに限定されない。さらに、例えば、吸入器またはネブライザーの使用およびエアゾール化剤での製剤化によって肺内投与もまた用いられ得る。例えば、米国特許第6,019,968号、同第5,985,320号、同第5,985,309号、同第5,934,272号、同第5,874,064号、同第5,855,913号、同第5,290,540号、および同第4,880,078号、ならびにPCT公開第WO92/19244号、同第WO97/32572号、同第WO97/44013号、同第WO98/31346号、および同第WO99/66903号を参照されたい（各々、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる）。

【1071】

特定の実施形態では、本明細書に記載される予防剤もしくは治療剤、または医薬組成物を、治療を必要とする領域に局所的に投与することが望ましい場合がある。これは、例えば、局所注入、局所投与（例えば、鼻腔内スプレーによる）、注射、または移植によって達成され得、当該移植は、シアラスティック（sialastic）膜等の膜または繊維を含む、多孔材料、非多孔材料、またはゲル状材料のものである。抗PD-L1抗体または断片を投与する場合、抗体が吸収されない材料を使用するように注意を払う必要がある。

【1072】

8. キットおよび製品

文脈から別途明らかでない限り、抗体または断片のキットおよび製品は、本発明の免疫サイトカインおよび多重特異性（例えば、二重特異性または二重結合抗体）について準用される。

【1073】

一実施形態では、本発明は、生体試料においてPD-L1を検出するためのキットを提供する。キットを使用して、PD-L1関連疾患についてスクリーニングすることができる。一実施形態では、キットは、抗体または抗原結合断片と、抗体または抗原結合断片が試料中でPD-L1に結合しているかどうかを判定するための手段とを含む。一実施形態では、抗体または抗原結合断片は、標識されている。別の実施形態では、抗体または抗原結合断片は、未標識の一次抗体であり、キットは、一次抗体を検出するための手段を含む

。一実施形態では、検出するための手段は、抗免疫グロブリン抗体である、標識された二次抗体を含む。抗体は、例えば、蛍光色素、酵素、放射性核種、および放射線不透過性材料を含む、任意の好適なマーカーで標識され得る。好適な抗体および抗原結合断片は、上記に詳細に記載される。

【1074】

一実施形態では、PD-L1を検出するためのキットが提供され、当該キットは、本明細書に記載される抗体または抗原結合断片を含む。一実施形態では、キットはまた、説明書と、PD-L1を検出するための1つ以上の試薬とを含み得る。一実施形態では、キットは、IHCのためのホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織試料を調製するための説明書および／またはIHCのための1つ以上の試薬と共に、本明細書に記載される抗体または抗原結合断片を含む。一実施形態では、キットは、一次抗体として本明細書に記載される抗体または抗原結合断片と、それに特異的に結合する二次抗体とを含む。一実施形態では、キットは、本明細書に記載される標識された抗原または抗原結合断片を含み、標識は、フルオレセインもしくはローダミン等の蛍光標識、または西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）もしくはアルカリホスファターゼ（AP）等の酵素レポーターを含む。一実施形態では、キットは、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）等の緩衝液中、少なくとも約1%で最大で約5%、または約2%～3%、または約2%の冷水魚皮ゼラチンタンパク質（CWF）を含む遮断試薬を含む。一実施形態では、キットは、少なくとも1、2、5、または10mM、および最大で10、15、または20mMの濃度で、約5.5～9のpHまたは約6のpHで、クエン酸緩衝液、例えばクエン酸ナトリウム等の、抗原回収のための緩衝液を含む。

【1075】

別の実施形態では、PD-L1の発現を伴う疾患を治療するためのキットが提供され、当該キットは、本明細書に記載される抗体または抗原結合断片と、抗体または抗原結合断片を、治療を必要とする対象に投与するための説明書とを含む。本明細書に開示される医薬組成物の成分のうちの1つ以上、例えば本明細書に提供される1つ以上の抗PD-L1抗体または断片を充填した1つ以上の容器を含む薬学的または診断用パックまたはキットもまた提供される。任意選択で、かかる容器（複数可）には、薬学的または生物学的製品の製造、使用、または販売を規制する政府機関によって指定された形式の通知が関連付けられてもよく、この通知は、ヒトの投与のための製造、使用、または販売の期間による認可、例えば、承認番号を表す。

【1076】

別の実施形態では、その中に、本明細書に記載される抗体または抗原結合断片を含有する組成物、および組成物がPD-L1の発現または過剰発現を特徴とする疾患を治療するために使用され得ることを示す添付文書またはラベルが提供される容器を含む製品。一実施形態では、PD-L1媒介性病的状態または疾患を治療および／または予防するためのキットが提供され、キットは、任意選択でヒトにおける当該疾患または病的状態を治療および／または予防するための使用のためのラベルまたは説明書と組み合わせて、任意の実施形態または実施形態（および任意選択で、本明細書の他の箇所に記載されるさらなる治療剤）の組み合わせで本明細書に開示される抗体または断片を含み、任意選択でラベルまたは説明書は、販売承認番号（例えば、FDAまたはEMA承認番号）を含み、任意選択でキットは、抗体または断片を含むIVまたは注射デバイスを含む。別の実施形態では、キットは、容器またはIVバッグ内に収容された抗体またはその抗原結合断片を含む。別の実施形態では、容器またはIVバッグは、滅菌容器または滅菌IVバッグである。別の実施形態では、抗体または抗原結合断片は、したがって、（滅菌）容器内に収容されたか、または（滅菌）IVバッグ内に収容された医薬組成物に製剤化される。さらなる実施形態では、キットは、使用のための説明書をさらに含む。

【実施例】

【1077】

実施例1－抗原調製、免疫付与手順、およびハイブリドーマ生成

以下の実施例は、K y M o u s e（商標）系を使用する、抗ヒトPD-L1モノクローナル抗体のパネルの生成および同定の詳細な説明を提供する。（例えば、WO2011/004192、WO2011/158009、およびWO2013/061098を参照されたい）。この目的で、多数のヒト免疫グロブリン遺伝子を含む遺伝子組換えマウスに、マウス胎仔線維芽細胞（MEF）細胞上に提示された、可溶性組換えヒトPD-L1または表面発現されたヒトPD-L1で免疫付与した。従来の腹腔内注射および複数の部位での拘束免疫付与（RIMMS）レジメンを含む様々な免疫付与レジメンを設定し、数週間にわたって動物をブーストした（以下の詳細な方法を参照されたい）。各レジメンの終わりに、脾臓、および場合によってはリンパ節等の二次リンパ組織を除去した。組織を単一細胞懸濁液に調製し、SP2/0細胞と融合させて、安定したハイブリドーマ細胞株を生成した。

10

【1078】

材料および方法

a) ヒトPD-L1を発現する、安定的にトランスフェクトされたMEFおよびCHO-S細胞の生成：

全長ヒトPD-L1配列（配列番号1、B7-H1としても知られる）を、哺乳動物発現についてコドン最適化し、3'および5' piggyBac特異的末端反復配列に隣接したCMVプロモーター下で発現ベクターにクローニングし、細胞ゲノム内への安定した組込みを容易にした（「A hyperactive piggyBac transposase for mammalian applications」；Yusa K., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A., 108（4）：1531-6, 2011 Jan 25を参照されたい）。さらに、発現ベクターは、安定した細胞株生成を容易にするために、ピューロマイシン選択カセットを含有した。製造業者の指示に従ってFreeStyle Maxトランスフェクション試薬（Invitrogen）を使用して、ヒトPD-L1発現プラスミドを、自家由来のマウス胎仔線維芽（MEF）細胞株（この株を生成するために使用した胚は、C57/BL6雌マウスと交配した129S5から得た）およびCHO-S細胞に、piggyBacトランスポザーゼをコードするプラスミドと共に同時トランスフェクトした。トランスフェクションの24時間後に、培地にピューロマイシンを補充し、完全培地を3～4日ごとに交換しながら少なくとも2週間成長させて、安定した細胞株を選択した。抗ヒトPD-L1-PEにコンジュゲートされた抗体（eBioscience）を使用してフローサイトメトリーによってhPD-L1の発現を評価した。完全MEF培地は、10% v/vのウシ胎仔血清（Gibco）を補充したダルベッコ変法イーグル培地（Gibco）で構成された。完全CHO-S培地は、8mMのGlutamax（Gibco）で補充したCD-CHO培地（Gibco）で構成された。トランスフェクトされたCHO細胞をスクリーニング目的に使用した（実施例2を参照されたい）。

20

30

【1079】

b) マウス免疫付与のためのMEF細胞の調製：

細胞培養培地を除去し、細胞を1×PBSで1回洗浄した。細胞をトリプシンで5分間処理して、組織培養表面から細胞を離した。細胞を回収し、完全MEF培地の添加によってトリプシン中和した。次いで、細胞を10分間、300gで遠心分離させ、25mLの1×PBSで洗浄した。細胞を計数し、1×PBS中、適切な濃度で再懸濁した。

40

【1080】

c) PD-L1での免疫付与

ヒトカッパ（HK）軽鎖抗体を産生するヒト免疫グロブリン遺伝子を含む遺伝子組換えKymouse（商標）HK株（Lee et al., Nature Biotechnology, 32, 6-363, 2014）に、ヒト抗PD-L1抗体の生成のための様々な免疫付与レジメンによって免疫付与した。

【1081】

修正皮下免疫付与手順（RIMMS、Kilpatrick et al., 「Rapi

50

d development of affinity matured monoclonal antibodies using RIMMS」; Hybridoma. 1997 Aug; 16 (4) : 381-9の後に修正され、本明細書において以下、KM031と称する)を使用して可溶性組換えhPD-L1 (R&D Systems、156-B7、Fcキメラ)で、またはプライム・レスト・ブースト (prime-rest-boost) レジームにおける可溶性組換えhPD-L1を使用することによって、または腹腔内に投与された、可溶性組換えhPD-L1と、hPD-L1を発現する安定してトランスフェクトされたMEF細胞との組み合わせ (本明細書において以下、KM033と称する) によって、のいずれかで、マウスに免疫付与した。全ての免疫付与についてSigma Adjuvant Systemを使用し、安静間隔は通常、2~3週間であった。免疫原としてタンパク質を使用した場合、CpG (Hokkaido System Science) も投与した。ELISAおよびフローサイトメトリーによって特異的抗体の存在について連続血液試料または末端血液試料からの血清を分析し、力価のデータを使用して (可能な場合)、ハイブリドーマ融合に使用するマウスを選択した。プライム・レスト・ブースト設定においてMEF-PD-L1細胞単独、またはタンパク質単独でのKM042免疫付与であるさらなるレジメンも実施したが、hPD-L1への結合が確認された6個の抗体のうち、中和抗体は同定されなかった。

【1082】

d) 組換えタンパク質のクローニングおよび発現

PD-L1をコードするDNA配列を合成DNA列として購入し、Exp293およびCHO細胞中の一時的発現のために適切な哺乳動物発現ベクター内にクローニングした。配列表は、利用可能な場合、抗原の配列、および精製/標識のための親和性タグ (太字および下線で示されている) を示す (配列番号3~6を参照されたい)。

【1083】

e) 逆PD-L1 ELISAプロトコルによる血清力価の判定

逆PD-L1 ELISAプロトコルを使用してマウス血清試料中の力価を判定した。抗マウスIgG捕捉抗体 (Southern Biotech) (PBS中で希釈した4 $\mu\text{g/mL}$ 、50 μL /ウェル) を96ウェル低自家蛍光の高タンパク質結合プレート (Costar) に4°Cで一晩吸着させた。PBS-Tween (0.1% v/v) で3回洗浄することによって過剰なIgGを除去し、PBS中、室温で1時間、ウェルを1% w/v ウシ血清アルブミン (BSA, Sigma) でブロックし、その後、プレートをPBS-Tween (0.1% v/v) で3回洗浄した。試薬希釈剤 (0.1% w/v のBSA/PBS) 試料を希釈し、マウス血清の段階10倍希釈を調製した。次いで、この滴定の50 μL /ウェルを、ELISAプレートに添加した。免疫付与に起因する活性レベルの変化を判定するために、免疫付与前の各動物からの血清を試薬希釈剤中で1/100に希釈し、50 μL /ウェルをELISAプレートに添加した。インキュベーション後、前と同様にプレートを洗浄して、未結合のタンパク質を除去した。ビオチニル化hPD-L1-his (自家生成されたタンパク質、配列番号3、Sulfo-NHS-LC-Biotin (Thermo) を使用して自家標識されている、試薬希釈剤中100 ng/mLで使用される、50 μL /ウェル) をプレートに添加し、室温で1時間インキュベートした。PBS-Tween (0.1% v/v) で洗浄することによって未結合のビオチニル化hPD-L1を除去し、試薬希釈剤中で1/10,000に希釈されたストレプトアビジン-HRP (Sigma) の添加によって、残りのビオチニル化hPD-L1を検出した。室温で1時間のインキュベーション後に、前述のようにプレートを洗浄し、50 μL のTMB (Sigma) をプレートに添加した。50 μL の1M硫酸 (Fluka Analytical) を添加することによって反応を停止した。450 nmでのODをEnvisionプレートリーダー (PerkinElmer) 上で測定した。1匹のマウスのみが免疫付与されたため、KM032について滴定を実施しなかった。KM031について、末端血液のみにおいて滴定を実施した。

【1084】

10

20

30

40

50

f) CHO-S 発現 hPD-L1 を使用したフローサイトメトリーによる血清力価の判定
FACS 緩衝液 (PBS + 1% w/v BSA + 0.1% w/v アジ化ナトリウム) 中に懸濁させた、hPD-L1 を発現する CHO-S 細胞を、ウェル当たり 10^5 細胞の密度で 96 ウェル、V 字底プレート (Greiner) に分配した。FACS 緩衝液中で試料を希釈して、マウス血清の滴定を調製した。次いで、この滴定の $25 \mu\text{L}$ /ウェルを、細胞プレートに添加した。免疫付与に起因する活性レベルの変化を判定するために、免疫付与前の各動物からの血清を FACS 緩衝液中で $1/100$ に希釈し、 $25 \mu\text{L}$ /ウェルを細胞に添加した。細胞を 4°C で 1 時間インキュベートした。細胞を $150 \mu\text{L}$ の PBS で 2 回洗浄し、各洗浄ステップ後に遠心分離させて上清を吸引した ($300 \times g$ で 3 分間遠心分離させた)。抗体結合を検出するために、PE ヤギ抗マウス IgG (Jackson ImmunoResearch) を、FACS 緩衝液中で $1/500$ に希釈し、 $50 \mu\text{L}$ を細胞に添加した。細胞を 4°C の暗所で 1 時間インキュベートし、次いで、上記のように $150 \mu\text{L}$ の PBS で 2 回洗浄した。細胞を固定するために、 $100 \mu\text{L}$ の 2% v/v パラホルムアルデヒドを添加し、細胞を 4°C で 30 分間インキュベートした。次いで、細胞を $300 \times g$ での遠心分離によってペレット化し、プレートを $100 \mu\text{L}$ の FACS 緩衝液中に再懸濁させた。BD FACS Array 器具を使用したフローサイトメトリーによって PE シグナル強度 (幾何平均) を測定した。滴定は、KM033 のみについてこの方法で実施した。

【1085】

g) マウス組織単離および調製

最終ブースト後に、マウスを選別し、免疫付与したマウスから脾臓を切除し、 $1 \times \text{PBS}$ 中で洗浄し、さらなる処理まで氷上で保存した。 $1 \times \text{PBS}$ (Invitrogen) および 3% の熱失活した FBS (Invitrogen) を含有する緩衝液中で組織を調製した。 $45 \mu\text{m}$ のストレーナー (BD Falcon) を通して組織をすり潰し、 30 mL の 3% FBS/PBS 緩衝液ですすいだ後に、 4°C で 10 分間、 $700 g$ で遠心分離させることによって、脾臓細胞を分散させた。赤血球を除去するために、ペレット化した脾臓細胞を 4 mL の赤血球溶解緩衝液 (Sigma) 中に再懸濁させた。4 分間のインキュベーション後、3% の FBS/ $1 \times \text{PBS}$ 緩衝液の添加によって溶解反応を停止した。細胞集塊を $45 \mu\text{m}$ のストレーナーで濾過して除去した。残りの脾臓細胞を、さらなる手順のためにペレット化した。KM031 および KM032 について、腋窩、鼠径、および腸間膜リンパ節も除去し、さらなる処理まで氷上で滅菌 $1 \times \text{PBS}$ 中に置いた。リンパ節を、脾臓細胞とは別々に処理した。リンパ節細胞を上記のように調製したが、赤血球溶解は受けなかった。残りのリンパ節細胞を、さらなる手順のためにペレット化した。

【1086】

h) ハイブリドーマ融合

脾臓およびリンパ節細胞を KM031 および KM032 からプールされ、MACS (登録商標) 分離システムを使用して負の選択法に供した。簡潔には、リンパ節を使用した場合、それらの細胞を、赤血球溶解後に対応するマウスからの脾臓細胞と共にプールし、総細胞数を決定した。細胞を、 10^7 細胞当たり $100 \mu\text{L}$ の 3% FBS/PBS 緩衝液中に再懸濁させた後、 10^7 総細胞当たり $10 \mu\text{L}$ の Pan B 細胞ビオチン抗体カクテル (Cat# 130-095-813) および $10 \mu\text{L}$ の抗 IgD ビオチン抗体 (Cat# 130-096-979) を添加し、 4°C で 10 分間インキュベートした。 2 mL の FBS/PBS 緩衝液を添加し、細胞を $700 g$ で 10 分間遠心沈殿させた。上清を完全に吸引し、 $100 \mu\text{L}$ の新鮮な緩衝液を添加し、次いで、 10^7 細胞当たり $30 \mu\text{L}$ の抗ビオチンマイクロビーズ (Cat# 130-047-302) を、 $7 \mu\text{L}$ の抗マウス IgM マイクロビーズ (Miltenyi Biotec) と共に添加した。細胞を冷蔵庫中で 15 分間インキュベートした。次いで、細胞/マイクロビーズ混合物を、磁気 MACS 分離機に配置した、事前に湿らせた LD カラム (Miltenyi Biotec) に適用し、3% の FBS/PBS 緩衝液で洗浄した。カラムを通して流れる未標識の細胞を 3% の FBS/PBS 緩衝液中で回収した。

【1087】

KM033細胞を、MACS（登録商標）分離システムを使用して正の選択法に供した。赤血球溶解後、 10^7 細胞当たり $80\mu\text{L}$ の3% FBS/PBS緩衝液中に脾臓細胞を再懸濁させた後に、抗マウスIgG1（Cat#130-047-101）および抗マウスIgG2a+bマイクロビーズ（Cat#130-047-201）を添加し、 4°C で15分間インキュベートした。次いで、細胞/マイクロビーズ混合物を、磁気MACS分離機に配置した、事前に湿らせたLSカラム（Miltenyi Biotec）に適用し、3%のFBS/PBS緩衝液で洗浄した。3%のFBS/PBS緩衝液中で、標識したカラム結合画分中のIgG陽性細胞を回収した。

【1088】

濃縮したB細胞をCpG（Hokkaido System Science）で一晩処理（最終濃度 $25\mu\text{M}$ ）、翌日に、BSA融合緩衝液（ 0.3M D-ソルビトール、 0.11mM 酢酸カルシウム水和物、 0.5mM 酢酸マグネシウム四水和物、および 0.1% BSA（v/w）、 $\text{pH}7.2$ に調節）中で1回洗浄した。洗浄した細胞を、 $200\mu\text{L}$ のBSA融合緩衝液中に再懸濁させ、細胞数を決定した。SP2/0細胞を同じように処理したが、BSA融合緩衝液で1回洗浄する代わりに2回洗浄した。BTX ECM 2001 Electro Cell Manipulator（Harvard Apparatus）を使用して電気融合によって3:1の比でB細胞をSP2/0骨髓腫細胞に融合させた。核融合は、回収培地（OPI（Sigma）、 $1\times\text{L-Glutamax}$ （Gibco）、 20% FBS（Gibco、ハイブリドーマについてバッチ試験済み）、および 0.05mM の2-メルカプトエタノールを補充したダルベッコ変法イーグル培地（高グルコース、フェノールレッド不含））中に一晩置いた後、回収培地1部および半固体培地9部（ClonaCell-HYハイブリドーマ選択培地D、Stemcell Technologies）中に再懸濁させ、 10cm のペトリ皿に播種した。12日後に可視のコロニーを96ウェルプレートに採取し、スクリーニング前にさらに2~3日間培養した。

【1089】

実施例2 ハイブリドーマ上清スクリーニング

ハイブリドーマクローンの生成後、連続的な一次および二次スクリーンにおいてハイブリドーマ上清を評価し、ヒトPD-L1への抗体結合および受容体中和活性の基準に基づいて適切なハイブリドーマクローンを選択した。記載されるスクリーニングカスケードにおいて、9317個のハイブリドーマクローンを試験し、120個を一次ヒットとして同定した。その後、二次スクリーニング基準を使用することによって36個のハイブリドーマクローンを確認した（材料および方法、ならびに表1において詳細を参照されたい）。二次スクリーンによって同定したクローンの中で、所望の選択条件によって、4個のクローンは抗体の候補の一部として発明者らによって選択された（実施例3において詳細を参照されたい）。

【1090】

材料および方法

a) 一次スクリーン-細胞発現ヒトPD-L1への結合

分泌抗体の、CHO-S細胞の表面上に発現されたhPD-L1に結合する能力について、ハイブリドーマ細胞から回収した上清をスクリーニングした。CHO-S hPD-L1結合を判定するために、 10% のFBS（Gibco）を補充した $80\mu\text{L}$ のF12培地（Gibco）中で、組織培養処理した、黒壁の透明底384ウェルプレート（Costar）に 1×10^4 /ウェルで細胞をプレーティングし、 27°C 、 5% CO_2 で一晩培養した。培養培地を384ウェルアッセイプレートから除去した。 $2\mu\text{g/mL}$ でハイブリドーマ維持培地（HMM）中の少なくとも $5\mu\text{L}$ のハイブリドーマ上清もしくは $5\mu\text{L}$ のMIH1、またはHMM中に希釈したアイソタイプIgG1対照抗体（場合によってはCm7と呼ばれ、Sigma M9269、 $1\mu\text{g/mL}$ の最終濃度）を各ウェルに添加した。HMMは、 $1\times\text{Glutamax}$ （Gibco）、 $20\% \text{v/v}$ のFBS（Gi

10

20

30

40

50

b c o)、0.05 mMのβ-メルカプトエタノール、1×HT補助剤(G i b c o)、および1×ペニシリン／ストレプトマイシン(G i b c o)を補充したAdvanced DMEM(G i b c o)で構成された。500 ng/mLのIRDye 800CW抗マウスAb(L I C O R)および0.2 μMのDRAQ5(B i o s t a t u s)を含有する45 μLのFACS緩衝液を各ウェルに添加した。DRAQ5は、バックグラウンドウェルには添加しなかった。プレートを4℃で1時間インキュベートした。上清を吸引し、25 μLの4% v/vパラホルムアルデヒドを添加し、プレートを室温で15分間インキュベートした。プレートを100 μLのPBSで2回洗浄し、次いで、洗浄緩衝液を完全に除去した。Odyssey Infrared Imaging System(L I C O R(登録商標))を使用してプレートをスキャンすることによって蛍光強度を読み取った。L I C O R(登録商標)推奨アルゴリズムに従って、抗マウス結合(800 nmチャンネル)を、細胞数(700 nmチャンネル)に対して正規化した。効果パーセントは、以下に詳述されるように計算した(方程式1)。0.2 μg/mLの最終アッセイ濃度で参照抗体を使用して全結合を定義した。0.2 μg/mLの最終アッセイ濃度でマウスIgG1アイソタイプ対照(S i g m a)を使用して非特異的結合を定義した。ヒット選択のための基準は、アッセイシグナルおよびスキャンしたプレートの目視検査に基づいた。

10

方程式1：一次スクリーン(L I C O R)およびHTRFからの効果パーセンテージの計算

800%の応答値(L I C O R)または665/620 nm比(方程式2を参照されたい)(HTRF)を使用

20

【数1】

$$\text{効果パーセント} = \frac{(\text{試料ウェル}-\text{非特異的結合}) \times 100}{(\text{全結合}-\text{非特異的結合})}$$

非特異的結合=アイソタイプ対照マウスIgG1を含有するウェルからの値

全結合=参照抗体を含有するウェルからの値

【1091】

30

b) 一次スクリーン：組換えPD-L1への結合

CHO-S発現PD-L1への結合のスクリーニングと並行して、分泌抗体の、組換えタンパク質(自家で産生された)として発現されたhPD-L1に結合する能力について、ハイブリドーマウェルから回収した上清をスクリーニングした。ビオチニル化hPD-L1を使用してHTRF(登録商標)(均一時間分解蛍光法、C i s b i o)アッセイフォーマットによって組換えPD-L1への分泌抗体の結合を同定した。10 μLのハイブリドーマ上清を白色の384ウェルの低容量非結合表面ポリスチレンプレート(G r e i n e r)に移した。HTRFアッセイ緩衝液(PBS(S i g m a)+0.53 M KF(S i g m a)+0.1% w/v BSA(S i g m a))中に希釈した5 μLの230 nMビオチニル化hPD-L1を、10 μLのハイブリドーマ上清または3.3 nMの使用濃度に希釈した10 μLの参照抗体と共に、室温で1時間、事前にインキュベートした。陰性対照ウェルについて、10 μLのHMMを添加した。ストレプトアビジンD2(C i s b i o)、およびユーロピウムクリプテート(C i s b i o)で標識したヤギ抗マウスIgG(S o u t h e r n B i o t e c h)を、いずれもHTRFアッセイ緩衝液中で1/100に希釈し、5 μLのこの混合物を全てのウェルに添加した。EnVisionプレートリーダー(P e r k i n E l m e r)を使用して620 nmおよび665 nmの発光波長で時間分解蛍光を読み取る前に、プレートを暗所で2時間インキュベートさせた。HTRF(登録商標)アッセイ技術のさらなる詳細は、M a t h i s (1995) C l i n i c a l C h e m i s t r y 41(9), 1391-1397に見出すことができる。

40

50

【1092】

各試料について、それぞれ方程式2および方程式1に従って665／620比および効果パーセントを計算することによってデータを分析した。

【数2】

方程式2：665／620比の計算

$$665／620\text{比} = (\text{試料}665／620\text{nm値}) \times 10000$$

【1093】

一般に、ヒット選択のための基準は、10％以上の効果に基づいた。場合によっては、ヒット選択は、20％以上の効果に基づいた。

【1094】

二次スクリーンへの進行は、組換えPD-L1結合ヒットおよびCHO細胞上に発現されたヒトPD-L1への結合からのデータの組み合わせに基づいた。

【1095】

c) 二次スクリーニング：細胞発現組換えヒトPD-L1または天然に発現されたhPD-L1への結合、および結合親和性

一次スクリーン選択基準を使用して選択されたウェルが、発明者らが設定した必要な特徴を有したかどうかを判定するために、いくつかのアッセイを実施した。一次スクリーニングからヒットとして選択したハイブリドーマクローンを、3日間培養し、ハイブリドーマ細胞から回収した上清を試験して、分泌抗体が、場合によってCHO-S発現hPD-L1、または場合によってES2細胞に結合するかどうかを評価した。さらに、組換えhPD-L1 Fcを中和させる能力、CHO-S hPD-L1またはES2細胞への結合もまた評価した。SPRによるヒトPD-L1への抗体の結合もまた試験した。

【1096】

d) 細胞発現hPD-L1への結合、および中和、およびPD-L1へのhPD-L1結合

hPD-L1を発現するCHO-S細胞またはES2細胞のいずれかに結合する能力について、ハイブリドーマ上清の結合を試験した。hPD-L1を発現するCHO-S細胞（自家生成された）、またはhPD-L1を天然に発現するES2細胞（ATCC CRL-1978）をFACS緩衝液中で希釈し、ウェル当たり0.5～1×10⁵細胞の密度で96ウェルのV字底プレート（Greiner）に分配した。細胞を150μLのPBSで洗浄し、300gで3分間遠心分離させた。上清を吸引し、150μLのPBSを添加した。この洗浄ステップを繰り返した。

【1097】

50μLのハイブリドーマ上清または精製したハイブリドーマ材料を洗浄した細胞に添加し、そこに500ng/mLのヒトPD-L1 Fc（自家、配列番号6）を添加した。参照抗体を2μg/mLで培地に添加した。精製した材料を使用した場合、細胞への添加の前に、600nMの最大濃度から滴定を調製した。上清を使用した場合、未希釈の上清、および3つの段階2倍希釈物を細胞に添加した。細胞を4℃で30分間インキュベートした。細胞を150μLのFACS緩衝液で2回洗浄し、各洗浄ステップ後に300×gで3分間遠心分離させて上清を吸引した。

【1098】

抗体および受容体結合を検出するために、FACS緩衝液中で1／500に希釈した50μLのヤギ抗マウスIgG（Jackson ImmunoResearch）およびAPC抗マウスIgG（Jackson ImmunoResearch）を細胞に添加した。細胞を4℃で15分間、暗所でインキュベートした。細胞を上記のように2回洗浄し、分析のためにFACS緩衝液中で再懸濁させた。BD FACS Array器具を使用したフローサイトメトリーによってPEおよびAPCシグナル強度（幾何平均）を測定した。さらなる計算を伴わずに幾何平均値としてデータをプロットした。

【1099】

e) 表面プラズモン共鳴による親和性の判定

ProteOn XPR36 (BioRad) アレイSPRマシンでラベルフリー表面プラズモン共鳴 (SPR) 分析を実施した。GE Healthcareの抗マウスIgGのアミン結合を使用して、抗マウスIgG捕捉表面をGLCバイオセンサチップ上に作製した。試験抗体をこの表面上に捕捉し、256 nM、64 nM、16 nM、4 nM、および1 nMでヒトPD-L1 (自家) を分析物として使用した。HBS-EP (Teknova H8022) を使用してアッセイを25℃で実施した。結合センサグラムを参照するために緩衝液のみを使用した。ProteOn XPR36分析ソフトウェアに固有の1:1モデルを使用してデータを分析した。場合によっては、ハイブリドーマ上清を抗体源として使用し、他の場合では、分析前にハイブリドーマ上清から抗体を精製した (以下を参照されたい)。場合によっては、タンパク質A/G捕捉表面を使用した。これは、Biorbytのタンパク質A/Gのアミン結合をしょしてGLMバイオセンサ上に作製した。

【1100】

f) ハイブリドーマ上清からの抗体の精製

重力流カラム中のタンパク質G樹脂を最初に水で、次いで50 mMの水酸化ナトリウムまたはIgG溶出液 (Pierce) で洗浄し、次いで、組織培養グレードPBSで平衡させた。10% v/vの10×組織培養グレードPBSを含有する、浄化されたハイブリドーマ上清を、平衡タンパク質Gカラムに数回適用した。樹脂を組織培養グレードPBSで洗浄して、未結合の材料を除去した。次いで、抗体をIgG溶出液 (Pierce) で溶出し、次いで、溶出画分を100 mMの最終TRIS (pH 8.0) で中和させた。次いで、10 kDaカットオフ遠心濾過ユニットにおける遠心分離により<1.5 mLまで溶出画分を濃縮した。次いで、組織培養グレードPBSを添加し、試料を再び<1.5 mLまで濃縮した。IgGのナンドロップに固有のモル吸光係数を使用してタンパク質濃度をOD₂₈₀で定量化した。最後に、試料をSDS-PAGEで分析して純度を評価した。

【表1】

表1－ハイブリドーマクローンスクリーニングの要約

実験ID	スクリーニングされたハイブリドーマの数	選別された一次ヒットの数	確認された二次ヒットの数	リード候補mAbの数
KM031	1872	41	4	0
KM032	115	14	6	1
KM033	7330	66	26	1

【1101】

実施例3－抗体候補選択基準

ES2細胞上で天然に発現されたhPD-L1への結合、およびES2細胞への組換えヒトPD-L1結合の中和を、二次スクリーンヒット選択のための基準として使用した。ヒトPD-L1に対する高い親和性および中和能力の組み合わせによって、精製およびさらなる特性評価に進めるためのヒットを判定した。

【1102】

候補となった抗体の選択および特性評価の後、順方向プライマーおよび逆方向プライマーの混合物を使用するRT-PCRを使用してそれらの完全ヒト可変ドメインを回収した。抗体をヒトIgG1骨格に再フォーマット化し、CHO-S細胞中の一過性発現系を使

用して発現させた。

【1103】

材料および方法

a) ハイブリドーマ細胞からのRNA単離

TRIzol (商標) 試薬 (Invitrogen) を使用して全RNAをハイブリドーマ細胞から抽出した。単離したRNAの量および質を分光測定で分析した。

【1104】

b) RT-PCRによる抗体可変ドメイン回収

選択したクローンを使用して全RNAを調製し、これをRT-PCR反応において使用して、重鎖および軽鎖V領域を回収した。マウスIgG特異的逆方向プライマーおよびヒトIgリーダー配列特異的順方向プライマーのセットを重鎖に使用した。マウスカップ定常領域特異的逆方向プライマーおよびヒトカップリーダー配列特異的順方向プライマーのセットをカップ軽鎖に使用した。アガロースゲル電気泳動によってRT-PCR産物を分離し、予測サイズのDNAがゲル精製され、順方向および逆方向に配列決定される。代替的には、RT-PCR産物をクローニングベクターにサブクローニングし、個々のコロニーのDNAを配列決定のために提出した。

【1105】

実施例4-最終リードパネルの選択

組換え発現された抗体をSPRによって分析して、カニクイザルPD-L1およびヒトPD-L1への結合を確認した。また、樹状細胞-T細胞混合リンパ球反応 (MLR) において、IFN γ 産生を増強する能力について抗体を試験した (図1)。一貫した免疫刺激性効果、ならびにヒトおよびカニクイザルPD-L1の両方への結合を有する抗体を最終リードパネルとして選択し、これらは、クローン84G09およびクローン1D05と呼ばれた。図1のデータは、単一の実験からのものである。さらに5回の実験を実施し、同様の結果を示した (84G09は、5回中3回の実験で活性を示し、1D05は、4回中3回の実験で活性を示し、1A01は、3回中1回の実験で活性を示し、8B09は、3回中0回の実験で活性を示した)。1回のさらなる実験は失敗した (陽性対照を含む)。

【1106】

材料および方法

a) ヒト定常領域を有する抗体の分析のための表面プラズモン共鳴

ProteOn XPR36 (BioRad) アレイSPRマシンでラベルフリー表面プラズモン共鳴 (SPR) 分析を実施した。アミン結合によって抗ヒトFc抗体 (Jackson Labs 09-005-008、109-006-008、および309-006-008) の組み合わせを使用して、抗ヒトIgG捕捉表面をGLCバイオセンサチップ上に作製した。試験抗体をこの表面上に捕捉し、128nM、32nM、8nM、2nM、0.5nM、および0nMでヒトPD-L1-hisおよびカニクイザルPD-L1-FLAG (自家、配列番号5) を分析物として使用した。ProteOn XPR36分析ソフトウェアに固有の1:1モデルを使用してデータを分析した。

【1107】

b) 樹状細胞-T細胞MLR (混合リンパ球反応)

樹状細胞を単球前駆体から生成した。Ficoll-Paque plus (GE Healthcare) 密度勾配遠心分離を使用して白血球除去系チャンバ (NHSTB) から単離した末梢血単核細胞 (PBMC) から単球前駆体を単離した。負の選択磁気分離ビーズ (Miltenyi Biotec) を使用して単球をPBMCから単離した。単球を96ウェルの平底TCプレートに 5×10^4 /ウェルおよび 1×10^4 /ウェルでプレATINGし、サイトカインGM-CSFおよびIL-4 (いずれもPeprotech) と共に100ng/mLで7日間、培養培地 (10% v/vのFBSおよび2nMのグルタミン (培養培地) を補充したAdvanced RPMI (Gibco) 中で培養した。

【1108】

7日後に、負の選択磁気分離ビーズ (M i l t e n y i) を使用して同種 P B M C から T 細胞を精製した。精製後、遠心分離および吸引によって単離緩衝液を除去した。細胞を 1×10^6 細胞 / m L で培養培地中に再懸濁させ、D C のみのウェルを除いた全てのウェルに $100 \mu\text{L}$ の T 細胞を添加した。さらに $100 \mu\text{L}$ の培養培地を D C のみ、および T 細胞のみのウェルに添加した。抗体の段階 3 倍希釈物を培養培地中で調製した (最大濃度 60 nM 最終)。 $10 \mu\text{L}$ の各希釈物を細胞に添加した。

【1109】

細胞を 37°C で 5 日間インキュベートした。この期間の後、製造業者の指示に従い、D u o s e t E L I S A (R & D S y s t e m s) によって I F N - γ を測定した。

【1110】

実施例 5 - 鉛抗体の詳細な特性評価

鉛抗体 84G09 および 1D05 を、 37°C での S P R、中和アッセイにおける抗体の完全滴定、および P D - L 1 に結合するが P D - L 2 に結合しないことの確認を含む、詳細な特性評価に供した。抗体はまた、混合リンパ球反応による分析のためにヒト I g G 4 (P E) 定常領域 (配列番号 199) で発現された。鉛抗体は、 37°C でサブナノモル親和性を保持し、P D - 1 および C D 80 の両方に対する P D - L 1 結合の強力な中和を示す。抗体は、P D - L 2 と交差反応せず、樹状細胞上で天然に発現された P D - L 1 に結合し、M L R における I F N γ 産生の強力な刺激因子である。

【1111】

a) ヒト P D - L 1 / P D - 1 中和アッセイ (E L I S A)

$1 \mu\text{g} / \text{mL}$ に希釈した P D - 1 F c (自家、配列番号 6) を 96 ウェル低自家蛍光の高タンパク質結合プレート (C o s t a r) に 4°C で一晩吸着させた。P B S - T w e e n (0.1% v / v) で洗浄することによって過剰なタンパク質を除去し、P B S 中、室温で 1 時間、ウェルを 1% w / v ウシ血清アルブミン (B S A、S i g m a) でブロックし、その後、プレートを前述のように洗浄した。抗体の $30 \mu\text{L}$ 滴定 (1 / 3 希釈) を、E L I S A アッセイ緩衝液 (P B S + 0.1% B S A) 中で希釈した 96 ウェルの非結合プレートに添加した。 50 nM の使用濃度 (25 nM 最終アッセイ濃度 [F A C]) の $30 \mu\text{L}$ のビオチニル化 P D - L 1 h i s (自家、配列番号 3) を、 $30 \mu\text{L}$ の E L I S A アッセイ緩衝液を添加した対照ウェルを除いて、プレートに添加した。プレートを 30 分間インキュベートした後に、コーティングしたプレートに $50 \mu\text{L}$ を移した。コーティングしたプレートを室温で 1 時間インキュベートした。P B S - T w e e n (0.1% v / v) で洗浄することによって過剰なタンパク質を除去した。D E L F I A アッセイ緩衝液 (P e r k i n E l m e r) 中で 1 / 1000 に希釈した、ストレプトアビジンで標識したユーロピウム (P e r k i n E l m e r) を使用して、P D - L 1 結合を検出した。プレートを T B S (トリス緩衝生理食塩水) - T w e e n (0.1% v / v) で洗浄し、 $50 \mu\text{L} / \text{ウェル}$ の D E L F I A E n h a n c e m e n t 溶液 (P e r k i n E l m e r) をプレートに添加した。E n v i s i o n プレートリーダー (P e r k i n E l m e r) 上で、時間分解蛍光を 615 nm で測定した。方程式 3 を使用して特異的結合のパーセンテージを計算した。4 パラメータロジスティック方程式 (方程式 4) を使用する曲線適合によって、G r a p h P a d P r i s m ソフトウェアを使用して I C 50 値を判定した。結果は図 2 に示され、表 2 に要約される。

【数 3】

10

20

30

40

50

方程式 3：受容体結合（ELISA）のパーセンテージ

615nmでの蛍光に基づく

$$\text{特異的結合\%} = \frac{\text{試料値} - \text{非特異的結合}}{\text{全結合} - \text{非特異的結合}} \times 100$$

全結合＝ビオチニル化PD-L1（抗体なし）

非特異的結合＝ビオチニル化PD-L1なし

10

【数 4】

方程式 4：4パラメータロジスティック計算

$$Y = \text{下位} + (\text{上位} - \text{下位}) / (1 + 10^{-(\text{LogIC50} - X) * \text{HillSlope}})$$

X＝濃度の対数

Y＝特異的結合（方程式 3）

上位および下位＝Y（特異的結合）と同じ単位のプロット

20

【1112】

Xと同じ単位のLog IC50。Yは下位で開始し、S字状に上位に進む。特異的結合は、Xが増加するにつれて減少する。

【1113】

c) CHOヒトPD-L1/PD-1またはCD80中和アッセイ（フローサイトメトリー）

トランスフェクトされていない（WTと呼ばれる）かまたはhPD-L1でトランスフェクトされたCHO-Sを、FACS緩衝液中で希釈し、50μL中、ウェル当たり1×10⁵細胞の密度で96ウェルのV字底プレート（Greiner）に分配した。1μM最終アッセイ濃度（FAC）の、FACS緩衝液中の1/2希釈系列からの滴定としてビオチニル化ヒトPD-1-Fc（自家発現、配列番号6）またはCD80-Fc（R&D Systems）を調製した。300nM使用濃度（150nM FAC）から、FACS緩衝液中の1/3希釈系列として抗体滴定を調製した。ビオチニル化PD-1またはCD80をFACS緩衝液中で60nM使用濃度（30nM FAC）まで希釈した。プレートを300×gで3分間遠心分離して上清を吸引した。25μLのリガンドおよび25μLの抗体溶液（または50μLのリガンド滴定）を細胞に添加し、4℃で1時間インキュベートした。細胞を150μLのPBSで洗浄し、300gで3分間遠心分離させた。上清を吸引し、150μLのPBSを添加した。この洗浄ステップを繰り返した。FACS緩衝液中で1/500に希釈した50μLのストレプトアビジン-AlexaFluor 647（Jackson ImmunoResearch）の添加によって、結合したCD80またはPD-1の存在を検出した。細胞を4℃で15分間、暗所でインキュベートした。細胞を上記のように洗浄した。細胞を固定するために、100μLの2% v/vパラホルムアルデヒドを添加し、細胞を4℃で30分間インキュベートし、細胞を300×gで遠心分離させることによってペレット化し、プレートを100μLのFACS緩衝液中で再懸濁させた。BD FACS Array器具を使用したフローサイトメトリーによってAlexaFluor 647シグナル強度（幾何平均）を測定した。結果は図3および4に示され、表2に要約される。

30

40

【数 5】

50

方程式 5：受容体結合（フローサイトメトリー）のパーセンテージ
幾何平均蛍光に基づく

$$\text{特異的結合\%} = \frac{\text{試料値} - \text{非特異的結合}}{\text{全結合} - \text{非特異的結合}} \times 100$$

全結合＝ビオチニル化 PD-1 または CD80 のみ（抗体なし）

非特異的結合＝リガンドなしストレプトアビジン Alexa Fluor 647 のみ

10

【表 2】

表 2：鉛抗体結合、および PD-1 または CD80 に対する PD-L1 結合の中和

クローン ID	ヒト PD- L1(37℃で nM)	Cyno PD-L1 (37℃で nM)	受容体中和（n の平均＝3）		
			PD-L1/PD-1 中和(FACS) IC ₅₀ (nM)	PD-L1/CD80 中和(FACS) IC ₅₀ (nM)	PD-L1/PD-1 中和(ELISA) IC ₅₀ (nM)
1D05	0.42 K _{on} =1.85μM K _{off} =0.779mM	0.43 K _{on} =1.89μM K _{off} =0.813mM	2.21	1.18	5.21
84G09	0.43 K _{on} =2.43μM K _{off} =1.05mM	0.52 K _{on} =2.61μM K _{off} =1.35mM	1.82	1.60	7.90
ベンチマ ーク	0.25	4.79	1.85	1.42	14.1

20

【1114】

30

d) PD-L1 / PD-L2 結合

PD-L1-Fc（R&D Systems）および PD-L2-Fc（R&D Systems）を 2 μg/mL に希釈し、96 ウェルの高タンパク質結合プレート（Greiner）に 4℃で一晩、50 μL / ウェルで別々に吸着させた。PBS-Tween（0.1% v/v）で洗浄することによって過剰なタンパク質を除去し、ウェルを 250 μL / ウェルの Pierce Protein Free Blocking Buffer（Thermo、37572）で 1 時間ブロックし、その後、プレートを前述のように洗浄した。ビオチニル化抗 PD-L1 抗体（自家）または抗 PD-L2 対照抗体（R&D Systems）をブロッキング緩衝液中で希釈し、10 μg/mL から 3 倍段階希釈を実施した。100 μL の各抗体希釈物を二連でプレートに添加し、室温で 1 時間インキュベートした後に、上記のように洗浄した。DELTA アッセイ緩衝液（Perkin Elmer）中で 1 / 1000 に希釈した、ストレプトアビジンで標識したユーロピウム（Perkin Elmer）を使用して、抗体結合を検出した。プレートを TBS（トリス緩衝生理食塩水）-Tween（0.1% v/v）で洗浄し、50 μL / ウェルの DELTA Enhancement 溶液（Perkin Elmer）をプレートに添加した。Envision プレートリーダー（Perkin Elmer）上で、時間分解蛍光を 615 nm で測定した。結果は図 5 に示される。

40

【1115】

e) SPR 分析

アッセイを 37℃で実施したことを除いて、実施例 4 の通りにラベルフリー表面プラズ

50

モン共鳴（SPR）分析を実施した。さらに、37℃でアッセイを行う人為的結果に起因して、結合センサグラムの最良の参照は、ヒトPD-L1と同じ濃度を使用した陰性対照抗体からのセンサグラムを使用することであることが見出された。結果は、表2に示される。

【1116】

f) 混合リンパ球反応

増殖したCD4⁺ T細胞を解凍し、アッセイ日の前にAIM V（著作権）培地（Gibco）中で37℃、5% CO₂で一晩静止させた。抗ヒトPD-L1 mAbの段階希釈をAIM培地中で、4×最終濃度で調製した。50 μLの希釈したmAbを96ウェルのU字底プレートに添加した。50 μLのAIM培地中の1×10⁴個の未成熟樹状細胞（iDC）、および100 μLのAIM培地中の1×10⁵個の増殖したCD4⁺ T細胞（製造業者の指示に従ってLife TechnologiesのDynabeads Human T-Activator CD3/CD28（Invitrogen/Applied Biosystems、Cat No: 11131D）を使用して増殖させた）を、各ウェル中の抗体希釈物に添加した。対照ウェルは、200 μLのAIM培地中、CD4⁺ T細胞単独、iDC単独、CD4⁺ T細胞およびiDC（IgGアイソタイプアイソタイプ対照抗体を含むかまたは含まない）を含む。反応プレートを、加湿インキュベーター中で5日間インキュベートした（5%のCO₂中、37℃）。アッセイの終わりに、プレートを遠心沈殿させ（528×gで3分間）、軽いピペティングによりウェルから100 μLの上清を回収した。製造業者の指示に従ってヒトIFNγ Quantikine ELISAキット（R&D Systems）を使用して上清を分析した。結果は図6に示される。

【1117】

g) 1D05および84G09の遺伝子セグメント使用の配列決定および特性評価

Source Bioscienceによって抗体を配列決定し、V遺伝子を生殖細胞系配列と比較した。

【表3】

表3ー鉛抗体のV領域使用

抗体クローンID	V 遺伝子	D 遺伝子	J 遺伝子	CDRH3の長さ (aa)	非生殖細胞系CDRH3 (aa)	V 遺伝子	J 遺伝子	CDRL3の長さ (aa)	非生殖細胞系CDRL3 (aa)
1D05	IGHV3-9*01	IGHD3-10*01	IGHJ5*02	16	6	IGKV1D-39*01	IGKJ5*1	9	0
84G09	IGHV3-9*01	IGHD3-10*01	IGHJ5*02	15	4	IGKV1D-39*01	IGKJ5*1	9	1

【1118】

h) 天然に発現されたPD-L1への鉛抗体の結合

84G09および1D05 Alexa Fluor 647で標識し、単球前駆体由来する樹状細胞を染色するために使用した。これは、鉛抗体が、ヒト樹状細胞上に天然に発現されるPD-L1を示す。データは、図7に示される。

【1119】

材料および方法

添加物を含まないRPMI 1640培地中にPBMCを懸濁させ、37℃で2時間、組織培養フラスコに接着させた。非付着細胞を除去し、フラスコをPBSで3回洗浄した。PBSを除去し、100 ng/mLのGM-CSFおよびIL-4（いずれもPepr

otech) を含有するRPMI 10% hiFBS (Gibco) と交換した。細胞を37℃で7日間培養し、その後、細胞スクレーパーを使用してフラスコから除去した。

【1120】

細胞をFACS緩衝液(PBS 1%w/v BSA 0.1%w/v アジ化ナトリウム) 中で再懸濁させ、 10^5 細胞/ウェルでプレATINGし、FcγRへの抗体結合を防止するためにTrustain FcX (Biolegend) と共に10分間インキュベートした。AlexaFluor647 標識抗体を $5\mu\text{g/mL}$ の最終濃度で添加し、4℃で1時間インキュベートした。次いで、FACS緩衝液中で細胞を3回洗浄し、4%のパラホルムアルデヒド(Affymetrix) 中で20分間固定させた。固定後、細胞を以前のように3回洗浄し、フローサイトメトリーによる分析のためにFACS緩衝液中に再懸濁させた。MACSQuantフローサイトメトリー(Miltenyi Biotec) を使用してデータを取得し、FlowJo v10で分析した。

10

【1121】

実施例6-抗原調製、免疫付与手順、ならびに抗原特異的B細胞選別およびV領域回収
前述のKyMouse (商標) 系を使用してさらなる抗ヒトPD-L1モノクローナル抗体を生成した。遺伝子組換えHKマウスに、マウス胎仔線維芽細胞(MEF) 細胞上に提示された、可溶性組換えヒトおよびマウスPD-L1、または表面発現されたヒトおよびマウスPD-L1で免疫付与した。逆ELISAによって血清滴定を実施し、最も高い力価を有するマウスを処理用を選択した。各レジームの終わりに、脾臓およびリンパ節を除去した。組織を単一細胞懸濁液に調製し、FACSによって抗原特異的B細胞を選別するために染色した。

20

【1122】

材料および方法

a) マウスの免疫付与

KM032 (本明細書において以降、KM121と記載する) について実施例1に記載したスケジュールに従って、マウスに、可溶性組換えヒトPD-L1、またはヒトおよびマウスPD-L1タンパク質(自家) の組み合わせで免疫付与した。また、KM033 (本明細書において以降、KM122と記載する) について実施例1に記載したスケジュールに従って、ヒトPD-L1タンパク質、およびヒトまたはマウスPD-L1を発現するMEF細胞で免疫付与した。実施例1に従うが、マウスPD-L1配列をヒトPD-L1配列と交換し、抗マウスPD-L1検出抗体(eBioscience) を抗ヒトPD-L1検出抗体と交換して、マウスPD-L1を発現するMEF細胞を生成した。

30

【1123】

b) 逆PD-L1 ELISAプロトコルによる血清力価の判定

以下の変更を伴って、実施例1に従い逆PD-L1 ELISAプロトコルを使用してマウス血清試料中の力価を判定した。自家生成されたhPD-L1-hisを、Lightning Linkキット(Innova Biosciences) を使用して自家標識し、試薬希釈剤中 $1\mu\text{g/mL}$ 、 $50\mu\text{L}$ /ウェルで使用した。DELFLIAアッセイ緩衝液(Perkin Elmer) 中で1/1000に希釈した、ストレプトアビジン-ユーロピウム(Perkin Elmer) の添加によって、結合したhPD-L1を検出した。室温で1時間の暗所でのインキュベーション後、TBS(トリス緩衝生理食塩水)-Tween(0.1%v/v) を使用してプレートを洗浄し、 $50\mu\text{L}$ /ウェルのDELFLIA Enhancement溶液(Perkin Elmer) をプレートに添加した。Envisionプレートリーダー(Perkin Elmer) 上で、時間分解蛍光を615nmで測定した。蛍光データをユーロピウム数としてプロットした。

40

【1124】

c) 抗原特異的B細胞の選別およびV領域の回収

使用した方法は、実質的にPCT出願第WO2015/040401号の実施例に記載される通りであり、これは、参照により本明細書に組み込まれる。簡潔には、KM121およびKM122免疫付与レジームから単離した脾臓細胞およびリンパ節細胞を、目的の

50

細胞（CD19）の選択のためのマーカーを含有する抗体カクテルで染色し、一方で不要な細胞を最終選別集団から排除した（IgM、IgD、7AAD）。CD19⁺ B細胞を、ヒトPD-L1（配列番号1）およびマウスPD-L1（配列番号325、Lightning Linkキットを使用してAlexaFluor647およびAlexaFluor488でそれぞれ自家染色されている）でさらに標識して、特異的抗体を産生するB細胞を検出し、ヒトPD-L1、またはヒトおよびマウスPD-L1の両方に結合する細胞を選択した。これらの細胞をFACSによって融解緩衝液内に単一細胞選別した。RT-PCR、およびさらに2ラウンドのPCRを使用してV領域配列を回収し、次いで、マウスIgG1定常領域に架橋し、HEK293細胞において発現させた。PD-L1結合抗体の存在について、HEK293細胞からの上清をスクリーニングした。この方法を、本明細書において以降、BCTと呼ぶ。

10

【1125】

実施例7－上清スクリーニング

BCT上清をHTRFによってスクリーニングし、選択した一次ヒットを、細胞発現組換えhPD-L1およびPD-1結合の中和について、ならびにヒト、カニクイザル、およびマウスPD-L1組換えタンパク質への結合の親和性について、この実施例に記載されるように、SPRによってさらにスクリーニングした。ヒトに対して、および場合によってはカニクイザルPD-L1に対しても、1 nMまたはそれよりも良好な親和性を有するKM121抗体をさらなる特性評価のために進めた。KM122については、ヒトおよびカニクイザルPD-L1の両方に対する高親和性（<1 nM）の結合と共に、細胞発現PD-L1に対するPD-1結合を中和させる能力を有する抗体を進めた。抗体は、マウスPD-L1には結合しなかった。

20

【1126】

a) 一次スクリーン－組換えヒトPD-L1への結合（BCT上清）

分泌抗体の、組換えタンパク質（自家で産生された）として発現されたhPD-L1に結合する能力について、BCT発現から回収した上清をスクリーニングした。FluoProbes（登録商標）647H（Innova Biosciences）で標識したPD-L1（本明細書において、それぞれFluoProbes（登録商標）647Hで標識したヒトPD-L1およびPD-L1について647 hPD-L1または647 mPD-L1と呼ばれる）を使用して、HTRF（登録商標）（均一時間分解蛍光、Cisbio）アッセイフォーマットによって組換えヒトおよびマウスPD-L1に対する分泌抗体の結合を同定した。5 µLのBCT上清を白色の384ウェルの低容量非結合表面ポリスチレンプレート（Greiner）に移した。HTRFアッセイ緩衝液中で希釈した5 µLの25 nM 647 hPD-L1または647 mPD-L1を全てのウェルに添加した。参照抗体をBCT培地（Gibco #A14351-01）中で40 nMまで希釈し、5 µLをプレートに添加した。陰性対照のウェルについては、BCT培地中で40 nMまで希釈した5 µLのマウスIgG1（Sigma M9269、場合によってはCM7と呼ばれる）を添加した。HTRFアッセイ緩衝液中で1/2000に希釈したユーロピウムクリプテート（Cisbio）で直接標識した10 µLのヤギ抗マウスIgG（Southern Biotech）の添加によってPD-L1に対する分泌抗体の結合を検出した。EnVisionプレートリーダー（Perkin Elmer）を使用して620 nmおよび665 nmの発光波長で時間分解蛍光を読み取る前に、プレートを暗所で2時間インキュベートさせた。

30

40

【1127】

各試料について、それぞれ方程式2および方程式1に従って665/620比および効果パーセントを計算することによってデータを分析した。

【1128】

KM121については、30パーセント以上の効果に基づいて一次ヒットを選択し、一方でKM122については、40パーセント以上の効果に基づいて一次ヒットを選択した。

【1129】

50

二次スクリーンへの進行は、組換えPD-L1結合からのデータに基づいた。

【1130】

b) 二次スクリーン—細胞発現hPD-L1への結合、およびPD-1へのhPD-L1結合の中和（BCT上清）

hPD-L1を発現するCHO-S細胞に結合する能力について、BCT上清の結合を試験した。hPD-L1を発現するCHO-S細胞（自家生成された）をFACS緩衝液（PBS 1% BSA 0.1% アジ化ナトリウム）中で希釈し、ウェル当たり $0.5 \sim 1 \times 10^5$ 細胞の密度で96ウェルのV字底プレート（Greiner）に分配した。細胞を150 μ LのPBSで洗浄し、300gで3分間遠心分離させた。上清を吸引し、150 μ LのPBSを添加した。この洗浄ステップを繰り返した。

【1131】

BCT培地中で300nMまで希釈した、25 μ LのBCT未希釈上清、参照抗体、または対照抗体を、洗浄した細胞に添加した。25 μ Lの30nMビオチニル化ヒトPD-1（自家）を添加し、細胞を4℃で60分間インキュベートした。150 μ LのFACS緩衝液を添加し、細胞を上記のように洗浄した。ビオチニル化PD-1および抗PD-L1抗体の結合を検出するために、ストレプトアビジン647（Jackson ImmunoResearch）および抗マウスPE（Jackson ImmunoResearch）をFACS緩衝液中で1/500に各々希釈し、50 μ Lのこの混合物を細胞に添加した。細胞を4℃で60分間インキュベートした。細胞を150 μ LのFACS緩衝液で2回洗浄し、各洗浄ステップ後に300 $\times$ gで3分間遠心分離させて上清を吸引した。50 μ Lの4%パラホルムアルデヒドの添加によって細胞を一晩固定した。細胞を上記のように1回洗浄し、分析のためにFACS緩衝液中で再懸濁させた。BD FACS Array器具を使用したフローサイトメトリーによってPEおよびAPCシグナル強度（幾何平均）を測定した。さらなる計算を伴わずに幾何平均値としてデータをプロットした。

【1132】

KM121については、ヒトPD-L1への高親和性（ < 1 nM）結合に基づいて二次ヒットを選択した。KM122については、ヒトおよびカニクイザルPD-L1への同等の高親和性（ < 1 nM）結合、ならびに細胞発現PD-L1へのPD-1結合を中和させる能力に基づいて二次ヒットを選択した。結果を表4に要約する。

【表4】

表4—BCTクローンスクリーンの要約

実験ID	スクリーニングされたBCT上清の数	選別された一次ヒットの数	確認された二次ヒットの数
KM121	984	162	7*
KM122	1312	263	45**

*これらの二次ヒットのうちの3つは一次ヒットに含まれず、SPRおよび中和のみによってスクリーニングした

**1つのヒットは一次スクリーンによって同定されたが、二次スクリーンのために利用可能な材料が不十分であった。再発現後、クローンは、 < 1 nMの親和性でヒトおよびカニクイザルPD-L1に結合することが示され、進められた。

【1133】

c) 表面プラズモン共鳴による結合の分析

Protein XPR36 ArrayシステムでSPR分析を実施した。一級アミン結合によって抗マウスIgG（GE Healthcare BR-1008-38）をGLMチップ上に固定化した。抗体をBCT上清から直接捕捉した。ヒト、マウス、およびカニクイザルPD-L1を分析物として使用し、単一濃度で捕捉抗体上を通過させた。

結合センサグラムを0 nM（すなわち、緩衝液単独）注入と二重参照し、ProteOn分析ソフトウェアに固有の1：1モデルを称してデータを分析した。アッセイを25℃で実施し、HBS-E Pを泳動用緩衝液として使用した。

【1134】

実施例8－選択した抗体の特性評価

選択したヒットをヒトIgG1定常領域で再発現させ、Source Bioscienceでの配列決定に送った。V領域使用は、表5に列挙される。次いで、ELISAでヒットを分析して、PD-L1／PD-1相互作用およびPD-L1／CD80相互作用を中和させるそれらの能力を判定した。7つ全てのKM121ヒットは、PD-L1／CD80相互作用を中和させたが、4つの抗体は、PD-L1／PD-1を中和させなかった。5つ中4つのKM122ヒットは、PD-L1／PD-1およびPD-L1／CD80相互作用の両方を中和させた。結果は、図8および9に示される。PD-1およびCD80相互作用の両方を中和させることを示した抗体を、自己単球-T細胞共培養アッセイにおいてIFN γ を増加させるそれらの能力について、さらにスクリーニングした。

【1135】

材料および方法

a) PD-L1／PD-1およびPD-L1／CD80中和ELISA

2.5 μ g/mLに希釈したCD80（R&D Systems）またはPD-1（自家）を96ウェル低自家蛍光の高タンパク質結合プレート（Costar）に4℃で一晩吸着させた。PBS-Tween（0.1% v/v）で洗浄することによって過剰なタンパク質を除去し、PBS中、室温で1時間、ウェルを1% w/v ウシ血清アルブミン（BSA, Sigma）でブロックし、その後、上記のようにPBS-Tweenでプレートを洗浄した。抗体の滴定（3倍段階希釈）のうちの60 μ Lを、ELISAアッセイ緩衝液（PBS+0.1% BSA）中で希釈した96ウェルの非結合プレートに添加した。16 nM使用濃度（8 nM FAC）の60 μ Lのビオチン標識したPD-L1を、60 μ LのELISAアッセイ緩衝液を添加した対照ウェルを除いて、プレートに添加した。プレートを30分間インキュベートした後に、コーティングしたプレートに50 μ Lを移した。コーティングしたプレートを室温で1時間インキュベートした。PBS-Tween（0.1% v/v）で洗浄することによって過剰なタンパク質を除去した。DELTAアッセイ緩衝液（Perkin Elmer）中で1/1000に希釈した、ストレプトアビジンで標識したユーロピウム（Perkin Elmer）を使用して、PD-L1結合を検出した。プレートをTBS（トリス緩衝生理食塩水）-Tween（0.1% v/v）で洗浄し、50 μ L/ウェルのDELTA Enhancement溶液（Perkin Elmer）をプレートに添加した。Envisionプレートリーダー（Perkin Elmer）上で、時間分解蛍光を615 nmで測定した。方程式3に定義されるように特異的結合のパーセンテージを計算した。4パラメータロジスティック方程式（方程式4）を使用する曲線適合によって、GraphPad Prismソフトウェアを使用してIC₅₀値を判定した。結果は、以下の表4aに示される。KM121抗体の値は、3つの独立した実験の平均である。KM122の値は、単一の実験からのものである。NDとは、完全な曲線が生成されなかったため、IC₅₀値が判定されなかったことを示す。

10

20

30

40

50

【表 4 a】

表 4 a : PD-1 および CD80 との PD-L1 相互作用の中和の IC₅₀ 値

レジーム	抗体クローン ID	PD-1 / PD-L1 IC ₅₀ (nM)	CD80 / PD-L1 IC ₅₀ (nM)
KM121	411B08	2.22	1.60
KM121	411C04	2.45	1.93
KM121	411D07	ND	9.06
KM121	385F01	2.25	1.76
KM121	386H03	ND	0.74
KM121	389A03	ND	13.18
KM122	416E01	1.72	0.98
KM122	413G05	2.02	1.10
KM122	414B06	1.84	1.00
KM122	413F09	ND	ND
KM122	413D08	1.20	0.67

【1136】

単球-T細胞共培養アッセイ（実施例9を参照されたい）において活性な選択された鉛抗体を、25および37℃でSPRによって分析した。鉛抗体は、37℃であっても、PD-L1に対するサブナノモル親和性結合を保持した。抗体は、マウスPD-L1に結合しなかった。結果は、表4bに示される。

【1137】

材料および方法

以下の修正を除いて、実施例4の通りにSPR分析を実施した：アッセイのストリンジエンシーを高めるために、37℃および25℃で分析を行った。ヒト、カニクイザル、およびマウスPD-L1（hisタグ付き）を自家生成した（それぞれ、配列番号3、5、および326）。

10

20

30

40

50

【表 4 b】

表 4 b - 選択された鉛抗体の結合親和性

クローン ID	温度	抗原	KD (nM)
413G05	25°C	ヒト	0.024 Kon=2.57μM Koff=62.3μM
414B06	25°C	ヒト	0.172 Kon=4.09μM Koff=0.702mM
416E01	25°C	ヒト	0.193 Kon=2.34μM Koff=45.1mM
413G05	25°C	Cyno	0.015 Kon=2.66μM Koff=38.9mM
414B06	25°C	Cyno	0.192 Kon=3.78μM Koff=0.726mM
416E01	25°C	Cyno	0.411 Kon=2.44μM Koff=1.0mM
413G05	37°C	ヒト	0.050 Kon=4.67μM Koff=0.235mM
414B06	37°C	ヒト	0.778 Kon=5.88μM Koff=4.57mM
416E01	37°C	ヒト	0.511 Kon=4.34μM Koff=2.22mM
413G05	37°C	Cyno	0.046 Kon=4.31μM Koff=0.197mM
414B06	37°C	Cyno	0.794 Kon=5.02μM Koff=3.98mM
416E01	37°C	Cyno	0.998 Kon=4.03μM Koff=4.02mM

【1138】

実施例 9 - 自己共培養アッセイにおける鉛抗 PD-L1 抗体の試験

同じドナーからの、精製した末梢血単および CD45RO⁺メモリー T 細胞の共培養アッセイにおいて、IFN γ 産生への抗 PD-L1 抗体の効果を分析する。簡潔には、磁気分離ビーズ (Miltenyi Biotec) を使用する負の選択によって単球を単離する。CD3⁺ T 細胞についての第 1 ラウンドの負の選択、および CD45RO⁺細胞 (Miltenyi Biotec) についての 1 ラウンドの正の選択によって、CD45RO⁺ T 細胞を単離する。抗 CD3 (UCHT1、eBioscience) の存在下で、RPMI 10% hiFBS 中、1:1 の比で細胞サブセットを共培養して、TCR

刺激、および調査中の抗体を提供した。MSD (Meso Scale Discovery) によるIFN γ の分析のために、4日後に上清を採取した。

【1139】

DEL FIA (登録商標) Eu-N1ストレプトアビジン検出を使用してR&D systems (商標) Human IFN γ Duo set (登録商標) ELISAでIFN γ 産生を測定したことを除き、記載された通りに実験を実施した。

【1140】

615 nMでの相対蛍光応答に対するIFN γ 標準 (pg/mL) の応答をプロットイングした。方程式4によって定義される4パラメータロジスティック適合を使用して、標準曲線からIFN γ 濃度をpg/mLで内挿した。抗体誘導性IFN γ は、方程式6に定義される応答のバックグラウンドレベルを示すウェルのアッセイシグナルと比較した倍数誘導として表される。各プロットは、個々のドナーについての平均倍数誘導を表し、少なくとも2人の異なるドナーが抗体濃度Log (M) に対して表されている。結果は、図22および37に示される。

【1141】

方程式6

倍数誘導 = アッセイ応答 (pg/mL) / バックグラウンド応答 (pg/mL)

バックグラウンドIFN γ 応答 = 抗体を含まず、抗CD3刺激を含む単球-T細胞共培養を含有するウェルからのIFN γ 濃度 (pg/mL)。

【1142】

ヒトIgG1フォーマットの5つ全ての抗体は、自己単球および抗CD3との共培養の4日後に、T細胞によるIFN γ 産生の特異的な用量依存性の増加を誘導した (図22aおよび22bを参照されたい)。サイトカイン産生の最も高い増加を誘導した2つの抗体は413G05および414B06を、SPRによる反復特性評価のために選択した (実施例8を参照されたい)。ヒトIgG4 (PE) フォーマット (配列番号199) の抗体416E01も、共培養アッセイにおいてIFN γ 産生の特異的な用量依存性の増加を誘導した。この抗体もまた、反復SPR分析のために選択した。

【1143】

実施例4において選択された2つの鉛抗体 (1D05および84G09) および市販のエフェクター可能化ベンチマーク抗体と共に、3つの選択された抗体も分析した。抗体をヒトIgG1としてフォーマット化した。全ての抗体は、このアッセイにおいて用量依存性のIFN γ 産生を誘導した (図37および表22)。

10

20

30

40

50

【表 5】

表 5 : 抗体鉛の V 遺伝子使用

レジーム	抗体クロー ン ID	V 遺伝子	D 遺伝子	J 遺伝子	CDHR 3 の長さ (a a)	非生殖細胞系 C DR L 3 (a a)	V 遺伝子	J 遺伝子	CDRL 3 の長さ (a a)	非生殖細胞系 C DR L 3 (a a)
KM121	411B08	IGHV3-7*01	IGHD4-11*01	IGHJ4*02	12	7	IGKV1D-12*02	IGKJ3*01	9	1
KM121	411C04	IGHV3-7*01	IGHD4-11*01	IGHJ4*02	12	6	IGKV1D-12*02	IGKJ3*01	9	1
KM121	411D07	IGHV4-4*02	IGHD3-10*01	IGHJ4*02	8	1	IGKV4-1*01	IGKJ2*04	8	2
KM121	386H03	IGHV4-4*02	IGHD3-10*01	IGHJ4*02	8	2	IGKV4-1*01	IGKJ2*04	8	1
KM121	389A03	IGHV4-39*01	IGHD6-13*01	IGHJ1*01	13	6	IGKV4-1*01	IGKJ1*01	9	1
KM121	385F01	IGHV3-7*01	IGHD4-11*01	IGHJ4*02	12	7	IGKV1D-12*02	IGKJ3*01	9	1
KM122	413D08	IGHV3-33*01	IGHD5-18*01	IGHJ6*02	11	3	IGKV1-17*01	IGKJ1*01	9	1
KM122	413G05	IGHV3-11*01	IGHD1-20*01	IGHJ6*02	16	5	IGKV1D-12*02	IGKJ4*01	9	1
KM122	413F09	IGHV3-23*04	IGHD5-18*01	IGHJ4*02	16	8	IGKV1-9*d01	IGKJ5*01	9	3
KM122	414B06	IGHV3-7*01	IGHD5-24*01	IGHJ4*02	12	6	IGKV1D-12*02	IGKJ3*01	9	0
KM122	416E01	IGHV3-23*04	IGHD6-13*01	IGHJ4*02	14	10	IGKV1D-12*02	IGKJ5*01	9	2

10

20

30

40

50

【表 2 2】

表 2 2－単球－T細胞共培養実験からのデータの要約。

抗体名	平均 E C 5 0 (nM)	平均倍数増加 I F N γ
1 D 0 5	0. 2 1	3. 0 4
8 4 G 0 9	0. 0 8 1	3. 6 0
4 1 3 G 0 5	0. 0 8 2	2. 8 5
4 1 4 B 0 6	0. 0 1 2	3. 3 3
4 1 6 E 0 1	0. 0 6 4	2. 2 3
ベンチマーク 2	0. 0 5 7	2. 3 0

10

【1 1 4 4】

実施例 1 0－P D－L 1 および T I G I T を標的とする二重特異性 F I T－I g 分子

二重特異性 F I T－I g 構築物を、実質的に国際出願第 W O 2 0 1 5 / 1 0 3 0 7 2 号 (E p i M a b B i o t h e r a p e u t i c s 名義、参照により本明細書に組み込まれる) の実施例 1 に記載される通りに構築した。

20

【1 1 4 5】

W O 2 0 1 5 / 1 0 3 0 7 2 の図 1 に記載されるような F I T－I g 構造を有する二重特異性構築物を、一過性トランスフェクション中の全 D N A の、構築物 1 D N A : 5 0 %、構築物 2 : D N A 2 5 % : 構築物 3 D N A 2 5 % ののベクター比で C H O 細胞において発現させた。標準タンパク質 A およびサイズ排除クロマトグラフィーによって、二重特異性抗体を精製した。この際、構築物 1 は、W O 2 0 1 5 / 1 0 3 0 7 2 の図 1 中の V L A－C L－V H B－C H 1－C H 2－C H 3 で構成されたポリペプチド鎖である。構築物 2 は、W O 2 0 1 5 / 1 0 3 0 7 2 の図 1 中の V H A－C H 1 で構成されたポリペプチド鎖であり、構築物 3 は、W O 2 0 1 5 / 1 0 3 0 7 2 の図 1 中の V L B－C L で構成されたポリペプチド鎖である。

30

【1 1 4 6】

S P R 分析を使用して、二重特異性の様々なアームの親和性を判定し、親単一特異性抗体を使用して、二重特異性分子において親和性が改変されたかどうかを判定した。抗原の逐次的結合を使用して、二重特異的構築物が二重特異性の両方のアームに結合することができるかどうかを試験した。

40

50

【表 6】

表 6 ー二重特異性抗体構築物および対照単一特異性抗体

フルネーム	別名	天然可変ドメイン ¹	追加のドメイン ²
1 D 0 5 / 自家抗 T I G I T	二重特異性 1	1 D 0 5 (抗 P D - L 1) *	K y m a b T I G I T
自家抗 T I G I T / 1 D 0 5	二重特異性 2	K y m a b T I G I T	1 D 0 5 (抗 P D - L 1) *
ツール抗 T I G I T / ツール抗 P D - L 1	二重特異性 3	ツール抗 T I G I T	ツール抗 P D - L 1
ツール抗 P D - L 1 / ツール抗 T I G I T	二重特異性 4	ツール抗 P D - L 1	ツール抗 T I G I T
1 D 0 5	抗体 1	自家抗 P D - L 1 *	n a
K y m a b T I G I T	抗体 2	自家抗 T I G I T	n a
ツール P D - L 1	抗体 3	ツール抗 P D - L 1	n a
ツール T I G I T	抗体 4	ツール抗 T I G I T	n a

* 1 D 0 5 は、配列番号 3 3 の V_H配列および配列番号 4 3 の V_L配列、ならびに配列番号 2 0 5 の重鎖定常領域を有する

¹ 「天然可変ドメイン」は、WO 2 0 1 5 / 1 0 3 0 7 2 の図 1 中の V H_Bおよび V L_Bによって形成された抗原結合部位に対応する

² 「追加のドメイン」は、WO 2 0 1 5 / 1 0 3 0 7 2 の図 1 中の V H_Aおよび V L_Aによって形成された抗原結合部位に対応する

【1 1 4 7】

a) 動態分析

一級アミン結合によって G L C チップ上に固定化された 3 つの抗ヒト F c 抗体 (J a c k s o n L a b s 1 0 9 - 0 0 5 - 0 0 8、1 0 9 - 0 0 6 - 0 0 8、および 3 0 9 - 0 0 6 - 0 0 8) のミックスによって、抗ヒト I g G 捕捉表面を作製した。対照単一特異性抗体または二重特異性抗体構築物をこの表面上に捕捉し、5 1 2 n M、1 2 8 n M、3 2 n M、8 n M、および 2 n M でヒト P D - L 1 または T I G I T を分析物として使用し、結合センサグラムを二重参照するために 0 n M (すなわち、緩衝液単独) を使用した。H B S - E P を泳動用緩衝液として使用し、アッセイを 2 5 ° C で行った。センサグラムを P r o t e O n 分析ソフトウェアに固有の 1 : 1 モデルに適合させた。

【表 7】

表 7－T I G I T 結合

フルネーム	別名	Ka	Kd	KD (nM)
1 D 0 5 / 自家抗 T I G I T	二重特異性 1	2.38E+06	2.65E-03	1.11
自家抗 T I G I T / 1 D 0 5	二重特異性 2	1.12E+06	2.02E-03	1.8
ツール抗 T I G I T / ツール抗 P D - L 1	二重特異性 3	2.10E+06	3.69E-03	1.75
ツール抗 P D - L 1 / ツール抗 T I G I T	二重特異性 4	3.22E+06	2.98E-03	0.93
1 D 0 5	抗体 1	nbs	nbs	nbs
K y m a b T I G I T	抗体 2	1.58E+06	2.27E-03	1.44
ツール P D - L 1	抗体 3	nbs	nbs	nbs
ツール T I G I T	抗体 4	3.16E+06	5.42E-03	1.72

10

【表 8】

表 8－P D - L 1 結合

フルネーム	別名	Ka	Kd	KD (nM)
1 D 0 5 / 自家抗 T I G I T	二重特異性 1	6.03E+05	1.61E-04	0.27
自家抗 T I G I T / 1 D 0 5	二重特異性 2	1.04E+06	2.14E-04	0.21
ツール抗 T I G I T / ツール抗 P D - L 1	二重特異性 3	1.25E+06	1.22E-04	0.1
ツール抗 P D - L 1 / ツール抗 T I G I T	二重特異性 4	7.36E+05	1.57E-04	0.21
1 D 0 5	抗体 1	9.71E+05	3.36E-04	0.35
K y m a b T I G I T	抗体 2	nbs	nbs	nbs
ツール P D - L 1	抗体 3	1.05E+06	2.08E-04	0.2
ツール T I G I T	抗体 4	nbs	nbs	nbs

20

30

【1148】

b) 二重特異性結合

動態分析のために作製したものと同一抗ヒト I g G 捕捉表面を使用して、二重特異性抗体構築物をこの表面上に捕捉し、512 nM、128 nM、32 nM、8 nM、および 2 nM で P D - L 1 または T I G I T を分析物として使用し、結合センサグラムを二重参照するために 0 nM (すなわち、緩衝液単独) を使用した。分析物注入の間に再生なしに、P D - L 1、続いて T I G I T による注入、また T I G I T、続いて P D - L 1 による注入によってアッセイを実施した。二重参照した 512 nM のセンサグラムは、図 10 および 11 に示される。

40

【1149】

c) A l p h a S c r e e n (登録商標) による P D - L 1 および T I G I T への二重特異性 F I T - I g 分子結合

P D - L 1 / T I G I T F I T - I g 分子の二重特異性結合を評価するために A l p h a S c r e e n (登録商標) 結合アッセイが開発された。ストレプトアビジンドナービ

50

ーズおよび抗FLAGアクセプタービーズ（いずれもPerkin Elmer、6760613）でそれぞれ検出されたビオチニル化His-PD-L1（配列番号3）およびHis-FLAG-TIGIT（配列番号539）を使用してアッセイを設定した。抗His抗体（Qiagen 34660）を正の対照として使用した一方、ヒトIgG1（Sigma I5154）および親単一特異性抗体を単独または組み合わせで陰性対照として使用した。

【1150】

2つのプロトコルを作製して、FIT-Ig分子の、別個のストリンジェンシーを有するTIGITおよびPD-L1でコーティングされたビーズの接近を促進する能力を調査した。抗体を、AlphaScreen（登録商標）検出ビーズを添加する前にPD-L1およびTIGITタンパク質と共にインキュベートするか（方法1）、またはそれらのそれぞれのTIGITおよびPD-L1タンパク質で事前にコーティングされた検出ビーズと共にインキュベートした（方法2）。方法2は、二重特異性抗体による細胞動員を模倣するように設計した。

【1151】

i) 方法1

二重特異性抗体、親単一特異性抗体、および対照抗体を、150 nMの緩衝液（PBS pH7.4（Gibco）および0.1% w/v BSA（Sigma））中で調製し、1:3系列、8ポイントに従って希釈した。5 μLの抗体の各段階希釈物を、384ウェルのAlphaLISA（登録商標）アッセイプレート（Perkin Elmer 6005350）において、緩衝液中、50 nMで5 μLのビオチニル化His-PD-L1および5 μLのHis-FLAG-TIGITに混合した。親単一特異性抗体も、組み合わせて試験されるように、300 nMから開始して上記のように調製した。2.5 μLの第1の抗体を、同じ量の第2の抗体に添加し、次いで、5 μLの親単一特異性抗体の各組み合わせを、アッセイプレートにおいて、緩衝液中、50 nMで5 μLのビオチニル化His-PD-L1および5 μLのHis-FLAG-TIGITに混合した。アッセイプレートを室温で1時間インキュベートした後、5 μLの抗FLAGアクセプタービーズを室温でさらに1時間、暗所で0.1 g/L添加した。最後に、5 μLのストレプトアビジンドナービーズをアッセイプレートに0.1 g/Lで2時間30分かけて添加した。680/615 nmの励起/発光波長で、EnVisionプレートリーダー（Perkin Elmer）を使用してアッセイプレートを読み取った。測定した蛍光数（アルファシグナル）を、抗体滴定に対してPrismにおいてプロットした。結果は、図25に示される。FIT-Ig分子の、PD-L1およびTIGIT変結合は、最大で10 nMの抗体の濃度と共に増加する。単一特異性抗体およびアイソタイプ対象について、結合は認められない。

【1152】

ii) 方法2

緩衝液（PBS pH7.4（Gibco 14190169）および0.1% w/v BSA（Sigma））中、0.05 g/Lで調製したストレプトアビジンドナービーズを、25 nMのビオチニル化His-PD-L1（配列番号3）でコーティングし、一方で25 nMのHis-FLAG-TIGIT（配列番号539）を使用して、緩衝液中、0.05 g/Lの抗FLAGアクセプタービーズを標識した。アクセプターおよびドナービーズの両方を暗所において、室温で1時間インキュベートした。

【1153】

二重特異性抗体、親単一特異性抗体、および対照抗体を、単独および組み合わせで300 nMの緩衝液中で調製し、1:3系列、8ポイントに従って希釈した。5 μLの抗体の各段階希釈物を、384ウェルのAlphaLISA（登録商標）アッセイプレート（Perkin Elmer 6005350）において、10 μLの事前にコーティングされたドナービーズおよび10 μLの事前にコーティングされたアクセプタービーズに混合した。暗所においてアッセイプレートを室温で4時間インキュベートし、次いで、方法1に

記載されるように読み取った。測定した蛍光数（アルファシグナル）を、抗体滴定に対してPrismにおいてプロットした。結果は、図26に示される。FIT-Ig分子の、PD-L1およびTIGIT変結合は、最大で20nMの抗体の濃度と共に増加する。単一特異性抗体およびアイソタイプ対象について、結合は認められない。

【1154】

d) フローサイトメトリーによるPD-L1およびTIGITへの二重特異性FIT-Ig分子結合

FIT-Ig分子の、TIGITおよびPD-L1を発現する細胞の動員を促進する能力を評価するために、フローサイトメトリープロトコルが開発された。この目的のために、ヒトPD-L1でトランスフェクトされたCHO細胞を、661nmで最大限に発光するCellTrace（商標）Far Red（Invitrogen C34572）で染色し、ヒトTIGITでトランスフェクトされたHEK細胞を、450nmで最大限に発光するCellTrace（商標）Violet（Invitrogen C34571）で染色した。

【1155】

CHOヒトPD-L1およびHEKヒトTIGIT細胞を採取、計数、洗浄し、PBS（Gibco 14190169）中で、1mL当たり100万個の細胞で再懸濁させた。製造業者の推奨に従って、CellTrace（商標）Far RedおよびCellTrace（商標）Violet染料を1:2000に希釈し、暗所において細胞と共に37℃で20分間インキュベートした。次いで、緩衝液（PBS（Gibco 14190169）、1% BSA（Sigma）0.1%アジ化ナトリウム（Severn Biotech 40-2010-01））を、さらに5分間のインキュベーションステップのために過剰に添加した。細胞を遠心沈殿させ、1mL当たり50万個の細胞で緩衝液中に再懸濁させ、37℃で少なくとも10分間インキュベートした後に、結合プロトコルに進んだ。未染色の細胞を保存し、ゲーティング戦略を設定するために使用した。

【1156】

二重特異性抗体およびヒトIgG1を、150nMの緩衝液中で調製し、1:3系列、8ポイントに従って希釈した。50μLの抗体の各段階希釈物、CellTrace（商標）Far Redで標識した50μLのCHOヒトPD-L1細胞、およびCellTrace（商標）Violetで標識した50μLのHEKヒトTIGITを、96ウェルのV字底PSプレート（Greiner 651901）に添加した。アッセイプレートを軽く攪拌（450rpm）しながら室温で1時間インキュベートした後に、Attune NxTフローサイトメーター（Thermo Fisher）を使用して読み取った。Violetレーザを使用してCellTrace（商標）Violetを励起させ、440/50バンドパスフィルタによってVL1チャンネル中で検出した。Redレーザを使用してCellTrace（商標）Far Redを励起させ、670/14バンドパスフィルタによってRL1チャンネル中で検出した。試料をボルテックスせずに試料採集を行った。FlowJo（登録商標）ソフトウェアでFCSファイルを分析した。前方および側方散乱光のドットプロットに基づいて単一の細胞および電子対をゲーティングした。

【1157】

データ分析は、4つの異なるゲートの同定をもたらした：未染色のCHOヒトPD-L1および未染色のHEKヒトTIGITに対応する二重陰性四分円；単一の染色について陽性である2つの四分円（VL1またはRL1チャンネルにおいて）；ならびにFIT-Ig分子によって動員された、染色されたCHOヒトPD-L1および染色されたHEKヒトTIGITで構成される、二重染色について陽性である四分円（VL1およびRL1チャンネルの両方において）。二重陽性細胞のパーセンテージを、抗体滴定に対してPrismにプロットした。結果は、図27に示される。二重陽性細胞のパーセンテージは、最大で1nMのFIT-Igの濃度と共に増加する。

【1158】

590nmで最大限に発光するR-フィコエリトリン（PE）で標識した単一特異性抗

体を使用して、標的への試験分子の単一特異的結合を染色された細胞上で確認した。PE 標識抗体 1、抗体 2、およびヒト IgG1 を、150 nM の緩衝液中で希釈した。50 μ L の各抗体を、96 ウェルの V 字底 PS プレート (Greiner 651901) 中で、50 μ L の染色された CHO ヒト PD-L1 細胞および 50 μ L の染色された HEK ヒト TIGIT と混合した。室温で 1 時間インキュベートした後に、細胞を 200 μ L / ウェルの PBS で 3 回洗浄し、150 μ L / ウェルの緩衝液中で再懸濁させた。Attune NxT フローサイトメーター (Thermo Fisher) を使用してアッセイプレートを読み取って、蛍光を記録した。上記のように、Cell Trace (商標) Violet および Far Red を検出した。Yellow レーザを使用して PE を励起させ、585 / 16 バンドパスフィルタによって YL1 チャネル中で検出した。YL1 チャネル中の GeoMean 値を使用して、染色された CHO ヒト PD-L1 または染色された HEK ヒト TIGIT への単一特異的結合を判定した。

10

【1159】

実施例 11-抗 PD-L1-IL-2 免疫サイトカイン構築物の生成および発現

野生型 IL-2 (配列番号 301)、または最初の 9 個のアミノ酸における欠失を含有する IL-2 (配列番号 324 に融合した配列番号 303 ~ 323 を参照されたい) を、抗 PD-L1 抗体 1D05 (配列番号 45 を参照されたい) の軽鎖に融合させることによって、免疫サイトカインを生成した。これらを、1D05 重鎖 (配列番号 205) の IgG1 エフェクター欠損変異型と対形成させた。1D05 の重鎖に融合した野生型 IL-2 を対照 (配列番号 302) として使用するために生成し、1D05 の未修飾軽鎖 (配列番号 45) と対形成させた。22 個の免疫サイトカインの発現に成功し、さらに特性評価した。1 個の軽鎖構築物、1D05 D1 は、うまく発現しなかった。

20

【1160】

材料および方法

抗 PD-L1 (抗体 1D05) 免疫サイトカイン (軽鎖への C 末端 IL-2 融合) をコードする DNA 配列を合成 DNA 列として購入し、Golden Gate クローニング戦略を使用して pTT5 発現ベクターにクローニングした。1D05 の重鎖配列は、太字で示される野生型からの変化を含む欠損 IgG1 変異型である定常領域を含む (配列番号 299)。抗体 1D05 の軽鎖は、カッパ定常領域 (配列番号 300) の C 末端に融合した全長野生型 IL-2 配列 (下線) を有する。適切なオリゴヌクレオチドプライマーを使用する重複 PCR を使用して、IL-2 の N 末端の変異型を生成した (配列 IL-2 に下線が引かれ、変化する領域が太字で示されている配列番号 300 を参照されたい)。Golden Gate 法を使用して、変異型配列を pTT5 発現ベクターにクローニングした。野生型および変異型構築物を、発現のために Expi293 (商標) 細胞にトランスフェクトした。

30

【1161】

実施例 12-スクリーニングのための IL-2 R トランスフェクタント細胞の生成

高親和性 ($\alpha\beta\gamma$) および中親和性 ($\beta\gamma$) IL-2 受容体上の免疫サイトカイン間で区別するために、IL-2 R トランスフェクタントを生成した。内因性共通 γ 鎖を発現する TF-1 細胞を、 β 、または α および β 受容体サブユニットでトランスフェクトして、IL-2 に対する応答性を付与した。次いで、これらの細胞を使用して、免疫サイトカインに対する増殖応答を分析した (実施例 13 を参照されたい)。

40

【1162】

材料および方法

高親和性 ($\alpha\beta\gamma$) および中親和性 ($\beta\gamma$) IL-2 R を通したシグナル伝達を区別するために、2 つの組換え細胞株を生成した。赤白血病細胞株 TF-1 (European Collection of Authenticated Cell Cultures) は、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) またはインターロイキン-3 (IL-3) への完全な増殖依存を示す。生成した第 1 の細胞株を、全長ヒト IL-2 R β (CD122) のみでトランスフェクトした。第 1 の細胞株の中に全長ヒト IL-

50

2 R α (CD 25) をトランスフェクトすることによって第 2 の細胞株を生成した。

【1163】

トランスフェクトした配列を、哺乳動物発現についてコドン最適化し、3' および 5' p
iggyBac 特異的末端反復配列に隣接した CMV プロモーター下で発現ベクターにク
ローニングし、細胞ゲノム内への安定した組込みを容易にした (「A hyperact
ive piggyBac transposase for mammalian ap
plications」; Yusa K., et al., Proc. Natl. Acad.
. Sci. U S A., 108 (4): 1531-6, 2011 Jan 25 を参照さ
れたい)。さらに、各サブユニットの発現ベクターは、安定した細胞株生成を容易にする
ために、異なる選択カセットを含有した。ピューロマイシン (Sigma) を使用して β
サブユニットを選択し、ジェネテシン (Gibco) を使用して α サブユニットを選択し
た。 β サブユニットを既に発現している細胞の中に α サブユニットをトランスフェクトし
た。

10

【1164】

製造業者の指示に従い Lonza 4-D 核酸遺伝子注入トランスフェクション X キッ
トシステムを使用した電気穿孔法によって、発現プラスミドを、piggyBac トラン
スポザーゼをコードするプラスミドと共に、TF1 細胞に同時トランスフェクトした。ト
ランスフェクションの 24 時間後に、培地に適切な選択を補充し、培地を 3~4 日ごとに
交換しながら細胞を少なくとも 3 週間成長させて、安定した細胞株を選択した。抗ヒト C
D 122 (IL-2 R β)、APC にコンジュゲートされた抗体 (eBioscience)
、および抗ヒト CD 25 (IL-2 R α) PE にコンジュゲートされた抗体 (eBioscience)
を使用して、フローサイトメトリーによって組換えヒトサブユニット
の発現を評価した。内因性共通 γ 鎖の発現を、抗ヒト CD 132 (共通 γ 鎖) PE コンジ
ュゲートされた抗体 (eBioscience) で確認した。発現が低かったため、蛍光
標識細胞分取 (FACS) で CD 122⁺ 細胞を分取し、選択下でさらに培養した。トラン
スフェクション後に鎖の均一な発現があり、したがって、これらの細胞は、分取されな
かった。

20

【1165】

完全な TF1 培地は、RPMI 培地 1640 (Gibco) および GM-CSF (2 ng/mL) で構成され、10% v/v の熱不活性化ウシ胎仔血清 (hiFBS, Gibco)
で補充した。IL-2 に対する応答性を確認したら、トランスフェクトされた細胞株
を、RPMI 1640、10% hiFBS、およびジェネテシンを含む ($\alpha\beta$) かまたは
含まない (β)、5 ng/mL の組換えヒト IL-2 中に維持した。

30

【1166】

実施例 13-IL-2 R を通ってシグナル伝達する免疫サイトカイン構築物の能力の評価

IL-2 R の β サブユニット、または α および β サブユニットの両方でトランスフェク
トされた TF1 細胞株の増殖を誘導する能力について免疫サイトカインを評価した。細胞
を一晩サイトカインに欠乏させ、次いで、各免疫サイトカインの滴定により刺激した。C
ell Titer-Glo (登録商標) を使用して、3 日後に、存在する ATP の定量化
に基づいて培養中の生細胞の数を判定した。IL-2 R $\beta\gamma$ 上の免疫サイトカインの幅広い
活性が存在し、最も大きい IL-2 欠失は、等モル量の IL-2 と比較して、増殖の最
大の低減を有した。 $\alpha\beta\gamma$ 活性への影響はそれほど明白ではないが、ここでも最大の IL
-2 欠失で増殖の最大の低減が見られる。IL-2 の最初のいくつかの N 末端アミノ酸の
欠失は、サイトカイン活性の微調整を可能にする。代表的な実験は、図 12 (a) および
(b) に示される。

40

【1167】

材料および方法

β トランスフェクト細胞株については IL-2 (Peprotech) を 5 ng/mL
添加し、 $\alpha\beta$ トランスフェクト細胞株については IL-2 を 5 ng/mL、およびジェネ
テシン (Gibco) を 350 μ g/mL で添加して、RPMI + 10% ウシ胎仔血清 (

50

培養培地) 中で I L - 2 R トランスフェクト T F 1 細胞を定期的に培養する。免疫サイトカイン構築物の試験の前に、細胞を遠心分離によって採取し、上清を除去するために吸引した。細胞を P B S で洗浄して、サイトカインおよび抗生物質を除去した。補助剤を伴わずに細胞を 10^5 細胞 / m L で新鮮な培養培地中に再懸濁させ、インキュベーターに一晩戻した。

【1168】

細胞を遠心分離によって採取し、上清を除去するために吸引した。完全培地中で細胞を再懸濁させ、 $30 \mu\text{L}$ の細胞溶液をプレート (白壁の組織培養処理 384 ウェルプレート) のウェルに添加して、 1250 細胞 / ウェルの初期細胞濃度を達成した。

【1169】

培養培地中で、I L - 2 リガンドを、 300 ng / mL 最終アッセイ濃度 (F A C) (600 ng / mL 使用) から段階 4 倍希釈物として調製した。免疫サイトカイン構築物を、 $\alpha \beta \gamma$ 細胞株上での試験のために $0.1 \mu\text{g / mL}$ (3 倍希釈) から滴定し、 $\beta \gamma$ 細胞株について $10 \mu\text{g / mL}$ (3 倍希釈) から滴定した。 $30 \mu\text{L}$ の滴定を細胞プレートに添加した。ウェルを制御するために、I L - 2 を含まない培地 $30 \mu\text{L}$ を添加した。蒸発効果を低減させるために、プレートの最も外側の列 / 段に $80 \mu\text{L}$ の培養培地を充填した。次いで、プレートを 37°C 、5 % CO_2 で 3 日間インキュベートした。培養期間の後に、全てのウェルへの $30 \mu\text{L}$ の C e l l T i t r e G l o (P r o m e g a) の添加によって T F - 1 細胞の増殖を評価した。プレートを室温で 10 分間インキュベートし、次いで、超高感度発光フィルタを使用して読み取った。

【数 7】

方程式 7 : T F - 1 増殖アッセイからのバックグラウンドの倍数の計算

$$\text{バックグラウンドの倍数} = \frac{\text{試料 R L U}}{\text{バックグラウンド R L U の平均}}$$

R L U = 相対発光単位

データは、バックグラウンドの倍数として表される。バックグラウンドは、細胞を含有するがサイトカインは含まないウェルとして定義した

【1170】

実施例 14 - P D - L 1 への免疫サイトカインの結合

表面プラズモン共鳴を使用して、P D - L 1 に結合する免疫サイトカイン構築物の能力を確認した。軽鎖上の I L - 2 の存在は、結合に有害な影響を及ぼさない (表 9)。幅広い I L - 2 活性を有する 4 つの構築物がさらなる特性評価のための候補となった。これらは、1 D 0 5 D 1 - 9 I C K、1 D 0 5 D 1 - 8 I C K、1 D 0 5 D 9 - 2 I C K、および 1 D 0 5 D 9 - 7 I C K であった。

10

20

30

40

50

【表 9】

表 9：表面プラズモン共鳴によって測定した場合、PD-L1 への 1D05 結合の親和性は、抗体への IL-2 の融合による影響を受けない。示されるデータは、単一の実験からのものである。

試料名	KD (nM)
1D05	0.171
1D05 HC-IL2	0.240
1D05 LC-IL2	0.207
1D05 IC45 (D5-9)	0.203
1D05 IC46 (D1-9)	0.195
1D05 IC64 (D5-7)	0.214
1D05 D1-2	0.187
1D05 D1-3	0.199
1D05 D1-4	0.186
1D05 D1-5	0.203
1D05 D1-6	0.211
1D05 D1-7	0.178
1D05 D1-8	0.190
1D05 D9	0.205
1D05 D9-8	0.225
1D05 D9-7	0.200
1D05 D9-6	0.211
1D05 D9-4	0.175
1D05 D9-3	0.171
1D05 D9-2	0.189
1D05 D2-6	0.201
1D05 D3-7	0.203
1D05 D4-8	0.208
ベンチマーク	0.099

【1171】

材料および方法

表面プラズモン共鳴による免疫サイトカインの分析

ProteOn XPR36 (BioRad) アレイ SPR マシンでラベルフリー表面プラズモン共鳴 (SPR) 分析を実施した。GE Healthcare の抗ヒト IgG のアミン結合を使用して、抗ヒト IgG 捕捉表面を GLC バイオセンサチップ上に作製した。試験抗体をこの表面上に捕捉し、64 nM、16 nM、4 nM、1 nM、および 0.25 nM でヒト PD-L1 (自家) を分析物として使用した。HBS-EP (Teknova H8022) を使用してアッセイを 25°C で実施した。結合センサグラムを参照するために緩衝液のみを使用した。ProteOn XPR36 分析ソフトウェアに固有の 1:1 モデルを使用してデータを分析した。

【1172】

実施例 15－PD－L1 および PD－1／CD80 の相互作用を中和させる免疫サイトカインの能力の評価

抗体への IL－2 分子の融合がその中和能力を妨げないことを確実にするために、候補免疫サイトカインを中和 ELISA で試験した。試験した候補免疫サイトカインは、PD－L1 と PD－1 との間、および PD－L1 と CD80 との間の相互作用を中和させるそれらの能力が、野生型抗体と異ならなかった。結果は、図 13 および表 10 に示される。表の値は、3 つの独立した実験の平均である。

【表 10】

表 10：3 つの独立した実験の平均として表される、中和 ELISA データの要約

クローン	PD1－PD－L1 中 和 IC ₅₀ (nM)	CD80－PD－L1 中 和 IC ₅₀ (nM)
1D05	1.41	0.882
1D05 LC－IL－2	0.833	0.505
1D05 IC46 (D1－9)	1.75	1.07
1D05 D1－8	1.16	0.745
1D05 D9－2	1.55	0.947
1D05 D9－7	1.15	0.70
ハイブリッド対照	N/A	N/A

【1173】

材料および方法

a) PD－L1／PD－1 または PD－L1／CD80 中和 ELISA

2.5 μg/mL に希釈した CD80 (R&D Systems) または PD－1 (自家) を 96 ウェル低自家蛍光の高タンパク質結合プレート (Costar) に 4℃ で一晩吸着させた。PBS－Tween (0.1% v/v) で洗浄することによって過剰なタンパク質を除去し、PBS 中、室温で 1 時間、ウェルを 1% w/v ウシ血清アルブミン (BSA, Sigma) でブロックし、その後、プレートを前述のように洗浄した。抗体の滴定 (100 nM からの 3 倍希釈) のうちの 60 μL を、ELISA アッセイ緩衝液 (PBS + 0.1% BSA) 中で希釈した 96 ウェルの非結合プレートに添加した。16 nM 使用濃度 (8 nM FAC) の 60 μL のビオチニル化 PD－L1 (自家、Lightning Link Biotinylation キットで標識した) を、60 μL の ELISA アッセイ緩衝液を添加した対照ウェルを除いて、プレートに添加した。プレートを 30 分間インキュベートした後に、コーティングしたプレートに 50 μL を移した。

【1174】

コーティングしたプレートを室温で 1 時間インキュベートした。PBS－Tween (0.1% v/v) で洗浄することによって過剰なタンパク質を除去した。DELTA アッセイ緩衝液 (Perkin Elmer) 中で 1/1000 に希釈した、ストレプトアビジンで標識したユーロピウム (Perkin Elmer) を使用して、PD－L1 結合を検出した。プレートを TBS (トリス緩衝生理食塩水)－Tween (0.1% v/v) で洗浄し、50 μL/ウェルの DELTA Enhancement 溶液 (Perkin Elmer) をプレートに添加した。Envision プレートリーダー (Perkin Elmer) 上で、時間分解蛍光を 615 nm で測定した。方程式 3 に定義されるように特異的結合のパーセンテージを計算した。

【1175】

特異的結合パーセンテージ (方程式 3) から、4 パラメータロジスティック方程式 (方

程式 4) を使用する曲線適合によって、Graph Pad Prism ソフトウェアを使用して IC₅₀ 値を判定した。

【1176】

実施例 16 – 抗 PD-L1 応対の脱免疫化

抗 PD-L1 免疫サイトカインの周辺での有害な免疫学的反応の可能性を低減するために、T 細胞エピトープ分析ソフトバンクによって判定した場合により低い免疫原性の潜在性が予想される一連の 1D05 抗体変異体 (配列番号 47~51) を作製した。変異は、単一、または組み合わせであってもよい。野生型分子と同じ親和性で PD-L1 に結合するそれらの能力について、256 nM でのヒト PD-L1 分析物を加えて、実施例 14 に記載されるように SPR によって変異体を評価した。調査中の変異体は、配列番号 47~51 として含まれ、これらは下線および太字で示されている。V_H フレームワーク変異 (配列番号 47 および 48) は、結合に有害な影響を及ぼさない。CDRH2 (配列番号 50) における V から A への変異は結合に有害な影響を及ぼしたため、代替的な変異を分析する (V から Y、配列番号 298)。結果は、表 11 に示される。

【1177】

実施例 17 – NOD/SCID: 移植 T 細胞モデルにおける抗 PD-L1 抗体による腫瘍成長の阻害

NOD/SCID: 移植 T 細胞モデルにおいて、hIgG1 LAGA (配列番号 205) フォーマットの鉛抗体 1D05 による黒色腫瘍成長の阻害が実証された。IL-2 および IL-7 の存在下で、T 細胞を A375 (黒色腫細胞株) の存在下で 20 日間増殖させた。T 細胞を新鮮な A375 細胞と共に皮下に同時移植し、次いで、抗体を 1 時間後に腹腔内投与した。腫瘍の大きさおよび動物の生存を監視した。抗体 1D05 で治療したマウスの腫瘍は、アイソタイプ対照で治療した動物のものよりも小さかった。1D05 で治療したマウスの生存時間も増加した。

【1178】

材料および方法

Stewart R et al. (Cancer Immunol. Res., 2015 Sep; 3 (9): 1052-62) に概説される方法の改良法を用いて、NOD/SCID マウスにおける T 細胞/移植モデルを使用して有効性研究を実施した。NHSB T から白血球除去系チャンバを得た。PE 標識抗ヒト HLA-A2 (Biolegend、クローン: BB7.2) を使用して未画分血液を染色することによって HLA-A2 陽性ドナーを選択し、次いで、赤血球を溶解し、続いて、4% PFA で固定した後に、Attune フローサイトメーター上で獲得した。

10

20

30

40

50

【表 1 1】

表 1 1 : 鉛 1 D 0 5 抗体への脱免疫化変異

重鎖	軽鎖	K D (n M)
1 D 0 5 - I g G 1 欠損 (L A G A) 配列番号 2 9 9	1 D 0 5 カップ (配列番号 4 5)	0. 2 9
1 D 0 5 V _H におけるVからAの変化 (配列番号 4 7)、I g G 1 欠損 (L A G A、配列番号 2 0 5)	1 D 0 5 カップ (配列番号 4 5)	0. 3 3
1 D 0 5 V _H におけるFからSの変化 (配列番号 4 8)、I g G 1 欠損 (L A G A、配列番号 2 0 5)	1 D 0 5 カップ (配列番号 4 5)	0. 2 3
1 D 0 5 V _H におけるVからA&FからSの変化 (配列番号 3 4 2)、I g G 1 欠損 (L A G A、配列番号 2 0 5)	1 D 0 5 カップ (配列番号 4 5)	0. 2 3
1 D 0 5 - I g G 1 欠損 (L A G A) 配列番号 2 9 9	1 D 0 5 カップ、VからAの変化 (配列番号 5 0)	2. 6 6
1 D 0 5 V _H (配列番号 4 7) におけるVからAの変化、I g G 1 欠損 (L A G A、配列番号 2 0 5)	1 D 0 5 カップ、VからAの変化 (配列番号 5 0)	2. 8
1 D 0 5 V _H におけるFからSの変化 (配列番号 4 8)、I g G 1 欠損 (L A G A、配列番号 2 0 5)	1 D 0 5 カップ、VからAの変化 (配列番号 5 0)	1. 9 4
1 D 0 5 V _H におけるVからA&FからSの変化 (配列番号 3 4 2)、I g G 1 欠損 (L A G A、配列番号 2 0 5)	1 D 0 5 カップ、VからAの変化 (配列番号 5 0)	1. 9 4

10

20

30

F i c o l l 上の密度勾配遠心分離によってP B M Cを単離した。次いで、E a s y S e p ヒトC D 4⁺およびC D 8⁺ T細胞濃縮キット (S t e m c e l l T e c h n o l o g i e s、C a t 1 9 0 5 2 および 1 9 0 5 3) を使用して一次ヒトC D 4⁺およびC D 8⁺ T細胞を単離した。次いで、組換えヒトI L - 2 およびI L - 7 (P e p r o t e c h) の存在下で、C D 4⁺およびC D 8⁺ T細胞を2 0 日間、マイトマイシンC処置 A 3 7 5 細胞の単層 (1 0 日目に、新鮮な A 3 7 5 単層上にT細胞を再プレーティングした) 上で別々に培養した。2 0 日目に、「M r F r o s t y」 (N a l g e n e) 中、- 8 0 ° C の 9 0 % h i F B S / 1 0 % D M S O 中で細胞を凍結し、必要となるまで液体窒素中に保管した。インビボ実験を開始する前日に細胞を解凍し、培養中に配置した。

40

【1 1 7 9】

移植の日に、C D 4⁺およびC D 8⁺ T細胞を計数し、1 : 1 比で一緒に混合した。次いで、C D 4⁺ / C D 8⁺ 混合物を A 3 7 5 腫瘍細胞に添加し、マウスの後部右脇腹に皮下注射した。処置群は、細胞の移植の1 時間後に、抗体またはアイソタイプ対照の第 1 の用量を受けた (全て、1 0 m g / k g で腹腔内に投与した)。動物は、移植後 3、6、8、および 1 0 日目にさらなる用量を受けた。研究の終了まで、二次元で測定するデジタルキャリパを使用して、腫瘍発達を週に 3 回監視した。標準式 (L × W²) / 2 (L は、腫

50

瘍のより大きい直径であり、Wが、腫瘍のより小さい直径である）を使用して、腫瘍体積（ mm^3 ）を推測した。マウスの腫瘍が12mmの平均直径まで発達するか、またはそれらが研究プロトコルに概説された人道的エンドポイントのうちの1つに達するまで、マウスを研究下に置き続けた。人道的エンドポイント生存統計は、Prismを用いるKaplan-Meier法を使用して計算した。このアプローチを使用して、PD-L1治療が生存の改善に関連付けられるかどうかを判定した。

【表12】

表12：処置群

群	動物の数	細胞株
1	9	2×10^6 A375細胞
2	9	1：6比のT細胞：A375細胞（ 2×10^6 A375細胞）
3	8	10mg/kgのアイソタイプ対照hIgG1 1：6比のT細胞：A375細胞（ 2×10^6 A375細胞）
4	8	10mg/kgの抗PD-L1 1D05 hIgG1 LAGA（配列番号205） 1：6比のT細胞：A375細胞（ 2×10^6 A375細胞）

【1180】

アイソタイプ対照による治療は、 $\text{CD}4^+ / 8^+$ T細胞が腫瘍細胞と同時注射された群と比較した場合、腫瘍発達に影響を及ぼさなかった。一方で、抗PD-L1抗体1D05での治療は、アイソタイプ対照と比較した場合、腫瘍発達を遅らせた。これは、図14に示される。

【1181】

腫瘍と共にT細胞を同時注射した全ての群は、腫瘍単独の群と比較した場合、研究時間の増加を示した。アイソタイプ対照での治療は、研究時間に影響を及ぼさなかった一方、抗PD-L1抗体1D05での治療は、アイソタイプ対照群を含む全ての他の群と比較した場合、研究時間を増加させた。結果は、図15に示される。

【1182】

実施例18：カニクイザルにおける免疫サイトカインの単一用量研究

最も関連性のある動物モデルにおける薬力学および薬物動態（PK）パラメータを評価するために、雄カニクイザルは、単一用量の免疫サイトカイン（ICK）を1mg/kgで受けた。毒性の臨床的顕在化について動物を観察し、PK、サイトカインの産生、および白血球サブセットの特性評価の分析のために7日間にわたって血液試料を採取した。研究の存命フェーズ、ならびに血液学、フローサイトメトリー、およびサイトカイン分析をEnvigo UK（研究番号GF13YC）で実施した。薬物動態分析を自家で実施した。

【1183】

材料および方法

少なくとも2歳の雄カニクイザルを研究に使用し、研究の開始の7日前および4日前に体重を記録した。免疫サイトカイン構築物を50mM酢酸ナトリウム（pH5.5）中、1mg/mLで製剤化し、5mL/kg/時での静脈内注入のために生理食塩水中で0.2mg/mLに希釈した。治療前、投与終了の1時間後、および4時間後に血圧および体温を監視した。体調不良の兆候について動物を1日に2回観察した。研究を2相で実施し

、用量レベルおよびPK時点が好適であることを確かめるための1D05 HC IL-2 ICKおよび1D05 LC D9-7 ICKの初期用量、その後、4つのさらなる構築物（表1を参照されたい）と共に1D05 LC D9-7 ICKの投薬を繰り返した。1D05 LC D9-7 ICKの第2相投薬は、構築物の名称の隣の（2）によって示される。

【表13】

表13：処置群および動物数

相	動物	試験項目
1	134	1D05 HC IL-2 ICK
1	135	1D05 LC D9-7 ICK
2	136	1D05 LC IL-2 ICK
2	137	1D05 LC D9-7 ICK (2)
2	138	1D05 LC D9-2 ICK
2	139	1D05 LC D1-8 ICK
2	140	1D05 LC D1-9 ICK

【1184】

血液学的分析のために、空腹時血液試料を、治療前、ならびに治療後2、5、および7日目にEDTA処置管に採取した。敵的な血液学的パラメータをBayer Advia 120によって測定した。結果は、図16および17に示される。

【1185】

サイトカインおよび可溶性CD25の分析のために、空腹時血液試料を、治療前および治療後3日目にEDTA処置管に採取し、2000gでの10分間の遠心分離により血漿を抽出した。多重MSD（サイトカイン）または市販のELISA（可溶性CD25）による分析まで試料を凍結させた。結果は、図18および19に示される。

【1186】

免疫表現型検査のために、血液試料を、治療前および治療後5日目にEDTA処置管に採取した。血液試料を、直接コンジュゲートされたモノクローナル抗体のカクテルで染色し、次いで、赤血球を溶解し、分析前に1%のホルムアルデヒドを含有するリン酸緩衝生理食塩水中での再懸濁によって試料を固定した。結果は、図20に示される。

【1187】

PK分析のために、治療前、注入終了時（EOI）、EOIの2、4、8、16、24、32、40、および48時間、第2相の場合は72時間および96時間に延長）に血液試料を未処置の管に採取し、血液を凝固させ、次いで2000gで10分間の遠心分離によって血清を調製した。Kymabへの輸送のために血清試料をドライアイス上で凍結させた。結果は、図21に示される。

【1188】

血清試料の薬物動態分析

a) 抗PD-L1抗体の検出のためのPKアッセイ

PBS (Sigma、P3813-10PAK) 中で $2\mu\text{g}/\text{mL}$ に希釈した $50\mu\text{L}$ /ウェルのヒトPD-L1 Flag His (配列番号505、自家) を、96ウェルの高タンパク質結合蛍光プレート (Greiner) に 4°C で一晩吸着させた。 $300\mu\text{L}$ /ウェルのPBS-Tween ($0.1\% \text{ v/v}$) で3回洗浄することによって過剰なタンパク質を除去し、PBS中、室温で1時間、ウェルを $1\% \text{ w/v}$ ウシ血清アルブミン (BSA、Sigma) でブロックし、その後、プレートを前述のように洗浄した。プールしたカニクイザル血清 (Seralab、CYNSRM) 中で抗体を $10,000\text{ ng}/\text{mL}$ から $9.77\text{ ng}/\text{mL}$ に希釈して ($1/2$ 希釈)、ブランクを含む12個の標準を得た。標準、品質対照、および試料を、ELISAアッセイ緩衝液 (PBS + $0.1\% \text{ BSA}$) 中で50分の1MRD (必要最小希釈) に希釈し、コーティングされた96ウェルの高結合プレートに $50\mu\text{L}$ /ウェルで添加した。プレートを室温で1時間インキュベートし、その後、プレートをPBS-Tweenで3回洗浄した。 $50\mu\text{L}$ のビオチニル化ヤギ抗ヒトIgG (Southern Biotech) を $1\mu\text{g}/\text{mL}$ でプレートに添加した。プレートを室温で1時間インキュベートし、その後、プレートをPBS-Tweenで3回洗浄した。DEL FIAアッセイ緩衝液 (Perkin Elmer) 中で $1/1000$ に希釈した、ストレプトアビジンで標識したユーロピウム (Perkin Elmer) を使用して、PD-L1結合を検出した。プレートをTBS (トリス緩衝生理食塩水) - Tween ($0.1\% \text{ v/v}$) で洗浄し、 $50\mu\text{L}$ /ウェルのDEL FIA Enhancement溶液 (Perkin Elmer) をプレートに添加した。Envisionプレートリーダー (Perkin Elmer) 上で、時間分解蛍光を 615 nm で測定した。4パラメータロジスティック方程式 (方程式4) を使用して適合された標準曲線から内挿することによって、GraphPad Prismソフトウェアを使用して濃度を判定した。結果は、図21aおよび21bに示される。

【1189】

b) 無傷の免疫サイトカイン (IL-2に融合した抗体) の検出のためのPKアッセイ
PBS (Sigma、P3813-10PAK) 中で $3\mu\text{g}/\text{mL}$ に希釈した $50\mu\text{L}$ /ウェルのヒトPD-L1 Flag His (配列番号505、自家) を、96ウェルの低自己蛍光高タンパク質結合蛍光プレート (Costar) に 4°C で一晩吸着させた。 $300\mu\text{L}$ /ウェルのPBS-Tween ($0.1\% \text{ v/v}$) で3回洗浄することによって過剰なタンパク質を除去し、PBS中、室温で1時間、ウェルを $1\% \text{ w/v}$ ウシ血清アルブミン (BSA、Sigma) でブロックし、その後、プレートをPBS-Tweenで3回洗浄した。プールしたカニクイザル血清 (Seralab、CYNSRM) 中で抗体を $50,000\text{ ng}/\text{mL}$ から $617.3\text{ ng}/\text{mL}$ に希釈して、ブランクを含む10個の標準を得た。標準、品質対照、および試料を、ELISAアッセイ緩衝液 (PBS + $0.1\% \text{ BSA}$) 中で20分の1MRDに希釈し、コーティングされた96ウェルの高結合プレートに $50\mu\text{L}$ /ウェルで添加した。プレートを室温で1時間インキュベートし、その後、プレートをPBS-Tweenで3回洗浄した。 $50\mu\text{L}$ のビオチニル化抗ヒトIgG (Peprotech) を $2\mu\text{g}/\text{mL}$ でプレートに添加した。プレートを室温で1時間インキュベートし、その後、プレートを前述のように洗浄した。DEL FIAアッセイ緩衝液 (Perkin Elmer) 中で $1/1000$ に希釈した、ストレプトアビジンで標識したユーロピウム (Perkin Elmer) を使用して、結合を検出した。プレートをTBS (トリス緩衝生理食塩水) - Tween ($0.1\% \text{ v/v}$) で洗浄し、 $50\mu\text{L}$ /ウェルのDEL FIA Enhancement溶液 (Perkin Elmer) をプレートに添加した。Envisionプレートリーダー (Perkin Elmer) 上で、時間分解蛍光を 615 nm で測定した。4パラメータロジスティック方程式を使用して適合された標準曲線から内挿することによって、GraphPad Prismソフトウェアを使用して濃度を判定した。結果は、図21cおよび21dに示される。

【1190】

結果の要約

投薬後に、明白なIL-2媒介性毒性の兆候 (発熱、血管漏出、下痢) は認められなか

った。リンパ球数は、異なる免疫サイトカイン構築物による研究の期間中に増加した。最大のトランケーションを有する構築物は、最も低いレベルのリンパ球増殖を誘導し、1D05 LC D1-9 ICKまたは1D05 LC D1-8 ICKでは7日間の間に増殖はほとんど認められなかった一方、1D05 LC D9-7 ICKおよび全長IL-2は、顕著な増殖を誘導した。いくつかの構築物において2日目に認められたリンパ球減少症は、循環外でのリンパ球の辺縁趨向を示す。5日目に見られる反跳性リンパ球増加がこれに続く(図16)。

【1191】

免疫サイトカイン構築物の投与は、顕著な貧血を引き起こさなかった(図17)。7日目に、最も活性な構築物(1D05 HC IL-2 ICK、1D05 LC IL2 ICK、および1D05 LC D9-7 ICK)においてヘモグロビン、ヘマトクリット、および赤血球レベルの約20%の減少が認められ、他の構築物において約10%の低減が認められた。これは、IL-2重鎖免疫サイトカインでの研究からの事例証拠と一致する。血小板減少(血小板数の減少)は認められなかった。

【1192】

IL-2は、投薬の3日後に激しく増加し、これは、活性かT細胞による産生を示す。しかしながら、アッセイがヒトIL-2に対して交差反応性であり、そのため免疫サイトカインも検出することができる可能性がある。IL-8レベルの下方制御の傾向があったものの、投薬後に他のサイトカインのいずれにおいても明白な上方または下方制御はなかった(図18)。T細胞活性化のバイオマーカーである可溶性CD25のレベルは、免疫サイトカインを投薬した3日後に激しく増加した(図19)。可溶性CD25のレベルは、実施例13に記載される免疫サイトカインのインビトロ刺激活性と相関した。

【1193】

免疫サイトカインの投薬は、血液中の活性化T細胞の数を増加させる(図20)。1D05 LC IL-2 ICKを投薬した場合、CD4⁺およびCD8⁺細胞の総数は増加するが、CD69⁺(初期活性)およびCD25⁺(後の活性)サブセットは、治療前のレベルと比較して大きく増加する。トランケートされた構築物では、細胞数の増加はより際立たない。B細胞、NK細胞、または好中球数の顕著な変化は認められず、単球数の中程度の増加が認められた。試料の凝固により、1D05 LC D9-7 ICKを投薬した動物のデータは利用不可能である。

【1194】

軽鎖(LC)融合は、重鎖(HC)融合よりも長い半減期を有し、これはマウスにおける以前のデータと一致する(Gillies SD, Protein Engineering, Design and Selection, 26:10:561-569, 2013)。1D05 LC IL-2 ICKの半減期は約8時間であり、トランケートされたIL-2構築物の半減期は、約2倍長かった(図21aおよび21b)。全長IL-2と比較した、トランケートされたIL-2を有する免疫サイトカインの半減期の増加は、IL-2受容体への結合の低減を反映し得る。

【1195】

修正したアッセイを使用して、無傷の免疫サイトカイン、すなわち、IL-2に融合した抗体を検出した(図21cおよび21d)。この結果は、分子のIL-2部分はインビボで融合されたままであり、切断されないことを示す。

【1196】

実施例19-カニクイザルにおける拡張単一用量研究

リンパ球増加の期間を判定し、T細胞サブセットのより詳細な分析を取得するために、拡張単一用量研究(研究番号HQ52PV)を実施する。雌のカニクイザルに、実施例18に従って1mg/kgの免疫サイトカインを投与し、少なくとも14日間にわたって監視する。サイトカインは、1、3、7、10、および14日目、ならびに治療前に分析する。血液学的測定は、2、5、7、10、および14日目、ならびに治療前に実施する。可溶性CD25の検出は、3、7、および10日目、ならびに治療前に実施する。CD1

27を免疫表現型検査パネルに添加して、制御性T細胞T (CD3⁺ CD4⁺ CD25^{hi} CD127^{lo})の検出を可能にし、1、5、7、10、および14日目、ならびに治療前に分析を実施する。PK分析を前と同じように実施する。処置群は、表14に示される。

【表14】

表14：処置群および動物数

相	動物	試験項目
3	378	1D05 LC IL-2 ICK
3	379	1D05 LC D9-7 ICK
3	380	1D05 LC D9-2 ICK
3	381	1D05 LC D1-8 ICK
3	382	1D05 LC D5-9 ICK

【1197】

投薬後に、明白なIL-2媒介性毒性の兆候（発熱、血管漏出、下痢）は認められなかった。全ての免疫サイトカイン構築物において、リンパ球数は、7日目にピークに達した。最大のトランケーションを有する構築物は、最も低いレベルのリンパ球増殖を誘導し、1D05 LC D1-8 ICKで最も少ない増殖が認められた一方、1D05 LC D9-7 ICKおよび全長IL-2は、最大の増殖を誘導した。いくつかの構築物において2日目に認められたリンパ球減少症は、循環外でのリンパ球の辺縁趨向を示す。反跳性リンパ球増加がこれに続く（図28）。T細胞活性化のバイオマーカーである可溶性CD25のレベルは、免疫サイトカインを投薬した3日後にピークに達した（図29）。可溶性CD25のレベルは、実施例13に記載される免疫サイトカインのインビトロ刺激活性と相関した。

【1198】

免疫サイトカイン構築物の投与は、顕著な貧血を引き起こさなかった（図30）。免疫サイトカイン構築物において、ヘモグロビン、ヘマトクリット、および赤血球レベルの10～20%の低減が認められた。1D05 LC D1-8 ICKを投与された動物において、経過時間全体にわたってヘモグロビンレベルはより低いままであった。2つの最も活性な構築物において5日目に軽度の血小板減少が認められたが、この時点の後にレベルが回復した。IL-2は、投薬の3日後に激しく増加し、これは、活性かT細胞による産生を示す。しかしながら、アッセイがヒトIL-2に対して交差反応性であり、そのためこれらのレベルが免疫サイトカインの存在を反映する可能性がある。投薬後に他のサイトカインのいずれにおいても明白な上方または下方制御はなかった（図31）。

【1199】

実施例18において前に認められたように、1D05 LC IL-2 ICKの半減期は約8時間であり、トランケートされたIL-2構築物の半減期は、トランケーションの大きさと相関した（図32）。最も長いトランケーションを含有する免疫サイトカインであるD1-8は、約24時間の最長の半減期を有した。全長IL-2と比較した、トランケートされたIL-2を有する免疫サイトカインの半減期の増加は、IL-2受容体への結合の低減を反映し得る。

【1200】

CD4⁺およびCD8⁺ T細胞の増殖は、図33に示される。自動化された細胞数について認められるように、増殖の程度は、IL-2トランケーションのサイズとよく関連し、両方のT細胞サブセットの最大の増殖は、1D05 LC ICK D9-7を投与した動物において認められた。

【1201】

実施例20-細胞内因的発現hPD-L1への結合、ならびにPD-1およびCD80へのhPD-L1結合の中和

hPD-L1を内因的に発現するES2細胞に結合する能力、ならびにPD-L1/PD-1相互作用およびPD-L1/CD80相互作用の中和について、鉛抗体を試験する。hPD-L1を内因的に発現するES2細胞(ATCC)をFACS緩衝液(PBS 1% BSA 0.1%アジ化ナトリウム)中で希釈し、ウェル当たり0.5~1×10⁵細胞の密度で3つの96ウェルのV字底プレート(Greiner)に分配する。細胞を150μLのPBSで洗浄し、300gで3分間遠心分離させる。上清を吸引し、150μLのPBSを添加する。この洗浄ステップを繰り返す。

【1202】

プレート1(PD-L1結合)に、FACS緩衝液中で希釈した、25μLの鉛抗体、参照抗体、または対照抗体を、洗浄した細胞に添加する。25μLのFACS緩衝液を添加し、細胞を4℃で60分間インキュベートする。150μLのFACS緩衝液を添加し、細胞を上記のように洗浄する。抗PD-L1抗体結合を検出するために、抗ヒトPE(Jackson ImmunoResearch)をFACS緩衝液中で1/500に希釈し、50μLのこの混合物を細胞に添加する。細胞を4℃で60分間インキュベートする。細胞を150μLのFACS緩衝液で2回洗浄し、各洗浄ステップ後に300×gで3分間遠心分離させて上清を吸引する。50μLの4%パラホルムアルデヒドの添加によって細胞を固定し、4℃で一晩インキュベートする。細胞を上記のように1回洗浄し、分析のためにFACS緩衝液中で再懸濁させる。Beckman Coulter Cytoplex器具を使用したフローサイトメトリーによってPEシグナル強度(幾何平均)を測定する。さらなる計算を伴わずに幾何平均値としてデータをプロットする。

【1203】

プレート2(PD-1中和)に、FACS緩衝液中で希釈した、25μLの鉛抗体、参照抗体、または対照抗体を、洗浄した細胞に添加する。25μLのビオチニル化ヒトPD-1(自家、Fcタグ、配列番号6)を添加し、細胞を4℃で60分間インキュベートする。製造業者の指示に従ってLightning Linkコンジュゲーションキット(Innova Biosciences)を使用して、ビオチニル化を自家で実施する。150μLのFACS緩衝液を添加し、細胞を上記のように洗浄する。ビオチニル化PD-1を検出するために、ストレプトアビジン-Alexa Fluor 647(AF647, Jackson ImmunoResearch)をFACS緩衝液中で1/500に希釈し、50μLのこの混合物を細胞に添加する。細胞を4℃で60分間インキュベートする。細胞を150μLのFACS緩衝液で2回洗浄し、各洗浄ステップ後に300×gで3分間遠心分離させて上清を吸引する。細胞を、上記のように分析のために固定、洗浄、および再懸濁させる。フローサイトメトリーによってAPCシグナル強度(幾何平均)を測定する。さらなる計算を伴わずに幾何平均値としてデータをプロットする。

【1204】

プレート3(CD80中和)に、FACS緩衝液中で希釈した、25μLの鉛抗体、参照抗体、または対照抗体を、洗浄した細胞に添加する。25μLのビオチニル化ヒトCD80(Fcタグ、R&D Systems、140-B1)を添加し、細胞を4℃で60分間インキュベートする。全ての他のステップを、プレート2と同様に実施する。

【1205】

代替的には、結合および中和を同時に検出するために、hPD-L1を発現するES2細胞をFACS緩衝液中で希釈し、ウェル当たり0.5~1×10⁵細胞の密度で2つの

96ウェルのV字底プレート（Greiner）に分配する。細胞を150 μ LのPBSで洗浄し、300gで3分間遠心分離させる。上清を吸引し、150 μ LのPBSを添加する。この洗浄ステップを繰り返す。

【1206】

FACS緩衝液中で希釈した、25 μ Lの鉛抗体、参照抗体、または対照抗体を、洗浄した細胞に添加する。25 μ Lのビオチニル化ヒトPD-1（R&D Systems、8986-PD-100、hisタグ）またはCD80（R&D Systems、9050-B1-100、hisタグ）を添加し、細胞を4℃で60分間インキュベートする。150 μ LのFACS緩衝液を添加し、細胞を上記のように洗浄する。ビオチニル化PD-1またはCD80および抗PD-L1抗体の結合を検出するために、ストレプトアビジン-AF647および抗ヒトPEをFACS緩衝液中で1:500に各々希釈し、50 μ Lのこの混合物を細胞に添加する。細胞を4℃で60分間インキュベートする。細胞を150 μ LのFACS緩衝液で2回洗浄し、各洗浄ステップ後に300 $\times$ gで3分間遠心分離させて上清を吸引する。細胞を、上記のように分析のために固定、洗浄、および再懸濁させる。フローサイトメトリーによってPEおよびAPCシグナル強度（幾何平均）を測定する。さらなる計算を伴わずに幾何平均値としてデータをプロットする。代替的には、APC（R&D Systems）にコンジュゲートされた抗hisタグ抗体を使用し、PD-1もしくはCD80を検出してもよく、またはPD-1およびCD80をAF647で直接標識してもよい。

【1207】

実施例21—レポーター細胞バイオアッセイにおける鉛抗PD-L1抗体の試験

生物発光細胞アッセイ（Promega（登録商標））を使用して、細胞上のPD-L1/PD-1相互作用を中和する抗PD-L1抗体の能力を判定する。PD-L1、およびTCR活性化を促進するように設計された細胞表面タンパク質をトランスフェクトしたPD-L1 aAPC/CHO-K1細胞を、PD-1発現Jurkat細胞と共培養した。これらの細胞はまた、NFAT誘導性ルシフェラーゼ応答配列を提示する。PD-L1-PD-L1相互作用をブロックすることができる抗体の存在下での2つの細胞型の共培養は、TCRシグナル伝達およびNFAT媒介性ルシフェラーゼ活性を活性化する。

【1208】

アッセイは、製造業者の推奨に従って実行される。簡潔には、PD-L1 aAPC/CHO-K1細胞を、10%のhiFBSを補充したHams F12培地中で一晩培養する。翌日に、培地を除去し、エフェクターPD-1 Jurkat細胞および抗PD-L1抗体を、1%のhiFBSを補充したRPMI 1640中、37℃で6時間アッセイプレートに添加する。10分間のインキュベーションの後に、発光設定を使用したEnvisionプレートリーダー上で、Bio-Glo（商標）を用いてプレートを読み取る。抗体誘導性ルシフェラーゼ活性は、方程式8によって定義される応答のバックグラウンドレベルを示すウェルのアッセイシグナルと比較した倍数誘導として表される。4パラメータロジスティック適合（方程式4）を使用してEC50値を計算する。

【1209】

【数8】

方程式8

倍率誘導 = 試料ウェル / 基底ルシフェラーゼ応答

基底ルシフェラーゼ応答 = PD-L1 CHO-K1細胞およびPD-1 Jurkat細胞を含有するウェルからの値

【1210】

実施例22—hPD-L1発現マウスにおける鉛抗体の薬物動態研究

抗体当たり8匹のマウスに、ヒトIgG1エフェクター可能化フォーマット（すなわち

、野生型 I g G 1 の定常領域、配列番号 3 4 1 を有する) の鉛抗体を、ヒト P D - L 1 を発現するマウスに 1 0 m g / k g で腹腔内投与する。血液試料を、治療前、ならびに 2、4、8、12、24、48、72、96、192、336、508、および 672 時間目に採取する。血清を調製し、分析まで試料を凍結させる。標準曲線およびブランクを調製するためのビヒクルとして C 5 7 B L / 6 マウスからの血清を使用することを除いて、実施例 18 において抗体の検出について記載される方法に従って試料を分析する。より多い投与量に起因して、必要最小希釈は実施例 18 とは異なる、これは経験的に判定される。

【1211】

実施例 23 - 非ヒト霊長類における鉛抗体の薬物動態研究

抗体当たり 3 匹の動物に、ヒト I g G 1 エフェクター可能化フォーマット (すなわち、野生型 I g G 1 の定常領域、配列番号 3 4 1 を有する) の鉛抗体を、雄力ニクイザルに 1 0 m g / k g で静脈内投与する。血液試料を、治療前、ならびに 2、4、8、12、24、48、72、96、192、336、508、および 672 時間目に採取する。血清を調製し、分析まで試料を凍結させる。実施例 18 において抗体の検出について記載される方法に従って試料を分析する。より多い投与量に起因して、必要最小希釈は実施例 18 とは異なる、これは経験的に判定される。

【1212】

実施例 24 : マウス B 細胞 : T 細胞ハイブリドーマアッセイにおける鉛抗体活性

マウス B 細胞 : T 細胞ハイブリドーマ共培養アッセイにおいて抗体を試験して、I L - 2 の誘導を評価した。1 % のウシ胎仔血清 (G i b c o) で補充した D M E M (G i b c o) 中で調製した 5 0 μ L のヒト P D - L 1 (配列番号 1) トランスフェクト L K 3 5 . 2 マウス B リンパ球ハイブリドーマ細胞 (A T C C) を、1 0 μ M のオボアルブミン₃₂₃₋₃₂₉ペプチド (T h e r m o S c i e n t i f i c) で治療し、96 ウェルの組織培養処理プレート (C o s t a r) に 2 × 1 0⁴ 細胞 / ウェルで分配した。次いで、オボアルブミンペプチド担持細胞を、1 % のウシ胎仔血清で補充した D M E M 中で、9 つの濃度点について 3 0 n M から、抗 P D - L 1 抗体または m A b² (商標) フォーマットの抗 I C O S / P D - L 1 二重特異性抗体の 5 0 μ L の 1 : 3 滴定系列と混合した。

【1213】

37 °C、5 % C O₂ での 1 時間のインキュベーション後、1 % のウシ胎仔血清 (G i b c o) で補充した D M E M (G i b c o) 中で一晩培養した 1 0 0 μ L のマウス T ヘルパーハイブリドーマ細胞株 D O - 1 1 - 1 0 (N a t i o n a l J e w i s h H e a l t h) を、2 × 1 0⁴ 細胞 / ウェルでアッセイプレートに添加した。L K 3 5 . 2 / D O - 1 1 - 1 0 共培養を 37 °C、5 % C O₂ で一晩インキュベートした後、上清を採集して、マウス I L - 2 の産生を評価した。細胞刺激カクテル (e B i o s c i e n c e) の 1 または 0 . 1 × の使用ストック (w o r k i n g s t o c k) をマウス I L - 2 産生についての正の対照として使用した。

【1214】

ストレプトアビジン-ユーロピウムを検出試薬 (D E L F I A (登録商標)) として含むように修正したマウス I L - 2 D u o s e t E L I S A キット (R & D S y s t e m s) を製造業者のプロトコルに従って使用して、マウス I L - 2 定量化を実施した。簡潔には、P B S 中 1 μ g / m L で調製した、提供された捕捉抗体でアッセイプレートを 4 °C で一晩コーティングした。プレートを P B S - T w e e n (0 . 1 % v / v) で 3 回洗浄した後、P B S 中で 2 0 0 μ L の 1 % w / v ウシ血清アルブミン (B S A、S i g m a) を室温で 1 時間添加した。前述のように洗浄ステップを実施した後、5 0 μ L の細胞上清をアッセイプレートに添加した。1 時間のインキュベーション後、P B S 中 0 . 1 % w / v B S A 中で調製した、5 0 μ L の提供された検出抗体を 2 0 0 μ g / m L で添加し、プレートをさらに 1 時間インキュベートした。プレートを上記のように洗浄し、D E L F I A (登録商標) アッセイ緩衝液 (P e r k i n E l m e r) 中でストック溶液から 1 : 5 0 0 に希釈した、5 0 μ L の D E L F I A (登録商標) E u - N 1 ストレプトアビジンを全てのウェルに 1 時間添加した。D E L F I A 洗浄緩衝液 (0 . 5 M T r i s H

10

20

30

40

50

CL (Gibco)、1% Tween v/v (Sigma)) を使用してさらなる洗浄ステップを実施した後、50 μ L の DELFIA (登録商標) Enhancement Solution (Perkin Elmer) を添加した。プレート室温で遮光して5分間インキュベートし、Envisionプレートリーダー (Perkin Elmer) 上で DELFIA (登録商標) 時間分解蛍光の適切な設定を使用して615 nmで読み取った。マウス IL-2 の濃度を、試験試料に伴って実行した標準曲線から内挿した。方程式9を使用して最終プロット値を計算し、50 μ L の培地のみで処理した共培養細胞のアッセイシグナルを使用してバックグラウンドシグナルを計算した。結果は、図23に示される。全ての抗体は、この共培養系において IL-2 の産生を強力に増強する。

【数9】

10

$$\text{方程式9} = \text{マウス IL-2 (pg/mL)} - \text{バックグラウンド}$$

【表15】

表15：マウスT細胞ハイブリドーマアッセイにおけるPD-L1抗体によるIL-2の誘導のEC₅₀値

抗体名	EC ₅₀ (nM)		
	n = 1	n = 2	n = 3
1D05	0.33	0.21	0.21
84G09	0.24	0.14	0.17
413G05	0.29	0.11	0.29
414B06	0.59	0.30	0.18
416E01	0.19	0.15	0.14
ベンチマーク2	0.26	0.13	0.13

20

30

【表16】

表16：マウスT細胞ハイブリドーマアッセイにおけるICOS/PD-L1二重特異性mAb² (商標) 抗体によるIL-2の誘導のEC₅₀値

二重特異性抗体名	EC ₅₀ (nM)		
	n = 1	n = 2	n = 3
ICOS/PD-L1二重特異性1	0.38 6	n/a	0.888
ハイブリッド対照/PD-L1二重特異性	0.24 7	0.31 1	0.162
ICOS/PD-L1二重特異性2	0.33 8	0.21 7	0.229
PD-L1ベンチマーク	0.12 2	0.12 8	0.123

40

【1215】

実施例25－活性化DC-T細胞混合リンパ球反応における鉛抗体の試験

50

Monocyte Isolation KitおよびMACS（商標）磁気分離システム（Miltenyi Biotec）を使用して負の選択法によって凍結保存したPBMCから単球を単離した。10%のhiFBSならびに100 ng/mLのGM-CSFおよびIL-4（いずれもPeprotech）を含有するRPMI 1640培地中で単球を再懸濁させた。非TC処理6ウェルプレート（Greiner）中で細胞を5日間培養して、DCの分化を誘導した後、E. coli O55:B5（Sigma）からの100 ng/mLのリポ多糖を添加して、DCを活性化させた。活性化の24時間後に細胞を採取し、PBSで1回洗浄してLPSを除去し、RPMI 10% hiFBS中、 10^6 /mLで再懸濁させた。上記のようにPan T-Cell IsolationキットおよびMACSシステムを使用して凍結保存したPBMCから同種CD3⁺ T細胞を単離し、RPMI 10% hiFBS中、 2×10^6 /mLで再懸濁させた。選択された抗体の10 nMからの連続希釈（1：3）をRPMI 10% hiFBS中で調製し、50 μ Lを96ウェルの平底TCプレートプレートに三連で添加した。DC（100 μ L）およびT細胞（50 μ L）をプレートに添加し、37℃、5% CO₂で5日間インキュベートした。IL-2の測定のために3日後に、およびIFN γ の測定のために5日後に、上清を除去した。使用まで-20℃で上清を保管した。DELTA（登録商標）Eu-N1ストレプトアビジン検出を使用して、R&D Systems Human IFN γ and IL-2 Duo set（登録商標）ELISAでサイトカイン産生を測定した。結果は、図24に示される。

【1216】

実施例26：カニクイザルにおける免疫サイトカインの多回用量研究

2つの免疫サイトカイン1D05 D9-7 ICKおよび1D05 D1-8 ICK（実施例14に記載される）の薬理学および毒性をカニクイザルにおける多回用量研究で評価する。雄の幼若サルに、2つの異なるレジメンで1 mg/kg/用量を投与する：レジメン1-0日目および14日目に動物に投与する；レジメン2-0、2、14、および16日目に動物に投与する。群当たり2匹の動物に投与し、28日間監視する。処置群は、表17に示される。

【表17】

表17：多回用量研究のための処置群

処置群	構築物	レジメン	群あたりの動物数
1	1D05 D9-7 ICK	1	2
2	1D05 D9-7 ICK	2	2
3	1D05 D1-8 ICK	1	2
4	1D05 D1-8 ICK	2	2

【1217】

心拍数、体温、呼吸数、および血圧を、投与の1時間後および4時間後に測定する。体重は毎日監視する。サイトカインを、2、5、7、10、14、16、19、21、24、および28日目、ならびに治療前に分析する。血液学的測定は、2、5、7、10、14、16、19、21、24、および28日目、ならびに治療前に実施する。可溶性CD25の検出は、3、7、および10、17、21、24日目、ならびに治療前に実施する。実施例19に記載されるパネルに従い、免疫表現型検査は、7、10、14、24、お

よび28日目、ならびに治療前に実施する。薬物動態（PK）分析のための試料は、各注入における以下の時点で採取する：治療前、注入終了時、8、16、24、32、40、48、72、および96時間。

【1218】

実施例27：同系腫瘍モデルにおける免疫サイトカイン有効性研究

CT-26マウス腫瘍モデルを使用して有効性研究を実施して、代替免疫サイトカイン活性を未修飾抗体と比較し、エフェクター機能の役割を評価する。移植の日に、BALB/cマウスを、 1×10^5 CT-26細胞/動物でマウスの後部右脇腹に皮下注射する。処置群は、腫瘍細胞の移植の6日後に、抗体または関連する対照の第1の用量を受け（全て、 10 mg/kg で腹腔内に投与した）、合わせて2週間にわたって週に3回投与される。研究の終了まで、二次元で測定するデジタルキャリパを使用して、腫瘍発達を週に3回監視する。標準式（ $L \times W^2$ ）/2（Lは、腫瘍のより大きい直径であり、Wが、腫瘍のより小さい直径である）を使用して、腫瘍体積（ mm^3 ）を推測する。マウスの腫瘍が12mmの平均直径まで発達するか、またはそれらが研究プロトコルに概説された1つの人道的エンドポイントに達するまで、マウスを研究下に置き続ける。人道的エンドポイント生存統計は、Prismを用いるKaplan-Meier法を使用して計算する。

【表18】

表18：有効性研究のための処置群

群	動物の数	治療
1	10	10 mg/kg のハイブリッド対照 hu IgG1 _L AGA（定常領域配列番号205）
2	10	10 mg/kg のハイブリッド対照 hu IgG1 _L AGA IL-2
3	10	10 mg/kg の抗PD-L1 hu IgG1 _{LAG} A
4	10	10 mg/kg の抗PD-L1 hu IgG1 _{LAG} A IL-2
5	10	10 mg/kg の抗PD-L1 hu IgG1（定 常領域配列番号340）
6	10	10 mg/kg の抗PD-L1 hu IgG1 I L-2

【1219】

実施例28：T細胞：黒色腫細胞株移植モデルにおける免疫サイトカイン有効性研究

R Stewart et al. に概説される方法の改良法を用いて、NOD/SCIDマウスにおけるT細胞：A375細胞株移植モデルを使用して有効性研究を実施する。簡潔には、PE標識抗ヒトHLA-A2抗体（Biolegend）を使用して全血を染色することによってHLA-A2陽性ドナーを選択し、続いて、赤血球溶解およびフローサイトメトリーによる分析を行った。次いで、EasySepヒトCD4⁺およびCD8⁺T細胞濃縮キット（Stemcell Technologies、Cat 19052/3）を使用して一次ヒトCD4⁺またはCD8⁺T細胞を単離する。次いで、IL-2およびIL-7の存在下で、CD4⁺およびCD8⁺細胞を20日間、マイトマイシンC処置A375細胞の単層上で別々に培養する。10日目に、T細胞をA375の新鮮な支持細胞層上にプレーティングする。20日目に、細胞を凍結保存し、必要となるまで液体窒素中で保管した。移植の前日に、T細胞を解凍し、培地およびサイトカイン中で一晩培養する。移植の日に、CD4⁺およびCD8⁺細胞を計数し、1：1比で一緒に混合する。

次いで、T細胞を新鮮なA375腫瘍細胞と1：6比で混合し、マウスの後部右脇腹に皮下注射する。処置群は、T細胞および腫瘍細胞の移植の1時間後に、抗体、免疫サイトカイン、または関連する対照の用量を受ける（全て、10mg/kgで腹腔内に投与した）。研究の終了まで、二次元で測定するデジタルキャリパを使用して、腫瘍発達を週に3回監視する。標準式 $(L \times W^2) / 2$ （Lは、腫瘍のより大きい直径であり、Wが、腫瘍のより小さい直径である）を使用して、腫瘍体積（mm³）を推測する。マウスの腫瘍が12mmの平均直径まで発達するか、またはそれらが研究プロトコルに概説された1つの人道的エンドポイントに達するまで、マウスを研究下に置き続ける。人道的エンドポイント生存統計は、Prismを用いるKaplan-Meier法を使用して計算する。このアプローチを使用して、どの治療が生存の改善に関連付けられるかを判定する。その後の研究で、異なるIL-2活性を有する免疫サイトカイン構築物を比較する。

【表19】

表19：有効性研究のための処置群

群	動物の数	治療
1	10	2×10^6 A375細胞
2	10	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ T細胞：A375細胞
3	10	10mg/kgのハイブリッド対照CD4 ⁺ /CD8 ⁺ T細胞：A375細胞
4	10	10mg/kgのハイブリッド対照IL-2 CD4 ⁺ /CD8 ⁺ T細胞：A375細胞
5	10	200,000IUの組換えヒトIL-2 CD4 ⁺ /CD8 ⁺ T細胞：A375細胞（ 2×10^6 A375細胞）
6	10	10mg/kgの1D05 CD4 ⁺ /CD8 ⁺ T細胞：A375細胞（ 2×10^6 A375細胞）
7	10	10mg/kgの1D05 LC IL-2 CD4 ⁺ /CD8 ⁺ T細胞：A375細胞（ 2×10^6 A375細胞）

【1220】

実施例29：エフェクター機能のレポーターアッセイにおける鉛抗体の活性

ADCC Reporter Bioassayを使用して、選択された抗体の抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性を評価した。ヒトPD-L1を内因的に発現するES2細胞（ATCC CRL-1978）を、ADCC可能化抗体の存在下で、濃度依存的な様式でルシフェラーゼを産生するエフェクター細胞（ヒトFcγRIIIa受容体を安定的に発現する、操作されたJurkat細胞-V158、Promega）と共培養した。ルシフェラーゼが発光原基質を発光産物に変換させた際の発光を測定することによって、可溶性ルシフェラーゼ活性を評価する。

【1221】

アッセイの直前に、標的細胞（ES2）を遠心分離させ、RPMI 1640+10% Ultra low IgG FBS（Thermo Fisher Scientific）中で再懸濁させ、30,000細胞/ウェル（10μL/ウェル）で384ウェルの白色底面プレートにプレーティングした。Jurkat NFATルシフェラーゼレポーター（エフェクター）細胞をRPMI 1640+10% Ultra low IgG

FBS中で再懸濁させ、ウェル当たり10,000細胞(10μL/ウェル)で標的細胞に添加した。抗体の11個の3倍連続希釈をRPMI 1640+10% Ultra low IgG FBS中で2.2nMから調製し、標的細胞に添加した(10μL/ウェル)。プレートを37℃、5% CO₂で一晩インキュベートした後、発光原BioGlo基質をウェルの直接添加し(30μL/ウェル)、Envision(Perkin Elmer)プレートリーダー上で発光を定量化した。

【1222】

生データ(Envision読み取り)からの相対発光量(RLU)の値を、以下の方程式を使用して誘導の倍位数に対して正規化した。

【数10】

方程式10：

$$\text{誘導の倍数} = \frac{\text{RLU (誘導)} - \text{RLU (バックグラウンド)}}{\text{RLU (バックグラウンド)}}$$

【1223】

4パラメータロジスティック適合を使用してデータをGraphPad Prismにプロットし、代表的な実験は、図34に示される。結果は、表20に要約される。試験した全ての抗体が発光を誘導し、これは、全てがADCCによる標的細胞の殺滅を誘導する能力を有することを示す。EC₅₀値は概して同様であるものの、416E01は、最も高い最大レベルの発光を誘発する。

【表20】

表20：レポーター細胞アッセイからのデータの要約

抗体名	EC ₅₀ (pM)			最大倍数誘導		
	n = 1	n = 2	n = 3	n = 1	n = 2	n = 3
1D05	24. 14	21. 53	34. 71	13. 70	16. 69	25. 04
84G09	24. 95	15. 30	25. 90	16. 33	22. 21	33. 82
413G05	21. 92	20. 87	27. 52	13. 22	16. 41	23. 45
414B06	19. 08	15. 02	24. 24	10. 94	20. 15	31. 51
416E01	79. 98	10. 58	22. 86	32. 11	33. 76	60. 16
ベンチマーク2	24. 81	10. 56	24. 93	19. 55	31. 88	43. 23

【1224】

実施例30：細胞発現カニクイザルPD-L1への鉛抗体の結合。

カニクイザルPD-L1でトランスフェクトしたCHO-S細胞を、FACS緩衝液(PBS+1%w/v BSA+0.1%w/v アジ化ナトリウム)中で希釈し、ウェル当

たり 1×10^5 細胞の密度で 96 ウェル、V 字底プレート (Greiner) に分配した。133 nM 使用濃度から、FACS 緩衝液中の $1/3$ 希釈系列として抗体滴定を調製した。プレートを $300 \times g$ で 3 分間遠心分離し、上清を吸引した。1 ウェル当たり $50 \mu\text{L}$ の抗体滴定を細胞に添加し、 4°C で 1 時間インキュベートした。細胞を $150 \mu\text{L}$ の PBS で洗浄し、 $300 g$ で 3 分間遠心分離させた。上清を吸引し、1 ウェル当たり $150 \mu\text{L}$ の PBS を添加した。この洗浄ステップを繰り返した。FACS 緩衝液中で $1/500$ に希釈した、1 ウェル当たり $50 \mu\text{L}$ の抗ヒト IgG Alexa Fluor 647 (Jackson ImmunoResearch) の添加によって、結合した抗体の存在を検出した。細胞を 4°C で 1 時間、暗所でインキュベートした。細胞を前述のように洗浄した。細胞を固定するために、1 ウェル当たり $50 \mu\text{L}$ の $4\% v/v$ パラホルムアルデヒドを添加し、細胞を 4°C で 20 分間インキュベートし、細胞を $300 \times g$ で遠心分離させることによってペレット化し、プレートを $75 \mu\text{L}$ の PBS 中で再懸濁させた。Beckman Coulter CytoFLEX 器具を使用したフローサイトメトリーによって幾何平均を測定した。637 nm レーザを使用して Alexa Fluor 647 を励起させ、660/20 バンドパスフィルタによって Red チャネル中で検出した。データは、FlowJo ソフトウェアを使用して分析され、図 35 に示される。全ての抗体は、細胞上に発現されたカニクイザル PD-L1 に結合する。

10

【1225】

実施例 31: CHO 発現 hPD-L1 への結合、ならびに PD-1 および CD80 への hPD-L1 結合の中和

20

トランスフェクトされていない (WT と呼ばれる) か、または組換えヒト PD-L1 を発現する hPD-L1 でトランスフェクトされた CHO を、FACS 緩衝液 (PBS 1% BSA 0.1% アジ化ナトリウム) 中で希釈し、ウェル当たり 1×10^5 細胞の密度で 3 つの 96 ウェルの V 字底プレート (Greiner) に分配した。細胞を $150 \mu\text{L}$ の PBS で洗浄し、 $300 g$ で 3 分間遠心分離させる。上清を吸引し、 $150 \mu\text{L}$ の PBS を添加する。この洗浄ステップを繰り返す。

【1226】

プレート 1 (PD-L1 結合) に、150 nM 使用濃度から、FACS 緩衝液中の $1/3$ 希釈系列として、鉛抗体、参照抗体、または対照抗体滴定を調製した。FACS 緩衝液中で希釈した $50 \mu\text{L}$ の抗体を、洗浄した細胞に添加し、 4°C で 60 分間インキュベートする。 $150 \mu\text{L}$ の FACS 緩衝液を添加し、細胞を上記のように洗浄する。抗 PD-L1 抗体結合を検出するために、抗ヒト PE (Jackson ImmunoResearch) を FACS 緩衝液中で $1/500$ に希釈し、 $50 \mu\text{L}$ のこの混合物を細胞に添加する。細胞を 4°C で 60 分間インキュベートする。細胞を $150 \mu\text{L}$ の FACS 緩衝液で 2 回洗浄し、各洗浄ステップ後に $300 \times g$ で 3 分間遠心分離させて上清を吸引する。 $100 \mu\text{L}$ の 4% パラホルムアルデヒドの添加によって細胞を固定し、 4°C で 30 分間。細胞を上記のように 1 回洗浄し、分析のために $100 \mu\text{L}$ の FACS 緩衝液中で再懸濁させる。Beckman Coulter Cytoflex 器具を使用したフローサイトメトリーによって PE シグナル強度 (幾何平均) を測定する。さらなる計算を伴わずに幾何平均値としてデータをプロットする。

30

【1227】

プレート 2 (PD-1 中和) に、 $1 \mu\text{M}$ 最終アッセイ濃度 (FAC) の、FACS 緩衝液中の $1/2$ 希釈系列からの滴定としてビオチニル化ヒト PD-1-Fc (自家発現、配列番号 6) を調製した。 300 nM 使用濃度 (150 nM FAC) から、FACS 緩衝液中の $1/3$ 希釈系列として、鉛抗体、参照抗体、または対照抗体滴定を調製した。ビオチニル化 PD-1 を FACS 緩衝液中で 60 nM 使用濃度 (30 nM FAC) まで希釈した。 $25 \mu\text{L}$ の PD-1 および $25 \mu\text{L}$ の抗体溶液 (または $50 \mu\text{L}$ の PD1 滴定) を細胞に添加し、 4°C で 1 時間インキュベートした。製造業者の指示に従って Lightnig Link コンジュゲーションキット (Innova Biosciences) を使用して、ビオチニル化を自家で実施する。 $150 \mu\text{L}$ の FACS 緩衝液を添加し、細胞

40

50

を上記のように洗浄する。ビオチニル化PD-1を検出するために、ストレプトアビジン-Alexa Fluor 647 (AF647、Jackson ImmunoResearch)をFACS緩衝液中で1/500に希釈し、50 µLのこの混合物を細胞に添加する。細胞を4℃で60分間インキュベートする。細胞を150 µLのFACS緩衝液で2回洗浄し、各洗浄ステップ後に300×gで3分間遠心分離させて上清を吸引する。細胞を、上記のように分析のために固定、洗浄、および再懸濁させる。Beckman Coulter Cytometer FLEX器具を使用したフローサイトメトリーによってAPCシグナル強度（幾何平均）を測定する。データを、受容体結合のパーセンテージとしてプロットする。

【1228】

プレート3 (CD80中和)に、1 µM最終アッセイ濃度 (FAC) の、FACS緩衝液中の1/2希釈系列からの滴定としてビオチニル化ヒトCD80 (Fcタグ、R&D Systems、140-B1)を調製した。300 nM使用濃度 (150 nM FAC) から、FACS緩衝液中の1/3希釈系列として、鉛抗体、参照抗体、または対照抗体滴定を調製した。ビオチニル化CD80をFACS緩衝液中で60 nM使用濃度 (30 nM FAC) まで希釈した。25 µLのCD80および25 µLの抗体溶液 (または50 µLのCD80滴定)を細胞に添加し、4℃で1時間インキュベートした。全ての他のステップを、プレート2と同様に実施する。

【数11】

方程式11：受容体結合（フローサイトメトリー）のパーセンテージ
幾何平均蛍光に基づく

$$\text{特異的結合\%} = \frac{\text{試料値} - \text{非特異的結合}}{\text{全結合} - \text{非特異的結合}} \times 100$$

全結合=ビオチニル化PD-1またはCD80のみ (150 nM FACのハイブリッド対照)

非特異的結合=PD-L1結合なし (150 nM FACのベンチマーク2)

【1229】

結果は、図36および表21に示される。全ての鉛抗体は、PD-1およびCD80の両方とのPD-L1の相互作用を中和させる。

【表21】

表21：PD-L1とのPD-1およびCD80の相互作用の中和の要約

抗体名	PD-1 IC ₅₀ (nM)		CD80 IC ₅₀ (nM)	
	n = 1	n = 2	n = 1	n = 2
1D05	1.27	1.46	1.15	1.46
84G09	0.89	1.41	1.11	1.41
413G05	1.07	1.17	1.09	1.17
414B06	0.95	1.22	1.26	1.22
416E01	0.81	0.89	1.04	0.89
ベンチマーク2	1.36	1.46	1.27	1.46

【1230】

実施例 32：初代NK細胞ADCCアッセイにおける鉛抗体のエフェクター機能

ADCC（抗体依存性細胞傷害性）を介して標的細胞を発現するPD-L1を殺滅する抗体の活性を、ヒト初代NK細胞をエフェクターとして、およびES2をPD-L1⁺標的細胞として使用して、DELFIA細胞傷害性アッセイ（Perkin Elmer）によって測定する。

【1231】

この方法は、細胞膜を急速に貫通する蛍光増強リガンド（BATDA）のアセトキシメチルエステルを標的細胞に装填することに基づく。細胞内で、エステル結合は加水分解されて、親水性リガンド（TDA）を形成し、これはもはや膜を通過しない。細胞溶解後、リガンドは放出され、BATDAと共に高度蛍光で安定なキレート（EuTDA）を形成するユーロピウムの添加によって検出され得る。測定されたシグナルは、細胞溶解の程度と直接相関する。

【1232】

ES2細胞を 10^6 /mLでアッセイ培地（RPMI+10%超低IgG FBS、Gibco）中で再懸濁させ、 $5\mu\text{L}/\text{mL}$ のBATDA試薬（Perkin Elmer）を 37°C で30分間装填する。次いで、細胞を50mLのPBS（ $300\times g$ で5分）で3回洗浄し、2mMのプロベネシド（Life technologies）で補充したアッセイ培地中で 8×10^5 /mLで再懸濁させて、細胞からのBATDAの自然放出を低減させた。アッセイ培地中の最終再懸濁の直後のES2細胞からの上清をバックグラウンド対照として使用する。

【1233】

PD-L1抗体およびアイソタイプ対照の7つの連続3倍希釈を、アッセイ培地+2mMのプロベネシド中で、 $4\mu\text{g}/\text{mL}$ （ $4\times$ 最終濃度）から調製する。製造業者の指示に従ってHuman NK Cell Isolation Kit（Miltenyi Biotec）を使用して、NK細胞を新鮮なPBMCから負に単離し、アッセイ培地+2mMプロベネシド中に 4×10^6 /mLで再懸濁させる。50 μL の希釈したAb、50 μL のBATDA担持標的細胞、50 μL のNK細胞、および50 μL のアッセイ培地+2mMプロベネシド（200 μL /ウェルの最終体積）を各ウェルに添加して、5：1のエフェクター：標的比を得る。ES細胞のみ、またはES2細胞+DELFIA溶解緩衝液（Perkin Elmer）を含有するウェルを使用して、自然放出および最大放出をそれぞれ判定する。

【1234】

細胞を 37°C 、5% CO_2 で4時間インキュベートした後、プレートを $500\times g$ で5分間遠心分離させ、50 μL の細胞不含上清をDELFIA微量滴定プレート（Perkin Elmer）に移した。200 μL のDELFIAユーロピウム溶液（Perkin Elmer）を上清に添加し、室温で15分間インキュベートした。次いで、蛍光シグナルをEnVisionプレートリーダー（Perkin Elmer）で定量化した。

【1235】

バックグラウンド数を全ての実験数から減算した。特異的放出は、以下の方程式に従って計算する。

【数12】

方程式12：

$$\text{特異的放出\%} = \frac{(\text{実験放出} - \text{自然放出})}{(\text{最大放出} - \text{自然放出})} \times 100$$

【1236】

参照による組み込み

特許、特許出願、論文、テキストブック等を含む、本明細書に引用される全ての参考文献

献およびその中で引用される参考文献は、それらが既に組み込まれていない限り、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【1237】

等価物

前述の明細書は、当業者が本発明を実践するために十分であると考えられる。前述の説明および実施例は、本発明のある特定の好ましい実施形態を詳述する。しかしながら、本発明が、多くの方法で実践され得ることが理解され、本発明は、添付の特許請求の範囲およびその任意の等価物に従って解釈されるべきである。

【1238】

本明細書に記載される特定の構成、態様、実施例、節、および実施形態は、本発明の限定としてではなく、例示目的で示されることが理解される。別途文脈から明らかでない限り、本開示のいかなる部分も、本開示の任意の他の部分と組み合わせて読むことができる。

配列表

10

20

30

40

50

【表 2 3】

配列番号:	名称	説明	配列
1	ヒトPD-L1	NCBI番号: NP_054862.1 (ECDが太字で強調され、細胞質ドメインに下線が引かれている)	MRIFAFIFMTYWHLLNAFTVTVPKDLVYVEYGSNMTECKFPVEKQLDLAA LIVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQARLLKDQLSLGNAALQI TDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRIILVDPVTSE HELTQCAEGYPKAEVIVTSSDHQVLSGKTTTNSKREEKLFNVTSTLRIN TTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVPELPLAHPNERTHLVILGAILCLGVA LTFELRLKGRMDVKKGQDINTNSKKQSDIHLEET
2	カニクイザルPD-L1	NCBI番号: XP_014973154.1 (ECDが太字で強調されている)	MGWSCILFLVATATGVHSMFTVTVPKDLVYVEYGSNMTECKFPVEKQLDL TSLVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQARLLKDQLSLGNAAL RITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRIILVDPVT SEHELTQCAEGYPKAEVIVTSSDHQVLSGKTTTNSKREEKLFNVTSTLR INTTANEIFYCFRRRLDPEENHTAELVPELPLAHPNERT
3	ヒトPD-L1 His	C末端Hisタグを有するPD-L1 ECD	MRIFAFIFMTYWHLLNAFTVTVPKDLVYVEYGSNMTECKFPVEKQLDLAAIYVW EMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYR CMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRIILVDPVTSEHELTQCAEGYPKAEVIVTSS DHQVLSGKTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVPE LPLAHPNERTHHHHH
4	ヒトPD-L1 Fc	C末端Fc融合 (太字) を有するヒト PD-L1 ECD	MRIFAFIFMTYWHLLNAFTVTVPKDLVYVEYGSNMTECKFPVEKQLDLAAIYVW EMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYR CMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRIILVDPVTSEHELTQCAEGYPKAEVIVTSS DHQVLSGKTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVPE LPLAHPNERTIEGREPKSCDKTHICPPCAPPELLGGPSVFLFPPPKQDTLM ISRTPETCVWDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VYSYLTVLHODWNLNGKETCKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPOVYTI LPPSRDELTKNOYSLICLVKGFYSPDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLD SDGSFELYSKLTVDKSRWQOGNVEFSCSYMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
5	カニクイザルPD-L1 FLAG	N末端FLAGタグを有するカニクイ ザルPD-L1 ECD	MGWSCILFLVATATGVHSMFTVTVPKDLVYVEYGSNMTECKFPVEKQLDLTSLIV YWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQARLLKDQLSLGNAALRITDVKLQDAG VYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRIILVDPVTSEHELTQCAEGYPKAEVI WTSSDHQVLSGKTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTANEIFYCFRRRLDPEENHTAE LVPELPLAHPNERTDYKDDDDK

10

20

30

40

50

【表 2 4】

6	ヒトPD-L1Fc	ヒトFc融合としてcDNAに由来するヒトPD-1全長配列	MGWSCILFLVATATG/HSLDSPDRWNPPTSPALLVVTGEDNATFTCSFNTSE SFVLNWRMSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDCRRVTLQPNGRDFHMSVRARR NDSGTYLCAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPHTAHPSPSPRPAQKLENLY FOGIEGRMDPEKSCDKHTHTCPPELPGPSYFLFPKPKDTLMISRI PEVICVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKPREEOYNSTYRVVS VLTVLHODWLNGLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNOVSLTCLVKGYFSPDIAVEWESNGOPENNYKTIPTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWOOGNYFSCSYMHEALHNHYTOKSLSLSP GFTDDYA
7	84G09-CDRH1 (IMGT)	IMGTを使用した84G09のCDRH1のアミノ酸配列	ISWKSNI
8	84G09-CDRH2 (IMGT)	IMGTを使用した84G09のCDRH2のアミノ酸配列	ARDITSGSGYGFDP
9	84G09-CDRH3 (IMGT)	IMGTを使用した84G09のCDRH3のアミノ酸配列	DYAMH
10	84G09-CDRH1 (Kabat)	Kabatを使用した84G09のCDRH1のアミノ酸配列	GISWKSNIIGYADSVKG
11	84G09-CDRH2 (Kabat)	Kabatを使用した84G09のCDRH2のアミノ酸配列	DITSGSGYGFDP
12	84G09-CDRH3 (Kabat)	Kabatを使用した84G09のCDRH3のアミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGRSRLRSCAASGFTFDDYAMHWVRQTPGKGLWVSGISWK SNIIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDITGSGSYGWFD PWGQGLTLTVSS
13	84G09-重鎖可変領域	84G09のVHのアミノ酸配列 (生殖細胞系からの変異は太字で示される)	CAAGAAAGCTTCCGCCACCATGGAGTTTGGCTGAGCTGGATTTCTTTT GGCTATTTAAAGGTGTCCAGTGTGAAGTACAAATGGTGGAGTCCGGGGGAG GCTTGACAGCTGGCAGTCCCTGAGACTCTCTGTCAGCCTCTGGATTCA CCTTGATGATTATGCCATGCACTGGTCCGACAACTCCAGGGAAGGCTGG AGTGGTCTCAGGTATAAGTTGGAAGAGTAAATATCATAGGCTATGCGGACTCTG TGAAGGCCGATTACCATCTCCAGAGACACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGC AAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCTTGTATTATTGTCAAGAGATA TAACGGTTCGGGGAGTTATGGCTGTTGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTTG GTACCGTCTCTCAGCAAAACGACACCCCATCTGCTATCACTGGCCCTG AATCTGCTAAACTCAGCTCCG
14	84G09-重鎖可変領域	84G09のVHの核酸配列	EVQLVESGGGLVQPGRSRLRSCAASGFTFDDYAMHWVRQTPGKGLWVSGISWK SNIIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDITGSGSYGWFD PWGQGLTLTVSS
15	84G09-完全重鎖配列	84G09重鎖のアミノ酸配列 (生殖細胞系からの変異は太字で示される)	EVQLVESGGGLVQPGRSRLRSCAASGFTFDDYAMHWVRQTPGKGLWVSGISWK SNIIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDITGSGSYGWFD PWGQGLTLTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSG

10

20

30

40

50

【表 2 5】

			ALTSVHTPAVLQSSGLYSLSSWTVPPSSSLGKTKYTCNVDHFKPSNTKYDKRVESK YGPCCPCPAPEFEGSPVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSDQEDPEVQFNW YVDGEVHNAKTKPREEQNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTTISKAGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSMHEALHNHYTQKSLSL GK
16	84G09-完全重鎖配列	84G09重鎖の核酸配列	GAAGTGACGCTGGTGGAACTCTGGCGCGGACTGGTGCAGCCTGGCAGATCCCT GAGACTGCTTGTGCCGCTCCGCTTCACTTCCAGACTACGCTATGCACTG GGTGGACAGACCCCTGGGAAGGCTGGAATGGGTGTCGGCATCTCCTGGA AGTCCAAATCATCGGCTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGTTCCACCATCTCCC GGGACAAAGCAAGAACTCCCTGTACCTGAGATGAACAGCTGGGGCCGAGG ACACGCCCTGTACTACTGCGCCAGAGACATACCGGCTCCGCTCCTACGGAT GGTTCGATCCTTGGGGCAGGACCCCTCGTGACCGTGTCTCTGCCAGCACCA AGGGCCCTCTGTGTCCCTCTGGCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGAA CAGCGCTCTGGGCTGCTGTGAAGGACTACTTCCCGAGCCTGTGACCGTGT CCTGAACTCTGGGCTCTGACAGCGGAGTGACACCTTCCCTGCTGTCTGCTGC AGTCTCCGGCTGTACTCCTCTGCTCGTGACCGTGTCTCCAGCTCTCT GGGACCCAGACTACATCTGCAAGTGAAACCAAGCCCTCCAAACCAAGGT GGACAAGAAGTGAACCAAGTCTCTGCGACAAAGACCCACACCTGTCCCTTG TCTGCCCCCTGAACCTGCTGGGCGGACTTCCGTGTCTCTTCCCCCAAGCC CAAGACACCTGTATGATCTCCGGACCCCGAAGTGACCTGGTGGTGGGA TGTGTCACGAGGACCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGAGCGGCTGGA AGTGCAACACGCCAAGACCAAGCTAGAGAGGAACAGTACACTCCACTACCG GGTGGTCCGTGCTGACCTGTGACACAGGATTGGCTGAACGGCAAGAGAT ACAAGTGCAAGGTGTCCAAAGGCCCTGCTGCCCTCCCAACGAAAGACCATCT CAAAGCCAAAGGCCAGCCCGGGAACCCAGGTGTACACTGCCCTCTAGCA GGGACGAGCTGACCAAGAACAGGTGTCCTGACCTGTCTCGTGAAGGCTTCT ACCCCTCCGATATCGCGTGAATGGAGTCCACGGCCAGCTGAGAACAACT ACAAGACCAACCCCTGTGCTGAGTCCGAGCGGCTATTCTTCTGTACAGCAA GCTGACAGTGGACAAGTCCCGTGGCAGCAGGGCAACGTGTCTCTGCTCCGT GATGCAAGAGGCCCTTGCAACACCACTACACCCAGAAAGTCCCTGTCCCTGAGCCC CGGCAAG
17	84G09-CDRL1 (IMGT)	IMGTを使用した84G09のCD RL1のアミノ酸配列	QSISSY
18	84G09-CDRL2 (IMGT)	IMGTを使用した84G09のCD RL2のアミノ酸配列	VAS

10

20

30

40

50

【表 2 6】

19	84G09 - CDR13 (IMGT)	IMGTを使用した84G09のCD R1.3のアミノ酸配列	QQSYSNPIT	
20	84G09 - CDR11 (Kabat)	Kabatを使用した84G09のC DR1.1のアミノ酸配列	RASQSISSYLN	
21	84G09 - CDR12 (Kabat)	Kabatを使用した84G09のC DR1.2のアミノ酸配列	VASSLQS	
22	84G09 - CDR13 (Kabat)	Kabatを使用した84G09のC DR1.3のアミノ酸配列	QQSYSNPIT	
23	84G09 - 軽鎖可変領域	84G09のV _L のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKPLIYVASSLQS GVPSSFSGSGGDFLTLSLQPEDFATYQQSYSNPITFGQGRLEIK	
24	84G09 - 軽鎖可変領域	84G09のV _L の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCCTGCTGCATCTGTAGGAGACAGA GTCACCATCACTTCCCGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTAT CAGCAGAAACAGGAAAGCCCTAAGCCCTGATCTATGTTGCATCCAGTTTG CAAGTGGGTCCATCAAGTTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGACAGATTTCAC CTCACCATCAGCAGTCTGCAACTGGAAGTTTGAACCTTACTACTGTCAACAGA GTTACAGTAA TCCGATCACTTCGGCAAGGACACGACTGGAGATCAAA	
25	84G09 - 完全重鎖軽鎖	84G09 軽鎖のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKPLIYVASSLQS GVPSSFSGSGGDFLTLSLQPEDFATYQQSYSNPITFGQGTRLEIKRTVAAP SVTFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSLTLSKADYEHKHYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
26	84G09 - 完全重鎖軽鎖	84G09 軽鎖の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCCTGCTGCATCTGTAGGAGACAGA GTCACCATCACTTCCCGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTAT CAGCAGAAACAGGAAAGCCCTAAGCCCTGATCTATGTTGCATCCAGTTTG CAAGTGGGTCCATCAAGTTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGACAGATTTCAC CTCACCATCAGCAGTCTGCAACTGGAAGTTTGAACCTTACTACTGTCAACAGA GTTACAGTAA TCCGATCACTTCGGCAAGGACACGACTGGAGATCAACGTA CGGTGGCCGCTCCCTCGTGTTCATCTTCCACCTTCGACGAGCAGCTGAAGT CCGGCACCGCTTCTGTCGTGTCCTGCTGAACAACTTCTACCCCGGAGGCCA AGGTGTCAGTGGAGGTGGACAAACGCTTCAGTCCGCAACTCCAGGAATCCG TGACCGAGCAGGACTCAAGGACAGCACTACTCCTGCTCTCCACCTGACCC TGTCCAAGGCCGACTACGAGAAACAAAGGTGTACGCTCGGAAGTGACCCACC AGGGCCTGTCTAGCCCGCTGACCAAGTCTTTCAACCGGGCGAGTGT	
27	1D05 - CDRH1 (IMGT)	IMGTを使用した1D05のCDR H1のアミノ酸配列	GTFFDDYA	
28	1D05 - CDRH2 (IMGT)	IMGTを使用した1D05のCDR H2のアミノ酸配列	ISWIRGTI	

10

20

30

40

50

【表 27】

29	1D05 - CDRH3 (IMGT)	1D05のアミノ酸配列	IMGTを使用した1D05のCDR H3のアミノ酸配列	AKDMKSGTGYGGWFDT
30	1D05 - CDRH1 (Kabat)	1D05のアミノ酸配列	Kabatを使用した1D05のCD RH1のアミノ酸配列	DYAMH
31	1D05 - CDRH2 (Kabat)	1D05のアミノ酸配列	Kabatを使用した1D05のCD RH2のアミノ酸配列	GISWRTGIGYADSVKGG
32	1D05 - CDRH3 (Kabat)	1D05のアミノ酸配列	Kabatを使用した1D05のCD RH3のアミノ酸配列	DMKSGTGYGGWFDT
33	1D05 - 重鎖可変領域	1D05のVHのヌクレオチド配列 (生殖細胞系からの変異は太字で示される)	1D05のVHのヌクレオチド配列 (生殖細胞系からの変異は太字で示される)	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRLSCAASGFTDDYAMHWVRQVPGKGLWVSGISWI RTGIGYADSVKGRFTIFRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDMKSGSTYGG WFDTWGGGTLTVSS
34	1D05 - 重鎖可変領域	1D05のVHのヌクレオチド配列	1D05のVHのヌクレオチド配列	AAGCTTGCAGGACCATGGAGTTGGGCTGAGCTGGATTTCTTTTGGCTATT TTAAAGGTGTCCAGTGTGAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGT GCAGCTGGCAGGTCCTGAGACTCTCTGTCAGCTCTGGATTACCTTTGA TGATTAGCATGACTGGTCCGCAAGTTCAGGGAAGGCTTGAATGGG TCTCAGGCATTAGTTGGATTCTGACTGGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGG GCCGATTACCAATTTTCAGAGACAAGCCAAAGATTCCTGTATCTGCAATGAA CAGCTGAGAGCTGAGGACAGGCTTGTATTACTGTGCAAAAGATATGAAGGG TTGGGGACTTATGGGGGTGGTTCGACACTGGGGCCAGGAACCTGGTCA CGCTCTCTCAGCCAAACAACAGCCCATCGGTCTATCCACTGGGCCCTGC
35	1D05 - 完全重鎖配列	1D05重鎖のアミノ酸配列	1D05重鎖のアミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRLSCAASGFTDDYAMHWVRQVPGKGLWVSGISWI RTGIGYADSVKGRFTIFRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDMKSGTGYGGW FDTWGGGTLTVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAAALGCLVKDYFPEPTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWTPVSSSLGTTKTYTCNVDHPSNTKDKRV ESKYGPPCPAPEFEGGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDSQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSIVLHQQDWLNGKEYCKVSNKGLP SSIEKTTSAKAGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGRVFCFSV/MHEALHNHYTQKS LSLSLGK
36	1D05 - 完全重鎖配列	1D05重鎖のヌクレオチド配列	1D05重鎖のヌクレオチド配列	GAAAGTGAGCTGGTGAATCTGGCGGGGACTGGTGCAGCTTGGCAGATCCCT GAGACTGTCTTGTCGGCTCGGCTTCACTTCAGGACTACGCTATGCACCTG GGTGCAGAGTGCCAGGCAAGGCTCGAATGGGTGTCGGGCACTCTCTTGA TCCGACCGGCTCGGCTACCGGCTCTGTAAGGGCCGCTTCACTATCTCC GGGACACGCCCAAGAACTCCTGTACTGTGAGATGAACAGCTCGGGCCGAGG ACACCGCTCTACTACTGGGCCAAGGACATGAAGGGCTCGGGCACCTACGGCG GATGGTTCGATACTTGGGGCCAGGGCACCTCGTGACCGTGTCTCTGCGCAGCA

10

20

30

40

50

【表 28】

37	1D05 - CDRL1 (IMGT)	IMGTを使用した1D05のCDR L1のアミノ酸配列	CCAAGGGCCCTCTGTGTTCCCTCTGGCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCG GAACAGCCCTCTGGGCTGCTCGTGAAGGACTACTTCCCGAGCGTGTGACCG TGCTCTGGAATCTGGCGCTTGACGAGGAGTGACACCTTCCCTGCTGTGC TGAGTCTCGGCTGTACTCCGTGTCCTGTCCTGACCGTCCCTTCCAGCT CTCTGGGACCCAGACTTACATCTGCAAGTGAACCAAGCCCTCCAAACCAA GGTGACAAGAGGTGAACCAAGTCTCGGACAAGACCAACCTGTCCCCC TTGTCTGCCCTGAAGTCTGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTCCGCCAAA GCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGACCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCT GGATGTCTCCAGGAGGACCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCT GGAAGTGACAAGCCAGACCAAGCTTAGAGAGGAACATCACTCCACCTA CCGGTGTGTCGTGACCGTGTGCAAGGCTGCTGCAAGGTTGGCTGAACGGCAAG AGTCAAGTGCAAGGTGTCAACAAAGGCTGCTGCAAGGTTGGCTGAACGGCAAG TCTCAAGGCCAAGGCGGAGCCCGGGAACCCAGGTGTACACACTGCCCTTA GCAGGACGAGTGAACCAAGAGTGTCTGCAAGTGTCTGCAAGGCTGTGAAAGGT TCTACCCCTCCGATATGCGGTGAAATGGGAGTCCAAAGGCGGCTGAGAAC ACTACAAGACCAACCCCTGCTGCTGAGTCCGAGGCTCACTTCTCTGTACAG CAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGTGGGAGGAGGCAAGTGTCTCTGCTC CGTGTGACGAGGCTGCAACCAACTACACCCAGAGTCCCTGTCTCTGCTGAG CCCCGGCAAG
38	1D05 - CDRL2 (IMGT)	IMGTを使用した1D05のCDR L2のアミノ酸配列	QSISSY
39	1D05 - CDRL3 (IMGT)	IMGTを使用した1D05のCDR L3のアミノ酸配列	VAS
40	1D05 - CDRL1 (Kabat)	IMGTを使用した1D05のCDR L3のアミノ酸配列 Kabatを使用した1D05のCD RL1のアミノ酸配列	QQSYSTPIT
41	1D05 - CDRL2 (Kabat)	Kabatを使用した1D05のCD RL2のアミノ酸配列	RASQSISSYLN
42	1D05 - CDRL3 (Kabat)	Kabatを使用した1D05のCD RL3のアミノ酸配列	VASSLQS
43	1D05 - 軽鎖可変領域	1D05のVLのアミノ酸配列 (生細胞 系からの変異は太字で示される)	QQSYSTPIT
44	1D05 - 軽鎖可変領域	1D05のVLの核酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLYVASSLQS GPSRFSGSGGTDFLTISSLQPEDFATYCCQSYSTPITTFGQGRLEIK AAAGCTGCCGCCACCATGAGGCTCCCTGCTCAGCTTCTGGGGCTCCTGCTACT CTGGCTCCGAGGTGCCAGATGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCT

10

20

30

40

50

【表 2 9】

			GTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTACCATCACTTGGCGGGGAAAGTACAGAGCAT TAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGCAGAAACAGGAAAGCCCTAACTCCT GATCTATGTCATCCAGTTGCAAGTGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAG TGGATCTGGGACAGATTCACTCTCACTATCAGCAGTCTGCAACTGAAGATTTT GCAACTTACTACTGTCACAGAGTTACAGTACCCGATCACCTTCGGCCCAAGGG ACAGTCTGGAGTAAAGTACGATCTGCTGACCAACT
45	1 D 0 5 ー完全重鎖軽鎖	1 D 0 5 軽鎖のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSLASVGRVITTTCSQSISYLNWYQKPKAPKLLIYVASSLQS GVPSRFGSGSGTDFLTISLLQPFDAFYCQSYSTPTTFGQGTREIKRTVAAP SVFPPSPDEQLSGTASWCLNLFYPREAKQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSTLTLSKADYEHKHYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
46	1 D 0 5 ー完全重鎖軽鎖	1 D 0 5 軽鎖の核酸配列 —————	GACATCCAGATGACCCAGTCCCTCCAGCTGTCTGCTCCGTGGGGGACAGA GTGACCATCACCTGTCGGGCTCCAGTCCATCTCTCTACCTGAAGTGGTATC AGCAGAAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGTGGCCAGCTCTCTGC AGTCCGGGTGCTCTAGATCTCGGCTCTGGCTCTGGCACCAGCTTACCC TGACCATCAGCTCCCTCGAGCCGAGGACTTCCGACCTACTACTGCCAGCAGT CCTACTCACCCCTATCACCTTCGGCCAGGACCCGCTGGAATCAACGTA CGTGGCGCTCCCTCGTGTCTATCTCCACCTTCGACGAGCAGCTGAAGT CCGGACCGCTTCTGTCGTGTGCTGCTGAACAATCTACCCCGCGAGGCCA AGTGCAGTGAAGTGGACAGCCCTCGAGTCGGCAACTCCAGGAATCCG TGACCGAGCAGGACTCAAGGACGACCTACTCCTGCTCTCCACCTGACCC TGTCAGGCGGCACTACGAGAGCACAAAGGTAGGCTCGGAAGTACCCACC AGGCTCTGCTAGCCCTGACCAAGTCTTCAACCGGGCGAGTGT
47	変異 1 D 0 5 ーH C 変異体 1	1 g G 1 欠損 (L A G A) 定常領域で 強調された生殖細胞系への、フレーム ワーク領域における V から A の復帰変 異を有する 1 D 0 5 重鎖のアミノ酸配 列	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGISWI RTGIGYADSVKGRFTIFRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDMKSGTYYGGW FDTWGQGLTVTVSSASTKGPSVFAPLPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTITKTYTCNVDPKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAP ~~ELAG~~ PSVFLPPPKD ~~TL~~ MISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQF NWWVDGVEVHNAKTPREEQFNSTYRWVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTSKAGQPREEQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKS LSLSLGK
48	変異 1 D 0 5 ーH C 変異体 2	1 g G 1 欠損 (L A G A) 定常領域で 強調された生殖細胞系への、フレーム ワーク領域における F から S の復帰変 異を有する 1 D 0 5 重鎖のアミノ酸配 列	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSGISWI RTGIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDMKSGTYYGGW FDTWGQGLTVTVSSASTKGPSVFAPLPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTITKTYTCNVDPKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAP ~~ELAG~~ PSVFLPPPKD ~~TL~~ MISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQF NWWVDGVEVHNAKTPREEQFNSTYRWVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP

10

20

30

40

50

49	変異 1 D 0 5 - H C 変異体 3	強調された生殖細胞系への、定常領域における E L L G から P V A の復帰変異を有する 1 D 0 5 重鎖のアミノ酸配列	SSIEKTSKAGQPREQVWTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKS LSLSLGK
50	変異 1 D 0 5 - L C 変異体 1	強調された生殖細胞系への、CDRL 2におけるVからAの復帰変異を有す る 1 D 0 5 カッパ軽鎖のアミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRLSCAASGFTDDYAMHWVRQVPGKGLEWVSGISWI RTGIGYADSVKGRFTIFRDNAKNSLYLQMNSLAEDTALYYCAKDMKSGSYGGW FDTWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLPACSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVTSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWTPVPSSSLGKTITCNVDHSPNTKVDKRV ESKYGPPCPAP- PVAGPSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVFQNWVDGVEVHNAK TKPREEFNSTYRVSVTLVHLDWLNKGYCKVSNKGLPSSIEKTTISKAGQQR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGK
51	変異 1 D 0 5 - L C 変異体 2	強調された生殖細胞系への、フレーム ワークにおけるLからFの復帰変異を 有する 1 D 0 5 カッパ軽鎖のアミノ酸 配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSSISYLNWYQKPKAPKLLIYAASSLQS GVPFRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYCCQSYSTPITFGQGTREIKRTVAAP SVFIFFPSDEQLKSGTASVCLLNINFPYREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
52	411B08 - CDRH1 (IMGT)	IMGTを使用した 4 1 1 B 0 8 の C DRH1 のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSSISYLNWYQKPKAPKLLIYAASSLQS GVPFRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYCCQSYSTPITFGQGTREIKRTVAAP SVFIFFPSDEQLKSGTASVCLLNINFPYREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
53	411B08 - CDRH2 (IMGT)	IMGTを使用した 4 1 1 B 0 8 の C DRH2 のアミノ酸配列	GFTSSYW
54	411B08 - CDRH3 (IMGT)	IMGTを使用した 4 1 1 B 0 8 の C DRH3 のアミノ酸配列	IKEDGSEK
55	411B08 - CDRH1 (Kabat)	Kabatを使用した 4 1 1 B 0 8 の CDRH1 のアミノ酸配列	ARNRLYSDFLDN
56	411B08 - CDRH2 (Kabat)	Kabatを使用した 4 1 1 B 0 8 の CDRH2 のアミノ酸配列	SYWMS
57	411B08 - CDRH3 (Kabat)	Kabatを使用した 4 1 1 B 0 8 の CDRH3 のアミノ酸配列	NIKEDGSEKYVDSVKG
58	4 1 1 B 0 8 - 重鎖可変領 域	4 1 1 B 0 8 の V _H のアミノ酸配列	NRLYSDFLDN
			EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYWMVSRQAPGKGLIEWANIKED GSEKYVDSVKGGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLAEDTSSVYCARNRLYSDFLDNW GGGLTVTS

10

20

30

40

50

【表 3 1】

[illegible]

【表 3 2】

				TATCGCGTGGATGGAGTCCACGGCCAGCTGAGAACAACTACAAGACCAC CCCCCTGTCTGGACTCCGACGGCTCATTTCTCTGTACAGCAAGTACAGT GGACAAGTCCCGTGGCAGGCAAGGTGTTCTCTGCTCGTATGCACGA GGCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTGAGCCCGGCAAG
62	411B08 - CDRL1 (IMGT)		IMGTを使用した411B08のC DRL1のアミノ酸配列	QGVSSW
63	411B08 - CDRL2 (IMGT)		IMGTを使用した411B08のC DRL2のアミノ酸配列	GAS
64	411B08 - CDRL3 (IMGT)		IMGTを使用した411B08のC DRL3のアミノ酸配列	QQANSIPFT
65	411B08 - CDRL1 (Kabat)		Kabatを使用した411B08の CDRL1のアミノ酸配列	RASQGVSSWLA
66	411B08 - CDRL2 (Kabat)		Kabatを使用した411B08の CDRL2のアミノ酸配列	GASSLQS
67	411B08 - CDRL3 (Kabat)		Kabatを使用した411B08の CDRL3のアミノ酸配列	QQANSIPFT
68	411B08 - 軽鎖可変領域		411B08のV _L のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITTCRASQGVSSWLAWYQQKSGKAPKLLYGASSLQ SGVPSRFSGSGTEFILTSSLPEDFATYCCQANSIPFTFGPKVDIK
69	411B08 - 軽鎖可変領域		411B08のV _L の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCGTGCTGCATCTGTCGGAGACAGA GTACCATCACTGTCTGGGGAGTCAGGTGTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTAT CAGCAGAAATCAGGAAAGCCCTAAGCTCTGATCTATGGTGCAATCCAGTTTG CAAGTGGGTCCATCAAGATTCAGCGGAGTGGATCTGGGACAGAGTTCAIT CTACCATCAGCAGCCTGAGCTGAAGATTTTGAACCTTACTATTGTCAACAGG CTAACAGTATCCATTCCTCTTGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAAC
70	411B08 - 完全軽鎖配列		411B08軽鎖のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITTCRASQGVSSWLAWYQQKSGKAPKLLYGASSLQ SGVPSRFSGSGTEFILTSSLPEDFATYCCQANSIPFTFGPKVDIKRTVAAP SVFIPTDEQLKSGTASWCLLNFPYPAKVKQWVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHOGLSPVTKSFNRGEC
71	411B08 - 完全軽鎖配列		411B08軽鎖の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCGTGCTGCATCTGTCGGAGACAGA GTACCATCACTGTCTGGGGAGTCAGGTGTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTAT CAGCAGAAATCAGGAAAGCCCTAAGCTCTGATCTATGGTGCAATCCAGTTTG CAAGTGGGTCCATCAAGATTCAGCGGAGTGGATCTGGGACAGAGTTCAIT CTACCATCAGCAGCCTGAGCTGAAGATTTTGAACCTTACTATTGTCAACAGG CTAACAGTATCCATTCCTCTTGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAACAGTAC GGTGGCGCTCCTCGTGTCTTCCACCTTCGACCTTCGAGAGAGCTGAAGTC CGGCACCGCTTCTGCTGTGCTGCTGAACAACTTCTACCCCGCGAGGCCAA

10

20

30

40

50

【表 33】

				GGTGCAGTGAAGGTGGACAGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCGT GACCGAGCAGGACTCCAAGCAGCAGCACTACTCCTCTCCACCTGACCCCT GTCCAAGGCCGACTACGAGAAAGCACAAGGTAGGCTGCGGAAGTACCCACA GGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGGGGGGAGTGT
72	411C04 - CDRH1 (IMGT)	IMGTを使用した411C04のC DRH1のアミノ酸配列		GFTFSYW
73	411C04 - CDRH2 (IMGT)	IMGTを使用した411C04のC DRH2のアミノ酸配列		IKEDGSEK
74	411C04 - CDRH3 (IMGT)	IMGTを使用した411C04のC DRH3のアミノ酸配列		ARVRLYSDFLDY
75	411C04 - CDRH1 (Kabat)	Kabatを使用した411C04の CDRH1のアミノ酸配列		SYWMS
76	411C04 - CDRH2 (Kabat)	Kabatを使用した411C04の CDRH2のアミノ酸配列		NIKEDGSEKYVDSLKG
77	411C04 - CDRH3 (Kabat)	Kabatを使用した411C04の CDRH3のアミノ酸配列		VRLYSDFLDY
78	411C04 - 重鎖可変領 域	411C04のV _H のアミノ酸配列		EVQLVDSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYVMSWVRQAPGKGLEWVNIKED GSEKYVDSLKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTSVYCARVRLYSDFLDYWG QGTLVTVSS
79	411C04 - 重鎖可変領 域	411C04のV _H の核酸配列		GAGGTGAGCTGGTGGACTCTGGGGGAGGCTTGTCAGCCTGGGGGGTCCCT GAGACTCTCCTGTGAGCCTCTGGATTACGTTTAGTCTTAGTCTATTGGATGAGTTG GGTCCGCGAGGCTCCAGGAAAGGGGTGGAGTGGTGGCCAACTAAAGAAAG ATGGAAGTGAGAAATCTATGTAGACTCTTTGAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACACGCCCAAGAACTCCTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGTCTGTATTACTGTGCGAGAGTTCGACTCTACAGTGACTCTCTTGACTA CTGGGCCAGGGAACCTGGTCAACCTCTCTCTCAG
80	411C04 - 完全重鎖配 列	411C04重鎖のアミノ酸配列		EVQLVDSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYVMSWVRQAPGKGLEWVNIKED GSEKYVDSLKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTSVYCARVRLYSDFLDYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFLPAPSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHCTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVWSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGPYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNFSVMSHHEALTHHNYTKQSLSL SGK

10

20

30

40

50

【表 3 4】

81	411C04 - 完全重鎖配列	411C04重鎖の核酸配列	GAGGTGAGTGGTGGACTCTGGGGAGGCTTGGTCCAGCTGGGGGGTCCCT GAGACTCTCTGTGAGCCTCTGGATTACGTTTAGTACTATTGGATGAGTTG GGTCGCCAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGGTGGCCCAATAAAGAAG ATGGAAGTGAGAAATATGTAGACTTTGAAGGGCCGATTCACATCTCCA GAGACAAGCCCAAGAACTCACTGATCTGCAATGAACGCTGAGAGCCGAGG ACACGTCTGTGATTACTGTGGAGAGTTCGACTACAGTACTTCTTGACTA CTGGGGCCAGGGAACTTGGTACCGTCTCTCAGCAGCAAGGGCCCTC TGTGTTCCCTCTGGCCCTTCAGCAAGTCCACTCTGGGGGAACGCCGCTCT GGGCTGCCTGTGAAGGACTACTTCCCGAGCCTGTGACCGTGTCTTGAACCTC TGGCGCTCTGACCAGGGAGTGCAACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGTCTCCGG CCTGACTCCCTGCTCCTGGTGGTGGTGGTCTTCCAGTCTCTTGGGACCCA GACTACATCTGCAACGTGAACCAAGCCCTCAACACCAAGGTGGACAAGAA GGTGAACCCCAAGTCTCGCAAGACCCACCTGTCCCTTGTCTTGCCTCC TGAACGTGGGGGACCTTCGTGTTCTGTTCCTCCCGGCAAGCCCAAGGAC CCTGATGATCTCCGGACCCCGAAGTACCTGCGTGGTGGTGGATGTGCCA CGAGGACCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGACGGCGTGGAAAGTGCAAA CGCAAGACCAAGCTTAGAGAGGAACAGTACAACCTACCCGCTGGTGTGTC CGTGTGACCGTGTGACAGGATGGCTGACGGCAAGCAAGACATCTCAAGGCCAA GGTGTCAACAGGCCCTGCTGCCCACTGAAAGACATCTCAAGGCCAA GGCCAGCCCGGGAACCCAGGTGTACACTGCCCCCTAGAGGGGACGAGCT GACCAAGAACCAGGTGTCCTGACCTGTCTGTAAGGCTTCTACCCCTCCGA TATCGCGTGGAAATGGGAGTCCACGGCCAGCCTGAGAACTACAGACAC CCCCCTGTGCTGAGTCCGAGGGCTATTCTCTGTACAGCAAGCTGACAGT GGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAAGCTTCTCTCTGCTCGGTGATGCAAG GGCCCTGCAACCACTACACCCAGAAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCGGCAAG
82	411C04 - CDRL1 (IMGT)	IMGTを使用した411C04のCDRL1のアミノ酸配列	QGVSSW
83	411C04 - CDRL2 (IMGT)	IMGTを使用した411C04のCDRL2のアミノ酸配列	GAS
84	411C04 - CDRL3 (IMGT)	IMGTを使用した411C04のCDRL3のアミノ酸配列	QQANSIPFT
85	411C04 - CDRL1 (Kabat)	Kabatを使用した411C04のCDRL1のアミノ酸配列	RASQGVSSWLA
86	411C04 - CDRL2 (Kabat)	Kabatを使用した411C04のCDRL2のアミノ酸配列	GASSLQS
87	411C04 - CDRL3 (Kabat)	Kabatを使用した411C04のCDRL3のアミノ酸配列	QQANSIPFT

10

20

30

40

50

【表 3 5】

88	411C04-軽鎖可変領域	411C04のV _L のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGRVTITCRASQGVSSWLAWYQQKSGKAPKLLYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFLISLSQLPEDFATYYCQANSIPFTFGPTKV/DIK
89	411C04-軽鎖可変領域	411C04のV _L の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCGGTGTCTGCATCTGTCGGAGACAGAGTACCATCACTGTGGGGAGTCAAGGTGTAGCAGTTGGTTAGCCTGGTATCAGCAAAATCAGGAAAGCCCTAAGCTCTCTGATCTATGGTCCCTCAGTTTGCAAAGTGGGTCCCATCAAGATTCAGCGGAGTGGATCTGGGACAGAGTTCAITCTCAGCATCAGCAGCCTGCAAGATTTTGGCAACTTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTATCCCATTCACCTTTGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAC
90	411C04-完全軽鎖配列	411C04 軽鎖のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGRVTITCRASQGVSSWLAWYQQKSGKAPKLLYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFLISLSQLPEDFATYYCQANSIPFTFGPTKV/DIKRTVAAPSVFIFFPDEQLKSGTASWCLLNFFPREAKVQWV/DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
91	411C04-完全軽鎖配列	411C04 軽鎖の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCGGTGTCTGCATCTGTCGGAGACAGAGTACCATCACTGTGGGGAGTCAAGGTGTAGCAGTTGGTTAGCCTGGTATCAGCAAAATCAGGAAAGCCCTAAGCTCTCTGATCTATGGTCCCTCAGTTTGCAAAGTGGGTCCCATCAAGATTCAGCGGAGTGGATCTGGGACAGAGTTCAITCTCAGCATCAGCAGCCTGCAAGATTTTGGCAACTTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTATCCCATTCACCTTTGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAACGCTACGGTGGCGCTCCCTCGGTCTTCATCTCCACCTTCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTCTGTCGTGCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGGAGGCCAAAGTGTCAGTGGAGGTGGACACGCCCTGCAAGTCCGGAATCCCAAGAAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAAGACAGCAGCTCTCCCTGCTCTCCACCTGACCCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCAAGGTGTACGCCCTGCGAAGTGACCCACCAAGGCTGTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGGGCGGAGTGTGGTSSDW
92	411D07-CDRH1 (IMGT)	IMGTを使用した411D07のCDRH1のアミノ酸配列	IFHSGRT
93	411D07-CDRH2 (IMGT)	IMGTを使用した411D07のCDRH2のアミノ酸配列	ARDGSGSY
94	411D07-CDRH3 (IMGT)	IMGTを使用した411D07のCDRH3のアミノ酸配列	SSDWVN
95	411D07-CDRH1 (Kabat)	Kabatを使用した411D07のCDRH1のアミノ酸配列	EIFHSGRTNWNPSLKS
96	411D07-CDRH2 (Kabat)	Kabatを使用した411D07のCDRH2のアミノ酸配列	DGSGSY
97	411D07-CDRH3 (Kabat)	Kabatを使用した411D07のCDRH3のアミノ酸配列	

10

20

30

40

50

【表 3 6】

98	411D07ー重鎖可変領域	411D07のV ₁₁ のアミノ酸配列	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTLCVSGGSISSDWWNNWRQPPGKGLWEIGEIFHS GRITNYPQLKSRVTISIDSKNQFSLRSSVTADTAVYCARDGSSGYWQGTLV TVSS
99	411D07ー重鎖可変領域	411D07のV ₁₁ の核酸配列	CAGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGGGACCT GTCCCTCACCTGCATTGTCTCTGGTGGCTCCATCATCAGTAGTACCTGGTGAA TTGGTCCGCCAGCCCGAGGAGGGCTGGAGTGGAGAAATCTTTC ATAGTGGAGGACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTACCATATCAA TAGACAAGTCCAAGATCAGTTCTCCCTGAGGCTGAGCTCTGTACCGCCGCGG ACACGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATGGTTGCGGGAGTTACTGGGGCCAG GGACCTGGTCAACGCTCTCTCAG
100	411D07ー完全重鎖配列	411D07重鎖のアミノ酸配列	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTLCVSGGSISSDWWNNWRQPPGKGLWEIGEIFHS GRITNYPQLKSRVTISIDSKNQFSLRSSVTADTAVYCARDGSSGYWQGTLV TVSSASTKGPSPFLAPSSKSTSGTGAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHT PPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYCNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTC PPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIBKTIISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMEHAINHYTQKLSLSPGK
101	411D07ー完全重鎖配列	411D07重鎖の核酸配列	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGGGACCT GTCCCTCACCTGCATTGTCTCTGGTGGCTCCATCATCAGTAGTACCTGGTGAA TTGGTCCGCCAGCCCGAGGAGGGCTGGAGTGGAGAAATCTTTC ATAGTGGAGGACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTACCATATCAA TAGACAAGTCCAAGATCAGTTCTCCCTGAGGCTGAGCTCTGTACCGCCGCGG ACACGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATGGTTGCGGGAGTTACTGGGGCCAG GGACCTGGTCAACGCTCTCTCAGCAGCAGCAAGGGCCCTCTGTGTCCCT CTGGCCCTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGAACAGCCGCTCTGGGTGCCTC GTGAAGGACTACTTCCCGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAATCTGGCGCTCTG ACACGGAGTGCACACCTTCCCTGTGTGTGAGTCTCTCCGCGCTGTACTCC CTGTCTCCGTGTGACCGTGCCTTCCAGTCTCTGGGACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAACCAAGCCCTCCAACCAAGGTGGACAAGAGGTGGAAACCC AAGTCTCGCACAAGACCAACCTGTCCCTGTCCCTGTCTGCTCCCTGAACTGCTG GGCGGACCTTCGGTGTCTTCTTCCCTCAAGCCCAAGCCACCTGATGATC TCCCGGACCCCGAAGTACCTGCGTGGTGGTGGATGTGCCACGAGACCT GAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGAGCGGTGGAAGTGAACGCCAAGACC AAGCCTAGAGAGGAAGTACAACCTACCTACCGGGTGTCTCGTGTGAC GTGCTGCACGAGGATTGGTGAACGGCAAGAGTACAAGTGAAGGTGTGCAAC AAGGCCCTGCCTGCCCTCCCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCC

10

20

30

40

50

【表 3 7】

				CGGGAACCCAGGTGTACACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAAC CAGGTGTCCTGACCTGTCTCGTGAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTG GAATGGAGTCCAAGGGCCAGCCTGAGAACTAGAACACACCCCCCTGTG CTGGACTCCGACGGCTCATTTCTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCC CGTGGCAGCAGGCAACGTGTCTCTGCTCGGTGATGACAGGCGCCTGAC AACCACTACACCCAGAGTCCCTGTCCTGAGCCCCGGCAAG QSVLYSSNNKNY
102	411D07 - CDRL1 (IMGT)		IMGTを使用した411D07のC DR L1のアミノ酸配列	
103	411D07 - CDRL2 (IMGT)		IMGTを使用した411D07のC DR L2のアミノ酸配列	
104	411D07 - CDRL3 (IMGT)		IMGTを使用した411D07のC DR L3のアミノ酸配列	
105	411D07 - CDRL1 (Kabat)		Kabatを使用した411D07の CDRL1のアミノ酸配列	
106	411D07 - CDRL2 (Kabat)		Kabatを使用した411D07の CDRL2のアミノ酸配列	
107	411D07 - CDRL3 (Kabat)		Kabatを使用した411D07の CDRL3のアミノ酸配列	
108	411D07 - 軽鎖可変領域		411D07のV _L のアミノ酸配列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKSGQPPKLLIYW ASTRESGVPRFSGSGTDFLTITSSLTQTEDVAVYVYQQYYSNRSFSGGQTKLEIK
109	411D07 - 軽鎖可変領域		411D07のV _L の核酸配列	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTCTCTGGCGGAGAGG GCCACATCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTATACAGCTCCCAACAATAAGA ATTACTTAGCTTGGTACAGCAAGAAATCAGGACAGCCTCCTAAGTTGCTCATTTA CTGGCATCTACCCGGAAATCCGGGTCCTGACCGATTACAGTGGCAGCGGT CTGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCTGACAGTGAAGATGTGGCAG TTTATTACTGTACGCAATATTATAGTAAATCGCAGTTTGGCCAGGGGACCAAGCT GGAGATCAAC
110	411D07 - 完全軽鎖配列		411D07 軽鎖のアミノ酸配列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKSGQPPKLLIYW ASTRESGVPRFSGSGTDFLTITSSLTQTEDVAVYVYQQYYSNRSFSGGQTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQSDKSDTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
111	411D07 - 完全軽鎖配列		411D07 軽鎖の核酸配列	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTCTCTGGCGGAGAGG GCCACATCAACTGCAAGTCCAGCAGAGTGTATACAGCTCCCAACAATAAGA ATTACTTAGCTTGGTACAGCAAGAAATCAGGACAGCCTCCTAAGTTGCTCATTTA CTGGCATCTACCCGGAAATCCGGGTCCTGACCGATTACAGTGGCAGCGGT CTGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCTGACAGTGAAGATGTGGCAG

10

20

30

40

50

【表 38】

			TTTATTACTGTAGCAATATTATAGTAA TCGCAGTTTGGCCAGGGGACCAAGCT GGAGATCAAAACGTACGGTGGCGCTCCCTCGGTGTTCACTTCCACCTTCCGA CGAGCAGCTGAAGTCGGCACCGCTTCTGTGCTGCTGCTGAACAACATTCTA CCCCCGAGGCCAAGGTGCAAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCA ACTCCAGGAA TCCGTGACCGAGCAGGACTCAAGGACAGCAGCCTACTCCCTGT CTCCACCTGACCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCAAGGTGTAGGCCT GCGAAGTGACCCACCAAGGCCCTGTCTAGCCCGCTGACCAAGTCTTCAACCCGGG GCGAGTGT
112	385F01 - CDRH1 (IMGT)	IMGTを使用した385F01のC DRH1のアミノ酸配列	GFTFSYW
113	385F01 - CDRH2 (IMGT)	IMGTを使用した385F01のC DRH2のアミノ酸配列	IKEDGSEK
114	385F01 - CDRH3 (IMGT)	IMGTを使用した385F01のC DRH3のアミノ酸配列	ARNRLYSDFLN
115	385F01 - CDRH1 (Kabat)	Kabatを使用した385F01の CDRH1のアミノ酸配列	SYWMS
116	385F01 - CDRH2 (Kabat)	Kabatを使用した385F01の CDRH2のアミノ酸配列	NIKEDGSEKYYVDSVKG
117	385F01 - CDRH3 (Kabat)	Kabatを使用した385F01の CDRH3のアミノ酸配列	NRLYSDFLN
118	385F01 - 重鎖可変領域	385F01のV _H のアミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYWMWVRQAPGKGLEWVANIKED GSEKYYVDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTSVYVCARNRLYSDFLDNW GQGTLVTVSS
119	385F01 - 重鎖可変領域	385F01のV _H の核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCT GAGACTCTCTGTGAGCCTCTGGATTACGTTTAGTAGCTATTGGATGAGTTG GGTCCGCCAGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGTGGCCACATCAAGAAG ATGGAAGTGAGAAATACTATGTGACTCTGTGAAGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAAATGAACAGCTGAGAGCCGAGG ACAGCTGTGTATTACTGTGGAGAAATCGACTCTACAGTGACTTCTCTTGACAA CTGGGGCCAGGGAACCTGGTCAACGCTCTCCTCAG
120	385F01 - 完全重鎖配列	385F01重鎖のアミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYWMWVRQAPGKGLEWVANIKED GSEKYYVDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTSVYVCARNRLYSDFLDNW GQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSC DKHTCTCPCPAPPELLGPPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVWSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSKNALPAP

10

20

30

40

50

【表 40】

126	385F01 - CDRL2 (Kabat)	Kabatを使用した385F01の CDRL2のアミノ酸配列	GASSLQS	DIQMTQSPSSVSASVSGDRVTITCRASQGVSSWLAWYQQKSGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTEFII TISSLPQEDFATYCCQANSIPFTFGPTKVDIK
127	385F01 - CDRL3 (Kabat)	Kabatを使用した385F01の CDRL3のアミノ酸配列	QQANSIPFT	
128	385F01 - 軽鎖可変領域	385F01のV _L のアミノ酸配列		GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCGGTGTCTGCATCTGTCGGAGACAGA GTACCATCACITTCGGGGGAGTCAGGTGTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTAT CAGCAGAAATCAGGAAAGCCCTAAGTCTCTGATCTATGTTGATCCAGTTTG CAAAGTGGGTCCCATCAAGATTCAGCGGAGTGGATCTGGACAGAGTTTCATT CTCACCATCAGCAGCTGAGCTTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGG CTAACAGTATCCCATTCACITTCGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAAAC
130	385F01 - 完全軽鎖配列	385F01軽鎖のアミノ酸配列		DIQMTQSPSSVSASVSGDRVTITCRASQGVSSWLAWYQQKSGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTEFII TISSLPQEDFATYCCQANSIPFTFGPTKVDIKRTVAAP SVTFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
131	385F01 - 完全軽鎖配列	385F01軽鎖の核酸配列		GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCGGTGTCTGCATCTGTCGGAGACAGA GTACCATCACITTCGGGGGAGTCAAGGTGTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTAT CAGCAGAAATCAGGAAAGCCCTAAGTCTCTGATCTATGTTGATCCAGTTTG CAAAGTGGGTCCCATCAAGATTCAGCGGAGTGGATCTGGACAGAGTTTCATT CTCACCATCAGCAGCTGAGCTTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGG CTAACAGTATCCCATTCACITTCGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAAACGTAC GGTGGCGCTCTTCGGTGTCTGCATCTTCACCTTCCGAGCAGCAGCTGAAGTC CGGACCGCTTCTGCTGTGCTGTGCTGAACAACCTTCTACCCCGGAGGCGCAA GGTGCAGTGGAGGTGGACAAAGCCCTGCAGTCCGCGCACTCCAGGAATCCGT GACCGAGCAGACTCAAGGACAGCACCTACTCCTGTCTCCACCTGACCCCT GTCCAAGGCCGACTACGAGAAAGCAAGGTGTACGCTGCGAAGTGAACCACTCA GGGCTGTCTAGCCCGTGAACCAAGTCTTCAACCGGGGCGAGTGT
132	413D08 - CDRH1 (IMGT)	IMGTを使用した413D08のC DRH1のアミノ酸配列	GFTFRYGG	
133	413D08 - CDRH2 (IMGT)	IMGTを使用した413D08のC DRH2のアミノ酸配列	IWYDGSNK	
134	413D08 - CDRH3 (IMGT)	IMGTを使用した413D08のC DRH3のアミノ酸配列	ARDMDYFGMDV	
135	413D08 - CDRH1 (Kabat)	Kabatを使用した413D08の CDRH1のアミノ酸配列	IYGMH	

10

20

30

40

50

【表 4 1】

136	413D08 - CDRH2 (Kabat)	Kabatを使用した413D08の CDRH2のアミノ酸配列	VIWYDGSNKYYADSVKG
137	413D08 - CDRH3 (Kabat)	Kabatを使用した413D08の CDRH3のアミノ酸配列	DMDYFGMDV
138	413D08 - 重鎖可変領域	413D08のV _H のアミノ酸配列	QVQLVESGGGVQPGRLRLSCAASGFTFRIYGMHWVRQAPGKGLEWVAIVMYD GSNKYYADSVKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRATEDTAVYCARDMDYFGMDVW GGGTTVTVSS
139	413D08 - 重鎖可変領域	413D08のV _H の核酸配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCT GAGACTCTCTGTGCGCGTCTGATTCACCTTCGTA TTTATGGCATGCACTG GGTCCGCGAGGCTCCAGCAAGGGGCTGGAGTGGTGGCAGTTATATGGTATG ATGGAAGTAATAATACTATGCTGACTCGTGAAGGCCGATTACCATCTCCA GAGACAA TTCGACACACGCTGATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCTGTATTACTGTGCGAGAGATATGGACTACTTCGGTATGGACGCTCT GGGCCAAGGGACACGGTACCGTCTCTCAG
140	413D08 - 完全重鎖配列	413D08重鎖のアミノ酸配列	QVQLVESGGGVQPGRLRLSCAASGFTFRIYGMHWVRQAPGKGLEWVAIVMYD GSNKYYADSVKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRATEDTAVYCARDMDYFGMDVW GGGTTVTVSSASTKPSVFLPSSKTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQYICNVNHKPSNTKDKVPEKSC DKHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDITLISRPEVTWVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP TEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE INNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL SPKG
141	413D08 - 完全重鎖配列	413D08重鎖の核酸配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCT GAGACTCTCTGTGCGCGTCTGATTCACCTTCGTA TTTATGGCATGCACTG GGTCCGCGAGGCTCCAGCAAGGGGCTGGAGTGGTGGCAGTTATATGGTATG ATGGAAGTAATAATACTATGCTGACTCGTGAAGGCCGATTACCATCTCCA GAGACAA TTCGACACACGCTGATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCTGTATTACTGTGCGAGAGATATGGACTACTTCGGTATGGACGCTCT GGGCCAAGGGACACGGTACCGTCTCAGCCAGCACCAAGGCCCTCTG TGTTCCCTCTGGCCCTTCCAGCAAGTCCACCTTGGCGGGAACAGCCGCTCTGG GCTGCTCGTGAAGGACTACTTCCCGAGCCTGTGACCGTCTCTGGAACCTCTG GCGCTCTGACCAAGGAGTGCACACCTCCCTGCTGTGCTGCTGCTCCGGCC TGACTCCCTGTCTCGTGGTGGAGCTGCTTCCAGCTCTCTGGGACCCAGA CCTACATCTGCAACGTGAACCAAGCCCTCCAAACAGAGGTGGACAAAGG TGGAAACCAAGTCTCGGACAAAGACCCACACTGTCCCTCTGCTGCCCCCAAGGACACCT ACTGCTGGCGGACCTTCCCGTGTCTCTGTTCCCAAGCCCAAGGACACCT

10

20

30

40

50

【表 4 4】

161	386H03 - 完全重鎖配列 Heavy chain complete germline sequence	386H03 重鎖の核酸配列 386H03 heavy chain nucleotide sequence	VTSSASTKGPSVPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYPEPTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVWTPSSSLGTQTYICNVNHPKNTKVDKVEPKSCDKHT CPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCWVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK CAGGTGCAGCTGCAGGAGTGGGCCCGGAGGAGTGGTGAAGCCCTCGGGGACCCCT GTCCCTCACCTCGGCTGTCTGTGGTCTCATCAGCAGTAGTGAGCTGGTGAG TTGGCTCCGCGAGCCCGAGGAGGGCTGGAGTGGATTGGGAAATCTTTTC ATAGTGGGAACACAACTAACCCGCTCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGT AGACAAGTCCAAGAACCAGATCTCCTGAGCTGAAGTCTGTGACCCGCCGGA CACGCGGTGTAATTACTGTGTAGAGATGGTTGGGGAGTTACTGGGCGCAGG GAACCTGGTCAAGCTCTCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCTCTGTGTTCCTC TGGCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTGCGGCAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTCG TGAAGGACTACTTCCCGAGCCTGTACCGTGTCTGGAATCTGGGCTCTGA CCAGCGAGTGCAACCTTCCCTGTGTGTGAGTCTCTCGGCTGTACTCCC TGTCTCCGTGTGACCGTCCCTTCCAGCTCTCTGGCAACAGACCTACATCT GCAACGTGAACCAACAGCCCTCAACACCAAGGTGGAAGAGGAGGGAACCCA AGTCTGCGACAGACCAACCTCTGCCCTTGTCTGCCCTGAATGTCTGG GCGGACCTCCGTTCCTGTTCCCGCAAGCCCAAGGACACCTGATGATCT CCCGAACCCCGAAGTGACTGCGTGGTGGATGTGCCACGAGGACCT GAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGAGCGGTGAAGTGCAACAGCAAGACC AAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGTGGTGTCCGTGCTGACC GTCTGCACCAAGATTGGCTGAACGCAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAAC AAGCCCTGCCTGCCCTGATACACTGCCCCCTAGCAGGACGAGCTGACCAAGAAC CGGGAACCCAGGTGTACACTGCCCCCTGAAAGGCTTACCCCTCGATATCGCGTG CAGGTGTCCCTGACCTGTCTGTGAAAGGCTTACCCCTCGATATCGCGTG GAATGGGAGTCCAACGCGGAGCCTGAGAACAACTAAGAACCCCGCTGTG CTGGACTCCGAGCGCTCATTTCTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCC CGTGGCAGCAGGCAACGTGTCTCTGCTGCTGATGACAGGAGGCGCTGCAC AACCACTACACCCAGAGTCCCTGTCTCTGAGCCCCGGCAAG QSVLYSSNNKNY
162	386H03 - CDRL1 (IMGT)	IMGTを使用した386H03のCDRL1のアミノ酸配列	
163	386H03 - CDRL2 (IMGT)	IMGTを使用した386H03のCDRL2のアミノ酸配列	
164	386H03 - CDRL3 (IMGT)	IMGTを使用した386H03のCDRL3のアミノ酸配列	

10

20

30

40

50

【表 4 5】

[illegible]

【表 4 6】

174	389A03 - CDRH3 (IMGT)	IMGTを使用した389A03のC DRH3のアミノ酸配列	AISTAAGPEYFHR	ALQESGPGILVKPSETLSLTCTVSGSSSSSYCGWIQPPGKGLDWIGSYSTGYT YNP SLKSRVTISIDTSKNQFSCLILTSVTAADTAVYCAISTAAGPEYFHRWGQGT LVT/VSS
175	389A03 - CDRH1 (Kabat)	Kabatを使用した389A03の CDRH1のアミノ酸配列	SSSYCYG	CAGCTGCAGGAGTGGGCCAGGCCCTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCCTC ACCTGCACCTGCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGTAGTTATTACTGGGCTGG ATCGCCAGCCCCCTGGGAGGGCTGAGCTGAGTGGGAGTATCTATTCTACT GGGTACACCTACTACAACCCGCTCCTCAAGAGTCGAGTACCATTTCCATAGACA CGTCAAGAACCACTTCTCATGCTGATACCTGACCTCTGTGACCGCCGACAGACA CGGCTGTGATTACTGTGGATAAGTACAGCAGCTGGCCCTGAATCTTCCATC GCTGGGCCAGGCCAGCCCTGGTCAACGCTCTCCTG
176	389A03 - CDRH2 (Kabat)	Kabatを使用した389A03の CDRH2のアミノ酸配列	SYSTGYTYNPSLKS	QLQESGPGILVKPSETLSLTCTVSGSSSSSYCGWIQPPGKGLDWIGSYSTGYT YNP SLKSRVTISIDTSKNQFSCLILTSVTAADTAVYCAISTAAGPEYFHRWGQGT LVT/VSS
177	389A03 - CDRH3 (Kabat)	Kabatを使用した389A03の CDRH3のアミノ酸配列	STAAGPEYFHR	CAGCTGCAGGAGTGGGCCAGGCCCTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCCTC ACCTGCACCTGCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGTAGTTATTACTGGGCTGG ATCGCCAGCCCCCTGGGAGGGCTGAGCTGAGTGGGAGTATCTATTCTACT GGGTACACCTACTACAACCCGCTCCTCAAGAGTCGAGTACCATTTCCATAGACA CGTCAAGAACCACTTCTCATGCTGATACCTGACCTCTGTGACCGCCGACAGACA CGGCTGTGATTACTGTGGATAAGTACAGCAGCTGGCCCTGAATCTTCCATC GCTGGGCCAGGCCAGCCCTGGTCAACGCTCTCCTG
178	389A03 - 重鎖可変領 域	389A03のV _H のアミノ酸配列		QLQESGPGILVKPSETLSLTCTVSGSSSSSYCGWIQPPGKGLDWIGSYSTGYT YNP SLKSRVTISIDTSKNQFSCLILTSVTAADTAVYCAISTAAGPEYFHRWGQGT LVT/VSSASTKGPSFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKVEPKSCDKTHI CPCPAPELLGSPVFLFPKPKDTLMISRTPETVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEOYNSTYRW/SVLT/LHQDWLNGKEYCKV/SNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
179	389A03 - 重鎖可変領 域	389A03のV _H の核酸配列		CAGCTGCAGGAGTGGGCCAGGCCCTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCCTC ACCTGCACCTGCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGTAGTTATTACTGGGCTGG ATCGCCAGCCCCCTGGGAGGGCTGAGCTGAGTGGGAGTATCTATTCTACT GGGTACACCTACTACAACCCGCTCCTCAAGAGTCGAGTACCATTTCCATAGACA CGTCAAGAACCACTTCTCATGCTGATACCTGACCTCTGTGACCGCCGACAGACA CGGCTGTGATTACTGTGGATAAGTACAGCAGCTGGCCCTGAATCTTCCATC GCTGGGCCAGGCCAGCCCTGGTCAACGCTCTCCTG
180	389A03 - 完全重鎖配 列	389A03重鎖のアミノ酸配列		QLQESGPGILVKPSETLSLTCTVSGSSSSSYCGWIQPPGKGLDWIGSYSTGYT YNP SLKSRVTISIDTSKNQFSCLILTSVTAADTAVYCAISTAAGPEYFHRWGQGT LVT/VSSASTKGPSFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKVEPKSCDKTHI CPCPAPELLGSPVFLFPKPKDTLMISRTPETVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEOYNSTYRW/SVLT/LHQDWLNGKEYCKV/SNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
181	389A03 - 完全重鎖配 列	389A03重鎖の核酸配列		CAGCTGCAGGAGTGGGCCAGGCCCTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCCTC ACCTGCACCTGCTCTGGTGGCTCATCAGCAGTAGTAGTTATTACTGGGCTGG ATCGCCAGCCCCCTGGGAGGGCTGAGCTGAGTGGGAGTATCTATTCTACT GGGTACACCTACTACAACCCGCTCCTCAAGAGTCGAGTACCATTTCCATAGACA CGTCAAGAACCACTTCTCATGCTGATACCTGACCTCTGTGACCGCCGACAGACA CGGCTGTGATTACTGTGGATAAGTACAGCAGCTGGCCCTGAATCTTCCATC GCTGGGCCAGGCCAGCCCTGGTCAACGCTCTCCTG

10

20

30

40

50

【表 47】

			GCCTGTACTCCTGCTCCTCGTGTGACCGTGCTTCAGCTCTCTGGGACCCC AGACCTACATCTGCAAGTGAACCAAGCCCTCCAAACCAAGGTGGCAAGA AGGTGGAACCCAAAGTCTCGGACAAGACCCACACCTGCCCCCTTGTCTGCCCC CTGAATCTGTGGGGACCTTCCGTGTTCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCTCCCGACCCCGAAGTACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCC ACGAGGACCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGAAGTGCACA ACGCCAAGACCAAGCTAGAGAGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGTGGTGT CCGTGCTGACCGTGTGACACAGGATTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGCA AGGTGTCCAACAAGGCCCTGCTGCCCCCTGAAAGACCATCTCCAAGGCCA AGGGCCAGCCCGGAACCCAGGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGACGAGC TGACCAAGAACCAAGTGTCCCTGACCTGTCTGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCG ATATGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCTGAGAACAACTACAAGACCA CCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTTCTCTGTACAGCAAGCTGACAG TGGACAAGTCCGGTGGCAGGAGGCAAGGTGTTCTCTGCTCCGTGATGCAAG AGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAAG QSVLYSSNSKNF
182	389A03 - CDR11 (IMGT)	IMGTを使用した389A03のC DR11のアミノ酸配列	
183	389A03 - CDR12 (IMGT)	IMGTを使用した389A03のC DR12のアミノ酸配列	
184	389A03 - CDR13 (IMGT)	IMGTを使用した389A03のC DR13のアミノ酸配列	
185	389A03 - CDR11 (Kabat)	Kabatを使用した389A03の CDR11のアミノ酸配列	
186	389A03 - CDR12 (Kabat)	Kabatを使用した389A03の CDR12のアミノ酸配列	
187	389A03 - CDR13 (Kabat)	Kabatを使用した389A03の CDR13のアミノ酸配列	
188	389A03 - 軽鎖可変領 域	389A03のV _L のアミノ酸配列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNSKNFLAWYQQKPGQPPLFIYW ASTRSGVDPDRISGSGSTDFNLITSSLQAEDVAVYCCQYYSTPRTFGQGTKEI K
189	389A03 - 軽鎖可変領 域	389A03のV _L の核酸配列	GACATCGTGTGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTTCTCTGGGCGAGAGG GCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTATTATACAGCTCCACAGTAAGA ACTTCTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGACAGCCTCTTAAGCTGTCTATTTA CTGGCATCTACCCGGGATCCCGGGTCCCTGACCGAATCAGTGGCAGCGGT CTGGGACAGATTTCATCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAG

10

20

30

40

50

【表 4 8】

[illegible]

【表 49】

193			重鎖定常領域アミノ酸配列	ASTKGPSVFLPAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVWTVPSSSLGTKTYTCNVDPKSRVNTKDKRVESKYGPCCPCPAPEF LGGPSVFLPAPKPKDTLMISRTPETVTCVWVDSQEDPEVQFNWVVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRWVSVLTWVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREP QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSD GSFELYRLTVDKSRWQEGNVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLGLK
194	ヒト I g G 4 重鎖定常領域 # 2	IGHG4* 02	重鎖定常領域スクレオチド配列	ggtccaccaggggccatcgttctcccttgccctgctcaggagcacctccgagagcacagccg cctgggtctgctggaagactacttcccgaaaccggtagcggtgctggaactcaggcgccctgac caggcggtgacaccttccggctctcacagctcaggactacttccctcagcagctggtgaccg tgccctccagcagcttggaagagactacactcgaacgtagatcaacagccgacaacaccagg tgacaagagagtgagtcacaatatgttcccgtagccatcatgcttccggagaccctgaggtcacgtg accatcagttcttcttcccaaaaccaggagacactctatgacttccggagaccctgaggtcacgtg cgtgtgtgagctgagccaggagaccccgaggttcagttcaactgtgtagtggtgaggtgaggtg tgataatgccaaagacgcggaagagcagttcaacagcagctacccgtgtgtagcgtctca cgtgtgacacagctggtgaacggcaagagaggaagtcagaggttccacaagaaggtccctccg tctctcatgagaaaccatctcaaaagcaaaaggcgagcccgagagccacaggtgtacaccttgccc ccatccagagagagatgacaaagaaacaggttaccctgacctgtgtcaaaaggtcttaccacgc gacatcgccgtgagtggaagagcaatgggagcgaggaacacacacacacacacacacacacac ggactccgacgctcttctctacagcagctaacctggacaaagagcaggtggcagaggggga atgtcttctctgctgctgtagtgaggtgctgcaacacacacacacacacacacacacacacacac gggtaaa
195			重鎖定常領域アミノ酸配列	ASTKGPSVFLPAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVWTVPSSSLGTKTYTCNVDPKSRVNTKDKRVESKYGPCCPCPAPEF LGGPSVFLPAPKPKDTLMISRTPETVTCVWVDSQEDPEVQFNWVVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRWVSVLTWVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREP QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSD GSFELYRLTVDKSRWQEGNVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLGLK
196	ヒト I g G 4 重鎖定常領域 # 3	IGHG4* 03	重鎖定常領域スクレオチド配列	ggtccaccaggggccatcgttctcccttgccctgctcaggagcacctccgagagcacagccg cctgggtctgctggaagactacttcccgaaaccggtagcggtgctggaactcaggcgccctgac caggcggtgacaccttccggctctcacagctcaggactacttccctcagcagctggtgaccg tgccctccagcagcttggaagagactacactcgaacgtagatcaacagcccgacaacaccagg tgacaagagagtgagtcacaatatgttcccgtagccatcatgacttccggagaccctgaggtcacgtg accatcagttcttcttcccaaaaccaggagacactctatgacttccggagaccctgaggtcacgtg cgtgtgtgagctgagccaggagaccccgaggttcagttcaactgtgtagtggtgaggtgaggtg tgataatgccaaagacgcggaagagcagttcaacagcagctacccgtgtgtagcgtctca cgtctctgacacagagctgagcggagagagtagaacaggttccacaagaaggtccctccg ccttcatcgagaaacacatctcaaaaggcaaaaggtagcccgagagcacacaggtgtacaccttgcccc

10

20

30

40

50

【表 50】

[illegible]

【表 5 1】

[illegible]

【表 5 3】

[illegible]

【表 5 4】

218	ヒトCλ定常領域	IGLC1*02	Cλ軽鎖定常領域ヌクレオチド配列—バージョンA	ggtraggcccaaggccaacccactgtactctgttcccgccctctctgaggagcttccaagccaacaaggccacactagtgtgtctgtatcagtgacttctacccgggagctgtgacagtgtgctggaaggcagatggcagccccgtaaggcgaggagtgagaccaccaacccctccaacagagagcaacaagaagtagcggcgccagcagctactgagctgaccccgagagtggaagtcacagagctacagctgcccaggtacgcacatgaaggagcaccgtggagagacagtgccctacagaatgttca
219			Cλ軽鎖定常領域アミノ酸配列—バージョンAまたはBによってコードされる	GQPKANPTVTLPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNINKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSQCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
220			Cλ軽鎖定常領域ヌクレオチド配列—バージョンB	ggtraggcccaaggccaacccactgtactctgttcccgccctctctgaggagcttccaagccaacaaggccacactagtgtgtctgtatcagtgacttctacccgggagctgtgacagtgtgctggaaggcagatggcagccccgtaaggcgaggagtgagaccaccaacccctccaacagagagcaacaagaagtagcggcgccagcagctactgagctgaccccgagagtggaagtcacagagctacagctgcccaggtacgcacatgaaggagcaccgtggagagacagtgccctacagaatgttca
221	ヒトCλ定常領域	IGLC2*01	Cλ軽鎖定常領域ヌクレオチド配列—バージョンA	ggcagcttaagcccgctctctgtgacccctgttcccccctctctcaggaactgcagctacaaggccacccctgtgtctgtatcagtgacttctacccgggagctgtgacagtgtgctggaaggcagatgctctctctgtaaggcggtgggaacaccaccccttccaagcagtcaccaacaatacagctctctctacctgtccctgacccctgagcagtggaagtcacagagctacagctgcccaggtacgcacatgaaggagcaccgtggagagacagtgccctacagaatgttca
222			Cλ軽鎖定常領域ヌクレオチド配列—バージョンB	ggcagcttaagctgtcccgagctacccgtgttctctctcagcaggaggagcttccaagccaacaaggccacccctgtgtctgtatcagtgacttctacccgggagctgtgacagtgtgctggaaggcagctcagctctgtaaggcggtgggaacaccaccccttccaagcagtcaccaacaagaagtagcggcgctctcagctatctctctgacccctgagcagtggaagtcaccaaggtctactctctgacaggtgacccagcagggtctccaccgtggaaagacagctgctcccgcccgagtgctcc
223			Cλ軽鎖定常領域アミノ酸配列—バージョンAまたはBによってコードされる	GQPKANPTVTLPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNINKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSQCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
224	ヒトCλ定常領域	IGLC2*02 & IGLC2*03	Cλ軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	ggtraggcccaaggctgcccctctgtactctgttcccgccctctctgaggagcttccaagccaacaaggccacactgtgtgtctcataagtgacttctacccgggagctgtgacagtgtgctggaaggcagatgagcagccccgtaaggcgaggagtgagaccaccaacccctccaacaaagcaacaagaagtagcggcgccagcagctactgtgagctgaccccgagcagtggaagtcacagagctacagctgcccaggtacgcacatgaaggagcaccgtggagagacagtgccctacagaatgttca
225			Cλ軽鎖定常領域アミノ酸配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNINKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSQCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
226	ヒトCλ定常領域	IGLC3*01	Cλ軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	cccaagggtgcccctctgtactctgttccacccctctctgtgaggagcttccaagccaagaagccactgggtgtctcataagtgacttctaccgggagcggtagcagtgctggaaggcagatgagcagccccgctcaaggcggtggagaccaccaacccctccaacaaagcaacaagaagtagcggcgccagctaccc

10

20

30

40

50

【表 5 5】

227					tgagcctgagcctgagcagtggaagtcacaaagctacagctgcaggctacgcataggaagggagc accgtggagaagacagtgccctacggaatgttca
228	ヒトCλ定常 領域	IGLC3* 02		Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPS KQSNINKYAASYSLSLTPQWKSHKYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
229				Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	ggtagcccaaggctgccccctctgactctgttccacccctctctgagggagcttcaagccaagaaggc cacactggtgtctcataagtgacttaccggggccagtgacagtgccctggaagcagatagcagc ccccgaaggcggggtggagaccacacacccccaacaaagcaacaaaglatcgcgccagca gtactctgagccctgacgcttgagcagtggaagtcacacaaagctacagctgcagggtacgcatagaag ggagcaccgtggagaagacagtgccccctacggaatgttca
230	ヒトCλ定常 領域	IGLC3* 03		Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTT PSKQSNINKYAASYSLSLTPQWKSHKYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
231				Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	ggtagcccaaggctgccccctctgactctgttccacccctctctgagggagcttcaagccaagaaggc cacactggtgtctcataagtgacttaccggggccggtgacagtgccctggaagcagatagcagc ccccgtcaaggcggggtggagaccacacacccccaacaaagcaacaaaglatcgcgccagc agctactgagccctgacgctgagcagtggaagtcacacaaagctacagctgcagggtacgcatagaa gggagcaccgtggagaagacagtgccccctacggaatgttca
232	ヒトCλ定常 領域	IGLC3* 04		Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTT PSKQSNINKYAASYSLSLTPQWKSHKYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
233				Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	ggtagcccaaggctgccccctctgactctgttccacccctctctgagggagcttcaagccaagaaggc cacactggtgtctcataagtgacttaccggggccggtgacagtgccctggaagcagatagcagc ccccgtcaaggcggggtggagaccacacacccccaacaaagcaacaaaglatcgcgccagc agctactgagccctgacgctgagcagtggaagtcacacaaagctacagctgcagggtacgcatagaa gggagcaccgtggagaagacagtgccccctacggaatgttca
234	ヒトCλ定常 領域	IGLC6* 01		Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTT PSKQSNINKYAASYSLSLTPQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
235				Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	ggtagcccaaggctgccccctctgactctgttccacccctctctgagggagcttcaagccaagaaggc cacactggtgtctcataagtgacttaccggggccggtggaagtgccctggaagcagatagcagc ccccgtcaaccgagggtggagaccacacacccccaacaaagcaacaaaglatcgcgccagc agctactgagccctgacgctgagcagtggaagtcacacaaagctacagctgcagggtacgcatagaa gggagcaccgtggagaagacagtgccccctgaggaatgttca
236	ヒトCλ定常 領域	IGLC7* 01 &		Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTT TPSKQSNINKYAASYSLSLTPQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS
				Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	ggtagcccaaggctgccccctctgactctgttccacccctctctgagggagcttcaagccaagaaggc cacactggtgtctcataagtgacttaccggggccggtgacagtgccctggaagcagatagcagc ccccgtcaaggcggggtggagaccacacacccccaacaaagcaacaaaglatcgcgccagc agctactgagccctgacgctgagcagtggaagtcacacaaagctacagctgcagggtacgcatagaa gggagcaccgtggagaagacagtgccccctgaggaatgttca

10

20

30

40

50

【表 56】

	IgL7* 02		agclaccctgagcctgacgccgagcagtggaagtcacacagaagctacagctgccgggtacgcatga aggagcaccgtgagagagacagtgccctccagatgctct
237			GOPKAAPSVTLFPSPSEELQANKATLVLVSDFYPGAVTVAKADGSPVKVGVEIT KPSQSNKNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECS GFTSDYY
238	413G05 – CDRH1 (IMGT)	Cλ軽鎖定常領域アミノ酸配列	ISTSGSTI
239	413G05 – CDRH2 (IMGT)	IMGTを使用した413G05のC DRH1のアミノ酸配列	
240	413G05 – CDRH3 (IMGT)	IMGTを使用した413G05のC DRH2のアミノ酸配列	ARGITGTNFYHYGLGV
241	413G05 – CDRH1 (Kabat)	IMGTを使用した413G05のC DRH3のアミノ酸配列	DYMS
242	413G05 – CDRH2 (Kabat)	Kabatを使用した413G05の CDRH1のアミノ酸配列	YISTSGSTIYADSVKG
243	413G05 – CDRH3 (Kabat)	Kabatを使用した413G05の CDRH2のアミノ酸配列	GITGTNFYHYGLGV
244	413G05 – 重鎖可変領 域	Kabatを使用した413G05の CDRH3のアミノ酸配列	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTSDYMSWIRQVPGKGLEWWSYISTSG STIYADSVKGRFTISRDNANKNSLYQMNSLRRAEDAAVYHCARGITGTNFYHYGLG VWGQGTITVTVSS
245	413G05 – 重鎖可変領 域	413G05のV _H の核酸配列	CAGGTGAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCT GAGACTCTCTGTGAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTG GATCCGCCAGGTTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTACTAG TGGTAGTACCATATACGACAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAG GGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTACAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGA CGCGCGGTGTACTGTGGAGAGGTATACTGGAACCTAACTTACCACCTA CGTTTGGGGTCTGGGGCCAGGGACACCGTCCCTCTCTCCTCAG
246	413G05 – 完全重鎖配 列	413G05重鎖のアミノ酸配列	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTSDYMSWIRQVPGKGLEWWSYISTSG STIYADSVKGRFTISRDNANKNSLYQMNSLRRAEDAAVYHCARGITGTNFYHYGLG VWGQGTITVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVKKVEP KSCDKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRWVSIVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIETKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK

10

20

30

40

50

【表 5 7】

247	413G05-完全重鎖配列	413G05重鎖の核酸配列	CAGTGCAGCTGGTGAAGTCTGGGGAGGCTTGGTCAAGCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCTGTCAGCCTCTGGATTCACTTCACTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGTTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTTTCAATACATTAGTACTAGTGATGATACCATATACGACGACTCTGGAAGGGCCGATTCCACTCTCCAGGGACAACGCAAGAACTACTGTATCTACAAATGAACAGCTGAGAGCCGAGGACGCGCGTGTATCACTGTGCGAGAGGTATAACTGGAACCTAACTTCTACCACTACGGTTTGGGCGTCTGGGGCCAAGGACACGTCACCGTCTCTCAGCCACGACCAAGGCCCTCTGTGTCTCTGGCCCTTCCAGCAAGTCCACTCTGGCGGAACAGCCCTCTGGCTGCTGAAGGACTACTTCCCGAGCCTGTGACCGTGTCTGAACTCTGGCGCTGACCAAGCGGAGTGCAACCTTCCCTGCTGTCTGAGTCTCCGGCTGACTCTCTCCGTCTGTCGTCGTCGCTTCCAGCTCCAGTCTCCGGCAGCTACATCTGCAAGCTGAACCAAGCCCTCCAAACCCAAAGGTGGAACCCAAAGTCTCTGGCAAGACCCACACTGTCCCTTGTCTCTCCCTGAACTGTGGGGGACTTCCGTCTCTGTTCCCTCCCAAGCCCAAGGACACCTGTATCTCCCGACCCCGAAGTGACTCGCTGGTGGTGGAITGTCTCCACGAGGACCTGAAAGTGAAGTTCAAATGGTAGCTGGACGGCGGTGGAAGTGACAACGCCAAGCAAGCTAGAGAGGAAGTACAACCTCCACCTACCGGTGTGTCTCGTGTGACCGCTGACCAAGGATTGGCTGAACGGCAAGA GTACAAGTGAAGGTGTCCAAAGGCCCTGCTGCTGCCCTATCGAAAGACCATCTCAAGGCCAAGGCCAGCCCGGGAACCCAGGTGTACACACTGCCCTTAGCAGGACGAGCTGACCAAGAACAGGTGTCCCTGACTGTCTGTGAAAGGCTTCTACCTCCGATATCGCGGTGAATGGGAGTCCAAAGGCCAGCTGAGAACAACTACAAGACACCCCTGTGTGACTCCGAGGCTCATTTCTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGCAAGTCCCGGTGGCAGGAGGCAAGTGTCTCTGCTCCGTGATGTCACGAGGCCCTGCAACCACTACACCAAGTGTCTGTCCTGTGAGC	QKNSW
248	413G05-CDRL1 (IMGT)	IMGTを使用した413G05のCDRL1のアミノ酸配列	AAS	
249	413G05-CDRL2 (IMGT)	IMGTを使用した413G05のCDRL2のアミノ酸配列	QQNSFPLT	
250	413G05-CDRL3 (IMGT)	IMGTを使用した413G05のCDRL3のアミノ酸配列	RASQINSWLA	
251	413G05-CDRL1 (Kabab)	Kababを使用した413G05のCDRL1のアミノ酸配列	AASTLQS	
252	413G05-CDRL2 (Kabab)	Kababを使用した413G05のCDRL2のアミノ酸配列		

【表 5 8】

253	413G05 - CDR13 (Kabat)	Kabatを使用した413G05の CDRL3のアミノ酸配列	QQVNSFPLT	DIQMTQSPSSVSASVDRVTITCRASQGINSLAWYQQKPKAPKLLIYAASLTQS GVPFRFGSGSGADFTLTSSLPEDFATYYCQQVNSFPLTFGGGTKVEIK
254	413G05 - 軽鎖可変領 域	413G05のV _L のアミノ酸配列		GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCGTGCTGCATCTGTAGGAGACAGA GTACCATCACTTGTGGGGAGTCAAGGTATTAAACAGCTGGTTAGCCTGGTAT CAGCAAAACACAGGAAAGCCCTAAGCTCTGATCTATGCTGCATCCACTTTG CAAGTGGGTCCCATCAAGTTCAAGGTCAGCGGAGTGGTCTGGGGCAGATTCACT CTCACCAGCAGCCTGAGCTGAAGATTTTGAACCTTACTATTGTCAACAGG TTAACAGTTTCCCGTCACTTTCGGGAGGAGCAAGGTGGAGATCAAAAC
255	413G05 - 軽鎖可変領 域	413G05のV _L の核酸配列		DIQMTQSPSSVSASVDRVTITCRASQGINSLAWYQQKPKAPKLLIYAASLTQS GVPFRFGSGSGADFTLTSSLPEDFATYYCQQVNSFPLTFGGGTKVEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVCLINNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
256	413G05 - 完全軽鎖配 列	413G05 軽鎖のアミノ酸配列		GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCGTGCTGCATCTGTAGGAGACAGA GTACCATCACTTGTGGGGAGTCAAGGTATTAAACAGCTGGTTAGCCTGGTAT CAGCAAAACACAGGAAAGCCCTAAGCTCTGATCTATGCTGCATCCACTTTG CAAGTGGGTCCCATCAAGTTCAAGGTCAGCGGAGTGGTCTGGGGCAGATTCACT CTCACCAGCAGCCTGAGCTGAAGATTTTGAACCTTACTATTGTCAACAGG TTAACAGTTTCCCGTCACTTTCGGGAGGAGCAAGGTGGAGATCAAAACGTA CGGTGGCGCTCCCTCCGTGTTCACTTCCACCTCCGAGGAGCAGCTGAAGT CCGCGACCGCTTCTGTGTGCTGCTGAACAACTTCTACCCCGGAGGCCA AGGTGACGTGGAAGGTGGAACAGCCCTGCACTCCGCAACTCCAGGAATCCG TGACCGAGCAGACTCAAGGAGCAGCACTTCCCTGCTCCCTCCCTGACCC TGTCGAAGCGGAGTACGAGAGCAGCAAGGTGACGCTGCGAAGTGACCCACC AGGCGCTGCTAGCCCGTGAACAACTTTCACCGGGGGGAGTGT
257	413G05 - 完全軽鎖配 列	413G05 軽鎖の核酸配列		GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCGTGCTGCATCTGTAGGAGACAGA GTACCATCACTTGTGGGGAGTCAAGGTATTAAACAGCTGGTTAGCCTGGTAT CAGCAAAACACAGGAAAGCCCTAAGCTCTGATCTATGCTGCATCCACTTTG CAAGTGGGTCCCATCAAGTTCAAGGTCAGCGGAGTGGTCTGGGGCAGATTCACT CTCACCAGCAGCCTGAGCTGAAGATTTTGAACCTTACTATTGTCAACAGG TTAACAGTTTCCCGTCACTTTCGGGAGGAGCAAGGTGGAGATCAAAACGTA CGGTGGCGCTCCCTCCGTGTTCACTTCCACCTCCGAGGAGCAGCTGAAGT CCGCGACCGCTTCTGTGTGCTGCTGAACAACTTCTACCCCGGAGGCCA AGGTGACGTGGAAGGTGGAACAGCCCTGCACTCCGCAACTCCAGGAATCCG TGACCGAGCAGACTCAAGGAGCAGCACTTCCCTGCTCCCTCCCTGACCC TGTCGAAGCGGAGTACGAGAGCAGCAAGGTGACGCTGCGAAGTGACCCACC AGGCGCTGCTAGCCCGTGAACAACTTTCACCGGGGGGAGTGT
258	413F09 - CDRH1 (IMGT)	IMGTを使用した413F09のC DRH1のアミノ酸配列	GFYSYA	
259	413F09 - CDRH2 (IMGT)	IMGTを使用した413F09のC DRH2のアミノ酸配列	ISGGGGNT	
260	413F09 - CDRH3 (IMGT)	IMGTを使用した413F09のC DRH3のアミノ酸配列	AKDRMKQLVRAYFDY	
261	413F09 - CDRH1 (Kabat)	Kabatを使用した413F09の CDRH1のアミノ酸配列	YYAMS	
262	413F09 - CDRH2 (Kabat)	Kabatを使用した413F09の CDRH2のアミノ酸配列	TTISGGGGNTHYADSVKG	

10

20

30

40

50

【表 5 9】

263	413F09 - CDRH3 (Kabat)	Kabatを使用した413F09の CDRH3のアミノ酸配列	DRMKQLVRAYFDY
264	413F09 - 重鎖可変領域	413F09のV _H のアミノ酸配列	EVPLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFSYAMSWRQAPGKGLDWVSTISGGG GNTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYCAKDRMKQLVRAYF DYWGQGLTVTVSS
265	413F09 - 重鎖可変領域	413F09のV _H の核酸配列	GAGGTGCCGCTGGTGGAGCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCT GAGACTCTCTGTCAGCTCTGGATTACGTTTAGCTACTATGCCATGAGCTG GGTCGTCAGGCTCCAGGAAGGGCTGGACTGGGTCTCAACTATTAGTGGTG GTGGTGGTAACACACACTACGAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACTATATCCA GAGACAAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCACATGAACAGCCTGAGAGCCGAAG ACAGGCCGTCTATTACTGTGCGAAGGATCGGATGAACAGCTGTCCTGGGCCT ACTACTTTGACTACTGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCTCTCAG
266	413F09 - 完全重鎖配列	413F09重鎖のアミノ酸配列	EVPLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFSYAMSWRQAPGKGLDWVSTISGGG GNTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYCAKDRMKQLVRAYF DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLPSSSLGTQYICNVNHPKSNTKVDKVEP KSCDKTHITCPAPPELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVHQDWLNGKEYCKVSKNALP APIETISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
267	413F09 - 完全重鎖配列	413F09重鎖の核酸配列	GAGGTGCCGCTGGTGGAGCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCT GAGACTCTCTGTCAGCTCTGGATTACGTTTAGCTACTATGCCATGAGCTG GGTCGTCAGGCTCCAGGAAGGGCTGGACTGGGTCTCAACTATTAGTGGTG GTGGTGGTAACACACACTACGAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACTATATCCA GAGACAAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCACATGAACAGCCTGAGAGCCGAAG ACAGGCCGTCTATTACTGTGCGAAGGATCGGATGAACAGCTGTCCTGGGCCT ACTACTTTGACTACTGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCTCTCAGCCAGCA CCAAGGCCCTCTGTGTTCCTCTGGCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCG GAACAGCCGCTCTGGGCTCGTGAAGGACTACTTCCCGAGGCTGTGACCG TGCTCTGGAACCTCTGGGCTCTGACAGGAGTGACACTTCCCTGCTGTGC TGACGTCTCTGGGCTGTACTCCTGTCTCCGTGTGACCGTGCCTTCCAGCT CTCTGGGACCCAGACTACTGTCAAGTGAACCAAGCCCTCCAACACCAA GGTGGACAAGAGGTGAACCAAGTCTCGCAAGACCAACACCTGTCCCCC TTGTCTGCCCCTGAACCTGTGGCGGACCTTCCGTGTCTCTGTTCCTCCCAA GCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCGAAGTACCTGGTGGTGGT GGATGTGTCCACAGGAGCCCTGAAGTGAAGTCAATTGGTACGTGGACGGCGT

10

20

30

40

50

【表 6 1】

278	414B06 - CDRH1 (IMGT)	IMGTを使用した414B06のCDRH1のアミノ酸配列	CAGAAAAACGAGGAAAGCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTACATCCAGTTTTC CAAAGTGGGTCCCATCAAGTTTCAGCGCAGTGGATCTGGGACAGAAATTCAC CTCACAATCAGAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTTACTGTCAACAGC TTCTACTGACCCGATACCTTCGGCAAGGACACGACTGGAGATCAAAACGTA CGGTGGCGCTCCTCCGTGTTCTATCTTCCCACTTCCGACGAGCAGCTGAAGT CCGGCACCGCTTCTGTGTTGCTGCTGAACAACTTCTACCCCGGAGGCCA AGGTGACGTGGAAGGTGGACAACCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCG TGACCGAGCAGGACTCAAGGACAGCACCCTACTCCTCTCCACCTGCACCC TGTCGAAGGCCGACTACGAGAAGCAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACCCACC AGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCACCCGGGGCGAGTGT GFTFSYW
279	414B06 - CDRH2 (IMGT)	IMGTを使用した414B06のCDRH2のアミノ酸配列	IKQDGSEK
280	414B06 - CDRH3 (IMGT)	IMGTを使用した414B06のCDRH3のアミノ酸配列	ARVRQWSDYSY
281	414B06 - CDRH1 (Kabat)	Kabatを使用した414B06のCDRH1のアミノ酸配列	SYWMN
282	414B06 - CDRH2 (Kabat)	Kabatを使用した414B06のCDRH2のアミノ酸配列	NIKQDGSEKYYVDSVKG
283	414B06 - CDRH3 (Kabat)	Kabatを使用した414B06のCDRH3のアミノ酸配列	VRQWSDYSY
284	414B06 - 重鎖可変領域	414B06のV _H のアミノ酸配列	EVHLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYWMNWRQAPGKGLEWVANIKQD GSEKYYVDSVKGRFTVSRDIAKNSLYLQMNISLRRAEDTAVYYCARVRQWSDYSY WGQGTPTVTVSS
285	414B06 - 重鎖可変領域	414B06のV _H の核酸配列	GAGGTGCACCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTCCAGCTGGGGGGTCCCT GAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGTAGCTATTGAGTGAACCTG GGTCCGACGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGGTGGCAACATTAAGCAAG ATGGAAGTGAGAAATACTATGTGGACTCTGTAAGGGCCGCTTACCCGCTCCA GAGACGCGCAAGAACTACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCTGTGATTACTGTGGAGAGTTCGACAAATGGTCCGACTACTCTGACT ACTGGGGCCAGGAAACCCCGTCAACCTCTCCTCAG
286	414B06 - 完全重鎖配列	414B06重鎖のアミノ酸配列	EVHLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYWMNWRQAPGKGLEWVANIKQD GSEKYYVDSVKGRFTVSRDIAKNSLYLQMNISLRRAEDTAVYYCARVRQWSDYSY WGQGTPTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKTSGGTAAIGCLVKDYFPEPTVSWNSGA ITSGVHTPEPAVLQSSGLYSISSLVTPSSSI GTOTYCNVNHKPSNKA/DKVKPEK

【表 6 2】

287	414B06 - 完全重鎖配 列	414B06重鎖の核酸配列	CDKTHCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYDGEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK GAGGTGCACCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCTGGGGGGTCCCT GAGACTCTCTGTGAGCCCTCGGATTCACTTTAGTAGCTATTGGATGAACCTG GGTCCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGAGTGGGTGGCCCAACATAAAGCAAG ATGGAAGTGAGAAATACTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGCTTACCCGCTCCA GAGAACGCCAAGAACTACTGTATCTGCAATGAACAGCTGAGAGCCGAGG ACAGGGTGTATTACTGTGGAGAGTTGACATGGTCCGACTACTCTGACT ACTGGGGCCAGGAACCCGGTCACTGCTCTCAGCCAGCAACCAAGGGCCCT CTGTGTTCCCTTGGCCCTTTCAGCAAGTCCACTCTGCGGGAACAGCCGCTC TGGGTGCTCTGTGAAGACTACTTCCCGAGCTGTGACCGTGTGCTGCTGGAAC CTGGCGCTGTGACGAGGAGTGACACCTTCCCTGCTGTGCTGCTGCTGCTGCTG GCTGTACTCCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG AGACTACATCTGAAGTGAACCAAGCCCTCCAAACACCAAGTGGGACAAGA AGGTGGAACCAAGTCTCGCAAGACCCACACTGTCCCTTGTCTGCTGCTGCTG CTGAACTGCTGGGGGACTTTCGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CCTGATGATCTCCGGACCCCGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGAGCGGTGGA ACGAGGACCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGAGCGGTGGAAGTGCACA ACGCAAGACCAAGCTTAGAGAGAACAGTACAACTCCACTACCGGGTGGTGT CCGTGTGACCGTGTGACCAAGATTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGCA AGGTGTCCAACAAAGCCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG AGGCCAGCCCGGGAACCCAGGTGTACACTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG TGACCAAGAACCAAGTGTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG ATATCGCGGTGGAATGGAGTCCAAAGGCGAGCTGAGAACACTACAAGACCA CCCCCCTGTGTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG TGGACAAGTCCCGGTGGAGGAGGCAAGTGTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG AGGCCCTGCACCAACCACTACACCCAGAAAGTCCCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG QGISSW
288	414B06 - CDRL1 (IMGT)	IMGTを使用した414B06のC DRL1のアミノ酸配列	
289	414B06 - CDRL2 (IMGT)	IMGTを使用した414B06のC DRL2のアミノ酸配列	AAS
290	414B06 - CDRL3 (IMGT)	IMGTを使用した414B06のC DRL3のアミノ酸配列	QQANSFPFT

10

20

30

40

50

【表 6 3】

291	414B06 - CDRL1 (Kabat)	Kabatを使用した414B06の CDRL1のアミノ酸配列	RASQGISSWLA	
292	414B06 - CDRL2 (Kabat)	Kabatを使用した414B06の CDRL2のアミノ酸配列	AASSLQS	
293	414B06 - CDRL3 (Kabat)	Kabatを使用した414B06の CDRL3のアミノ酸配列	QQANSFPFT	
294	414B06 - 軽鎖可変領 域	414B06のV _L のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGRVITTCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQS GVPKRFSGSGSDFTLTSSLPEDFATYCCQANSFPFTGPGTKVDIK	
295	414B06 - 軽鎖可変領 域	414B06のV _L の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCGGTGCTGCATCTGTAGGAGACAGA GTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTACGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTAT CAGCAGAAACAGGAAAGCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTG CAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGGCGAGTCTGGGACAGATTTCACT CTACCATCAGAGCCTGAGCTGAAGATTTGCAACTTACTATTGTCAACAGG CTAACAGTTTCCATTCATCTTCGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAAAC	
296	414B06 - 完全軽鎖配 列	414B06 軽鎖のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGRVITTCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQS GVPKRFSGSGSDFTLTSSLPEDFATYCCQANSFPFTGPGTKVDIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASWCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSLTSLTISKADYEHKLVACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC	
297	414B06 - 完全軽鎖配 列	414B06 軽鎖の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCGGTGCTGCATCTGTAGGAGACAGA GTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTACGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTAT CAGCAGAAACAGGAAAGCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTG CAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGGCGAGTCTGGGACAGATTTCACT CTACCATCAGAGCCTGAGCTGAAGATTTGCAACTTACTATTGTCAACAGG CTAACAGTTTCCATTCATCTTCGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAAACGATC GGTGGCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCACCTTCGACGAGAGCTGAAGTC CGCACCGCTTCTGTCGTGCTGCTGCTGAACAATCTTACCCCGCGAGGCCAA GGTCAGTGGAGGTGAGACAGCCCTGCGAGTCCGGCACTCCAGGAATCCGT GACCGAGCAGGACTCCAGGACAGCACTACTCCCTGCTCTCCACCTGACCT GTCCAAGGCGGACTACGAGAAACAGGTTAGGCTGCGGAGTGACCCACCA GGGCTGCTAGCCCGGTGACCAAGTCTTCAACCGGGCGAGTGT	
298	変異1D05-LC変異体 3	強調されたCDRL2への、VからY の変異を有する1D05カッパ軽鎖の アミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGRVITTCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQS GVPKRFSGSGSDFTLTSSLPEDFATYCCQANSFPFTGPGTKVDIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASWCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSLTSLTISKADYEHKLVACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC	
299	1D05 - 重鎖欠損1gG 1_Fc	1D05のIgG1欠損変異型のアミ ノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRSCAASGFTFDYAMHWVRQVPGKGLEWVSGISWI RTGIGYADSVKGRFTIFRDNAKNLSLYQMNSLRRAEDTALYYCAKDMKSGSYTGGW	

10

20

30

40

50

【表 6 4】

			FDTWGQGLTVTVSSASTKGPVFLPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTIKVDKKVE PKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVYLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPTEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
300	1D05-軽鎖IL-2融 合	野生型ヒトIL-2配列に融合した1 D05軽鎖配列(IL-2アミノ酸に 下線が引かれ、変異される領域は太字 で示される)	DIQMTQSPFSLASVGDRVTITCRASQISISLYNWYQKPKAPKLLIYVASSLQS GVPSRFSGSGSDFTLTSSIQPEDFATYYCQQSYSTPTFGQGTREIKRTVAAP SVFIFFPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC APTSSTIKKI QLOLEHLLD LQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKGYMPKKA TELKHLQCLEELKPL EEVLN LAOSKNFHLRPRDLISNINVVLELKGSETTFMCEYADETATIVFEFLNRWITE COSISITLT
301	ヒトIL-2	UniProt番号:ヒトIL-2の P60568全長アミノ酸配列(シグ ナル配列を除く)	APTSSTIKKI TELKHLQCLEELKPL LQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKGYMPKKA TELK HLQCLEELKPL EEVLNLAOSKNFHLRPRDLISNINVVLELKGSETTFMCEYADET ATIVFEFLNRWITFCQSIISITLT
302	対照1D05免疫サイトカ インHC C末端融合	N末端で野生型ヒトIL-2配列(対照)に融合した重鎖1D05 IgG1 変異型	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRSCAASGFTDDYAMHWVRQVPGKGLEWVSGISWI RTGIGYADSVKGRFTIFRDNAKNSLYLQMNSLRRAEDTALYYCAKDMKSGTYGGW FDTWGQGLTVTVSSASTKGPVFLPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTIKVDKKVE PKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVYLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPTEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSPGKAPTSSTIKKI TELKHLQCLEELKPL EEVLNLAOSKNFHLRPRDLISNINVVLELKGSETTFMCEYADETATIVFEFLNRWITFCQSIISITLT
303	IL-2 D5-9	IL-2 IC45 (欠失5~9) N 末端IL-2配列	APTSSTIKKI TELKHLQCLEELKPL
304	IL-2 D1-9	IL-2 IC46 (欠失1~9) N 末端IL-2配列	TELKHLQCLEELKPL
305	IL-2 D5-7	IL-2 IC64 (欠失5~7) N 末端IL-2配列	APTSSTIKKI TELKHLQCLEELKPL

10

20

30

40

50

【表 6 5】

306	IL-2 D1	IL-2 D1 N末端 IL-2 配列	PTSSSTKKTQLQLEHLLD
307	IL-2 D1-2	IL-2 D1-2 N末端 IL-2 配列	TSSSTKKTQLQLEHLLD
308	IL-2 D1-3	IL-2 D1-3 N末端 IL-2 配列	SSSTKKTQLQLEHLLD
309	IL-2 D1-4	IL-2 D1-4 N末端 IL-2 配列	SSTKKTQLQLEHLLD
310	IL-2 D1-5	IL-2 D1-5 N末端 IL-2 配列	STKKTQLQLEHLLD
311	IL-2 D1-6	IL-2 D1-6 N末端 IL-2 配列	TKKTQLQLEHLLD
312	IL-2 D1-7	IL-2 D1-7 N末端 IL-2 配列	KKTQLQLEHLLD
313	IL-2 D1-8	IL-2 D1-8 N末端 IL-2 配列	KTQLQLEHLLD
314	IL-2 D9	IL-2 D9 N末端 IL-2 配列	APTSSTKKTQLQLEHLLD
315	IL-2 D9-8	IL-2 D9-8 N末端 IL-2 配列	APTSSTTQLQLEHLLD
316	IL-2 D9-7	IL-2 D9-7 N末端 IL-2 配列	APTSSTQLQLEHLLD
317	IL-2 D9-6	IL-2 D9-6 N末端 IL-2 配列	APTSSTQLQLEHLLD
318	IL-2 D9-4	IL-2 D9-4 N末端 IL-2 配列	APTTQLQLEHLLD
319	IL-2 D9-3	IL-2 D9-3 N末端 IL-2 配列	APTQLQLEHLLD
320	IL-2 D9-2	IL-2 D9-2 N末端 IL-2 配列	ATQLQLEHLLD
321	IL-2 D2-6	IL-2 D2-6 N末端 IL-2 配列	ATKKTQLQLEHLLD
322	IL-2 D3-7	IL-2 D3-7 N末端 IL-2 配列	APKKTQLQLEHLLD
323	IL-2 D4-8	IL-2 D4-8 N末端 IL-2 配列	APTKTQLQLEHLLD

10

20

30

40

50

【表 6 6】

324	h11L-2のC末端アミノ酸配列	h11L-2のアミノ酸21~133	LQMILGNINYKNPKL TRMLTFKYMPPKATKELKHLQCLEELKPLEEVNLNAQSKN FHLRPRDLISINIVLELKGSETTFMCEYADETATVEFLNRWJTFQCSIISTLT
325	マウスPDD-L1	UniProt 番号: Q9EPP73 (ECDが太字で強調され、細胞質ドメインに下線が引かれている)	MRIFAGIIFTACCHLLRAFTTAPKQLVVEYGSNVTMECRFPVERELDLLAL VYWEKEDEQVIQFVAGEEDLKPKQHSNFRGRASLPKDQLLKGNAAEQIT DVKLQDAGVYCCISYGGADYKRTITLKNAPYRKINQRISVDPAATSEHEL ICQAEYPEAEVWTNSDHPVSGKRSVTSRTEGMLLNVNSSLRVNAT ANDVFYCTFWRSQPGQNHTAELIIPELPATHPPQNRTHWLLGSLLELVV STVLELRKQVRMLDVEKGVEDTSKNRNDIOFEET
326	マウスPDD-L1 ECD His	Hisタグを有するマウスPDD-L1細胞外ドメイン	FTTAPKDLVVEYGSNVTMECRFPVERELDLLALVYWEKEDEQVIQFVAGEEDLK PQHSNFRGRASLPKDQLLKGNAAEQITDVKLQDAGVYCCISYGGADYKRTITLKN APYRKINQRISVDPAATSEHELICQAEYPEAEVWTNSDHPVSGKRSVTSRTEG MLLNVNSSLRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNHTAELIIPELPATHPPQNRTHHH HH
327	ヒト1L-2Rα鎖	ヒト1L-2受容体アルファ鎖	ELCDDPPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKGRFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSW DINCQCTSSATRNITTKQVTPQPEEQKERKTTMQSPMQPVDQASLPGHCREPPP WENEATERIYHFVWGQVYQCVQGYRALHGRPAESVCKMTHGKTRWTPQPLIC TGMEMTSQFPGEEKPQASPEGRPESETSLVTTTDFQIQTEMAATMETSIFFTTEYQ VAVAGCVLLISVLLSGLTWQRORRKSRTI
328	ヒト1L-2Rβ鎖	ヒト1L-2受容体ベータ鎖	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDQALQDTSQVHAWPDRRRWNQTCCELLPVS QASWACNLILGAPDSQKLITVDIVTLRVLCREGRVWRVMAIQDFKPFENLRMAPI SLOWHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFARTLSPGHTWEEAPLLTKQKOE WICLETLPDTQYEFQVRVKPLQGEFTWSPWSQPLAFRTKPAALGKDTIPWLGH LLVGLSGAFGFTILVLLNCRNTGPNLKKVLCNTPDPSKFFSQLSSEHGGDVQKW LSSPFPSSFSFGGLAPEISPLEVLRDKVTQLLQDDKVPAPASLSSNHSLSCTFN QGYFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPTSSPQLPQLSGEDDA YCTFSPRDDLLFSPSLGGSPSPSTAPGSGAGEERMPPSLQERVPRDWDQPLG PPTPGVDLVDFQPPPELVREAGEEVPDAGPREGVSPWSRPPGQGEFRALNARL PLNTDAYISLQELQGDPTHLV
329	ヒト1L-2Rγ鎖	ヒト1L-2受容体共通ガンマ鎖	LNTTLTPNGNEDTTADFFLTMTDLSLSVSTLPPEVQCFVFNVEYMNCTWNSSS EPQPTNLTLHYWYKNSDNDKVKQCSHYLFESEITSGCQLQKKEHLVQTFWQLQD PREPRQATQMLKQLNLPWAPENLTLLKLSQLELNWNFLNHLVQY RTDWDHSHWTEQSDYRHKFSLPSVDGQKRYTFRVSRFNPPLGSAQHWSEWSH PIHWGNSKFNPLFALEAVISVSGMGLISLVCYFWLERTMPRIPTLKNLEDLV TEYHGNFSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEIPPKGALGEGPGASPCNQHSP YWAPPCTLKPET

10

20

30

40

50

【表 67】

330	IL-7		ヒト IL-7 アミノ酸配列	DCDIEGKDGKQYESVLMVMSIDQLLDSMKEIGSNCLNNEFFKRHHICDANKEGMFL FRAARKLRQFLKMNSTGDFDLHLKLVSEGTILLNCTGQVKGKRKPAALGEAQPTKS LEENKSLKEQKLNLDLCLLQETKTCWNKILMGTKEH
331	IL-15		ヒト IL-15 アミノ酸配列	GIHVILGCFSGAPKTEANWVWVSDUKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLELQVLSGSDASIHDTVENLILANSSNGNVYESGCKECEELEEKNI KEFLQSFVHIVQMFINTS
332	IL-21		ヒト IL-21 アミノ酸配列	QGQDRHMIRMRLQIDIVDQLKNYVNDLVPELPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQL KSANTGNNERIINVSIIKKLRKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYKPKPPKEFLERFK SLQKMIHQHLLSSRTHGSEDS
333	GM-CSF		ヒト GM-CSF アミノ酸配列	APARSPSPSTQPWEHVNAIQEARLLNLSRDTAAEMNETVEVISEMFDLQEPCLQ TRLELYKQGLRGSLTKLKGPLTMASHYKQHCPPTPETSCATQIITFESKENLKDF LLVIPDCWEVPQE
334	IFN α		ヒト IFN- α アミノ酸配列	CDLPQNHGILLSRNTLLVLLHQMRRLSPFLCLKDRDRFRPQEMVKGSQLQKAHVMS VLHEMLQQIFSLFHTESSAAWNMTLLDQLHTELHQQLHLETCLLQWGWGESA GAISSPALTLRRYFQGRVYLKEKYSDCAWEVVRMEIMKSLFLSTNMQERLRSKD RDLGS
335	TNF α		ヒト TNF- α アミノ酸配列の細胞外部分	GPQREEFRDLISPLAQAVRSSRTPSDKPVAAHWPQAEGLQWLNRRANAL LANGVELRDNLQVPSGLYLYSQVLFKGQGCPTHWLLTHTSRIAVSYQTKVNL LSAISKPCQRETPEGAEAKPWYEPYLLGGVFQLEKGDRLSAENRPDYLDFAESGQV YFGIAL
336	IL-12 α		ヒト IL-12 アミノ酸配列のアルファ鎖	RNLPAVATPDGMFPCLLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEDHEDITKDK TSTVEACLPLELTNESCNSRSTSFITNGSCLASRKTSMMLALCLSSYEDLKMYQ VEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNM LAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKT KIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
337	IL-12 β		ヒト IL-12 アミノ酸配列のベータ鎖	IWELKDYVVELDWYPDAPGEMVLTCDTPEDGTTWTLDSSEVLGSGKTLTI QVKEFGDAGQYTC HKGEVLSHLLHKKEDGWSTDLKDQKEPKNTFLRCEA KNYSGRFTCWLLTTISTDLTFSVKSSRSDPQVTCGAATLSAERVGRDNKEYE YSVEQEDSACPAEESLPVEMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPPPKNLQLKPL KNSRQVEVSWEPDWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKDRVFTDKTSA TVICR KNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
338	CXCL9		ヒト CXCL-9 アミノ酸配列	TPVVRKGRCSISTNQGTIHLQSLKDLKQFAPSCEKIEIATLKNGVQTCCLNPDSA DVKELIKKWEKQV/SQKKQNGKKHKKV/LKVRKSQRQKKT
339	CXCL10		ヒト CXCL-10 アミノ酸配列	VPLSRVTRCTCISISNQPVNPSLEKLEIIPASQFCPRVEIATMKKKGEKRCINPESK AIKNLLKAVSKERSKRS
340	ヒト WT 1gG1 定常領域	IGHG1*01 &	WT ヒト IgG1 アミノ酸配列	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSWVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTCPCP

10

20

30

40

50

【表 6 8】

341		IGHG1* 02 & IGHG1* 05 (IgG1)		APELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWVVDGVEVHN AKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVL DSGGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
342	変異1D05-HC変異体 2		WTヒトIgG1核酸配列	GCCAGCACCAAGGGCCCTCTGTTCCTCTGGCCCTTCCAGCAAGTCCACC TCTGGCGGAACAGCGCTCTGGGCTGCCTGTGAAGGACTACTTCCCGAGCCT GTACCGTGCTCTGGAACTCTGGGCTGTACGAGGAGTGCACACCTTCCCT GCTGTGCTGAGTCTCCGGCTGTACTCCCTGCTCCGCTGACCGTGCCT TCCAGCTCTGGGCAACAGGACCTATCTGCAACGTGAACCAAGCCCTCCA ACCAAGGTGACAAAGGTGGAACCAAGTCTCGCAAGAACCAACACCT GTCCCTTGTCTGCCCTGAAGTCTGGGGGACCTTCCGTGTCTGTCTTCC CCCAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCGGACCCCGAAGTACCTGCG TGGTGTGGATGTCTCCAGGAGCCTTGAAGTGAAGTTCATTTGTAGCTGG ACGGGTGGAAGTGCAACCAAGCAAGCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAAC CCACTACCGGTGGTGTCTGCTGACCGTGTGACCAAGGATGGCTGAACG GCAAGATACAGTGAAGTGAAGTGTCAACCAAGGCTGCTGCCCCCATCGAA AGACATCTCAAGGCCAAGGCCAGCCAGCAAGAGGCTGCTGACCTGTCTGTA CCCCTAGCGGAGCAGCTGACCAAGAACAGGCTGCTGACCTGTCTGCTGA AAGCTTCTACCTCCGATATCGCCGTGAAGTGGAGTCCACGCGCAGCCTG AGAACACTACAAGACACCCCTGCTGCTGGAAGTCCGAGGCTCATCTCTCT GTACAGCAAGTGAAGTGAAGTCCCGGTGGCAGGAGGCAAGTGTCTCTC CTGCTCGGTGATGACGAGGCGCTGCAACCACTACACCCAGAGTCCCTGTC CCTGAGCCCCGCAAGTATGA
343	416E01-CDRH1 (IMGT)		IgG1欠損(LAG)定常領域で 強調された生殖細胞系への、フレーム ワーク領域におけるVからAおよびF からSの複合変異を有する1D05重 鎖のアミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGASLRLSCLAA SGFTDDYAMHWVRQAPGKGLWVSGISWI RTGIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYQMNSLR AEDTALYYCAKDMKSGTYGGW FDTWGQGLTVVSSASTKGPSVFLPAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVWTPSSSLGTKTYTCNVNDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPLAPGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVSDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCFVSMHEALHNHYTQKS LSLSLGK
343	416E01-CDRH1 (IMGT)		IMGTを使用した416E01のC DRH1のアミノ酸配列	GFTFSNYA

10

20

30

40

50

【表 6 9】

344	416E01 - CDRH2 (IMGT)	IMGTを使用した416E01のC DRH2のアミノ酸配列	ISFSGGTT	
345	416E01 - CDRH3 (IMGT)	IMGTを使用した416E01のC DRH3のアミノ酸配列	AKDEAPAGATFFDS	
346	416E01 - CDRH1 (Kabat)	Kabatを使用した416E01の CDRH1のアミノ酸配列	NYAMS	
347	416E01 - CDRH2 (Kabat)	Kabatを使用した416E01の CDRH2のアミノ酸配列	AISFSGGTTYADSVKG	
348	416E01 - CDRH3 (Kabat)	Kabatを使用した416E01の CDRH3のアミノ酸配列	DEAPAGATFFDS	
349	416E01 - 重鎖可変領域	416E01のV _H のアミノ酸配列 (生 殖細胞系からの変異は太字で示される)	EVQLAESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSNYAMSWVRQTPGKGLWWSAISFSG GTTYADSVKGRFTISRDNSKNTLYHMNSLRADDTAVYYCAK DEAPAGATFFD SWGQGLTVTVSS	
350	416E01 - 重鎖可変領域	416E01のV _H の核酸配列	GAAGTGCAACTGGCGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTTACAGCGCGGGGGTCCCT GAGACTCTCTGTGAGCTCTGAGTTCACCTTTAGCAACTATGCCATGAGTTG GGTCCGCCAGACTCCAGGAAGGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTTTATG TGGTGGTACTACATACGCTGACTCCGTGAAGGGCGGTTACCATCTCCAG AGACAAATCCAAGAACAAGCTGATTGACATGAACAGCTGAGAGCGGATGA CAGCGCGGTATATTACTGTGCGAAAGATGAGGCACCGCTGGCGCAACCTTCTT TGACTCTGGGGCAGGGAACGCTGGTCCCGTCTCCTCAG	
351	416E01 - 完全重鎖配列	416E01重鎖のアミノ酸配列	EVQLAESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSNYAMSWVRQTPGKGLWWSAISFSG GTTYADSVKGRFTISRDNSKNTLYHMNSLRADDTAVYYCAKDEAPAGATFFDS WGQGLTVTVSSASTKGPSVFLPCSRSTSESTALGCLVKDYFPEPTVSWNSGA LTSGVHTEPAVLQSSGLYSWVTPSSSLGTYTCNVNDRKPSNTKVDKRVESKY GPPCPAPEFEGGSPVFLPPKPDLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVFQFNWY VDGVE/HNAKTKPREEQFNSTYRWSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGPQPREQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHLEALHNHYTQKSLSLGLG K	
352	416E01 - 完全重鎖配列	416E01重鎖の核酸配列	GAAGTGCAACTGGCGGAGTCTGGGGGAGGCTTGTTACAGCGCGGGGGTCCCT GAGACTCTCTGTGAGCTCTGAGTTCACCTTTAGCAACTATGCCATGAGTTG GGTCCGCCAGACTCCAGGAAGGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTTTATG TGGTGGTACTACATACGCTGACTCCGTGAAGGGCGGTTACCATCTCCAG AGACAAATCCAAGAACAAGCTGATTGACATGAACAGCTGAGAGCGGATGA CAGCGCGGTATATTACTGTGCGAAAGATGAGGCACCGCTGGCGCAACCTTCTT	

10

20

30

40

50

【表 70】

353	416E01 - CDRL1 (IMGT)		TGACTCTGGGCGGAGAACGCTGGTCAACCGTCTCCTCAGCCAGCACCAAGGG CCCTTCGGTGTCCCTGGCCCTTGAGGAGGACCTCCGATCCAGAGC TGCCCTGGGCTGTGGTGAAGGACTACTTCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTG GAACAGGGCGCTTGACATCCGGCTCCACACCTTCTGCGCTCCCTGCAGTC CTCGGCTCTACTCCCTGTCTCCGTGGTGACCGTGCTAGCTCCTCCTCGG CACCAAGACCTACACCTGTACGTGGACCAACACCTCCACCAAGGTGGAC AAACGGTGGAGCAAGTACGGCCCTCCCTCTTGTCTGCCCCGAG TTCAAGGGGAGCCAGCGTGTCTCTGTTCCCTCAAGCCCAAGACACCTC ATGATCAGCCGACACCGAGGTACCTGCTGGTGGTGGTGGATGTGAGCCAGGA GGACCTGAGGTCCAGTTCAACTGGTATGTGGATGGCTGGAGGTGCACACG CCAAGACAAAGCCCGGAGAGGAGTCAACTCCACCTACAGGTGGTCAAG TGCTGACCGTGTGCTCAGGACTGGCTGACGCAAGCAAGGATCAAGTCAAG GTCAAGTAAAGGACTGCTCAGGAGTGGCTGAGAGGAGGATCTCCAGGCTAAA GGCAGCCCGGAGACCTCAGGTGTACACCTGCTCCAGCCAGGAGGATG ACCAAGACCAAGTGGCTGACCTGCTGGTGAAGGATTTCTACCTCCGAC ATCCGCTGGAGTGGAGTCAACGGCCAGCCGAGAACAAATTATAGACCAAC CTCCGCTCTGACAGGAGGATCTCTTCTTCTGACTCCAGGCTGACCGTG GATAAGTCCAGGTGGAGGAGGCAACGTTTCACTGCTGCTGCTGATGACCGAG GCCCTGCACAATCACTACACCCAGAGTCCCTGAGCCTGCTCCCTGGGAAAG QGIRRW
354	416E01 - CDRL2 (IMGT)		GAS
355	416E01 - CDRL3 (IMGT)		QQANSFPIT
356	416E01 - CDRL1 (Kabat)		RASQGIRRWLA
357	416E01 - CDRL2 (Kabat)		GASSLQS
358	416E01 - CDRL3 (Kabat)		QQANSFPIT
359	416E01 - 軽鎖可変領域		DIQMTQSPSSVSASVGRVTITCRASQGIRRWLAWYQQKPKAPKLLISGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLITSLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGRLEIK

10

20

30

40

50

【表 7 1】

360	416E01-軽鎖可変領域	416E01のV _L の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCGGTGTGCACTCTGTAGGAGACAGA GTCACATCACTTGTGGCGAGTCAGGGTATTAGGAGTGGTGTAGCTGGTAT CAGCAAAACAGGGAAGCCCTAACTCTCTGATCTCTGTGTCATCCAGTTTG CAAAGTGGGTCCCATCAAGGTTACGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCATCAATACCACTGTCAGCCTGAAGATTTTGAACCTTACTATTGTCAACAGG CTAACAGTTCCCGATCACCTTCGGCAAGGACACGACTGGAGATCAAAC
361	416E01-完全軽鎖配列	416E01軽鎖のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGRVTITCRASQGRIRWLAWYQQKPKAPKLISGASLSQS GVPRFSGSGTDFLIITSLQPEDFATYYCQANSPFTFGQGRLEIKRTVAAP SVFIIPSPDEQLKSGTASWCLLNFPYREAVKQWIKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
362	416E01-完全軽鎖配列	416E01軽鎖の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCGGTGTGCACTCTGTAGGAGACAGA GTCACATCACTTGTGGCGAGTCAGGGTATTAGGAGTGGTGTAGCTGGTAT CAGCAAAACAGGGAAGCCCTAACTCTCTGATCTCTGTGTCATCCAGTTTG CAAAGTGGGTCCCATCAAGGTTACGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT CTCATCAATACCACTGTCAGCCTGAAGATTTTGAACCTTACTATTGTCAACAGG CTAACAGTTCCCGATCACCTTCGGCAAGGACACGACTGGAGATCAAACGTA CGGTGGCGCTCCCTCGTGTCTCTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGT CCGGACCGCTTCTGTGTGTGCTGCTGAACAATTTTACCCCGCGAGGCCA AGTGCAGTGGAGGTGGCAAGCCCTGCACTCGGCACTCCAGGAAATCCG TGACCGAGCAGGACTTCAAGGACAGCACCTACTCCCTGCTCCACCCCTGACCC TGTCAAAGGGCGACTACGAGAGCAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACCCACC AGGCCTGTCTAGCCCCGTACCAAGTCTTTCAACCGGGCGAGTGT GYTFTFG
363	STIM001 - CDRH1	IMGTを使用したSTIM001のCDRH1のアミノ酸配列	ISAYNGDT
364	STIM001 - CDRH2	IMGTを使用したSTIM001のCDRH2のアミノ酸配列	ARSSGHYYYYGMDV
365	STIM001 - CDRH3	IMGTを使用したSTIM001のCDRH3のアミノ酸配列	QVQVQSGAEVKPGASVK/SCKASGYTFSTFGTIVRQAPGQGLEWMGWISAY NGDTNVAQNLQGRVIMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVVYCARSSGHYYYYGM DVWGQGTITVTVSS
366	STIM001-重鎖可変領域	STIM001のV _H のアミノ酸配列	CAGGTTCAAGTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGT GAAGGTCCTCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTCCACCTTTGGTATCACCTGG GTGCGACAGGGCCCTGGACAAGGGCTTGAATGGATGGGATGATCAGCGCTTA CAATGGTGACAAACATATGCACAGAACTCCAGGGCAGAGTCAATGACAC AGACACATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGA
367	STIM001-重鎖可変領域	STIM001のV _H の核酸配列	

10

20

30

40

50

【表 7 2】

368	STIM001-完全重鎖 配列	STIM001重鎖のアミノ酸配列	CACGGCCGTTTATTACTGTGCGAGGACGAGTGGCCACTACTACTACGGTAT GGACGTCTGGGCGCAAGGGACACCGGTACCGTCTCCTCA QVWQSGAEVKPGASVKVSKASGYTFSTGTTWVRQPGQGLEWMGWISAY NGDTNYAQNLRVIMTTDTSTSTAYMELSLRSDTAVYVCARSSGHYYGYM DWVGQTTVTYSSASTKGPSVFLPLAPSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPTVSWN SGALTSVHTFPFVAVLQSSGLYSLSSTVTPSSSLGTQYICNVNHPKSTKVDKVE PKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTRPEEQNYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIETKSKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQ KSLSPGK
369	STIM001-完全重鎖 配列	STIM001重鎖の核酸配列	CAGGTTTCAGGTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAGCCTGGGGCCTCAGT GAAGGTCTCTGGAAGGCTTCTGGTTACACCTTTCCACCTTTGGTATCACCTGG GTGCGACAGCCCTGGACNAAGGCTTGAATGGATGGAGTGCATCAGCGCTTA CAATGGTGACACAACTATGACAGAACTCTCCAGGCGAGTGCATCATGACAC AGACATCCAGGACAGCCTACATGAGCTGAGGAGCTGAGATCTGACGA CAGGCGGTTTATTACTGTGCGAGGAGCAGTGCCACTACTACTACGGTAT GGACGTCTGGGCGCAAGGACACGGTCCCTCTCCTCAGCAGCAGCAAGGG CCCTCTGTGTTCCCTCTGGCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGAACAGC CGCTCTGGGCTGCTCGTGAAGACTACTTCCCGAGCTGTGACCGTGTCTCTG GAAGGTGGAACCAAGTCTTGGACAGGAGTGCACCTTCCCTGCTGTGCTGCTG CTCGGCTGTACTCCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CACCAGCTACATCTGCAACGTGAACAGCAAGCCCTCCAAACCAAGGTGGAC AAGAGGTGAACCAAGTCTTGGACAGGAGTGCACCTTCCCTGCTGTGCTGCTGCTG GCCCTGAAGTCTGCGGAGCTTCCGTTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG GACCCCTGATGATCTCCCGACCCCGAGTGACCTGCGTGGTGGTGGTGGTGGTGG TCCACGAGGACCTGAAGTGAAGTTCAATTTGGTACGTGGAGCGGTGGAGTGG CACAAGCCAGCAAGCCTAGAGAGGAGCAGTACAACTCCACCTACCGGGTG GTGTCGTGTGACCGTGTGACCCAGGATTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAAG TGCAAGGTGTCACAAGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG GCCAAGGCGCAGCCCGGGAACCCAGGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGAC GAGCTGACCAAGAACCAAGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAGGCTTCTACCCC TCCGATATCGCGGTGAATGGAGTCCAAAGGCGAGCTGAGAACAACTACAAG ACCACCCCTGTGCTGAGCTCGAGGGCTCATTTCTCTGTACAGCAAGCTG ACAGTGAACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGCAAGCTGTTCTCTGCTCGGTGATG CAGAGGCGCTTGCAACCACTACACCCAGAGTCCCTGCTGCTGAGCCCCGGC AAGTGA TGA

10

20

30

40

50

【表 7 3】

[illegible]

【表 7 4】

[illegible]

【表 7 5】

[illegible]

【表 7 6】

391	STIM002-B - CDRH1		ctactcctctctccaccctgaccctgtctcaagcccgactacgagagacacagggtgtagcctcgcgaagtgtagccaccacagggcctgtctagcccgtagcccaagctcttcaaccgggagagtggtggtfysyg
392	STIM002-B - CDRH2	IMGTを使用したSTIM002-BのCDRH1.1のアミノ酸配列	ISAYNGNT
393	STIM002-B - CDRH3	IMGTを使用したSTIM002-BのCDRH1.2のアミノ酸配列	ARSTYFYGSGTLYGMDV
394	STIM002-B - B-重鎖可変領域	IMGTを使用したSTIM002-BのCDRH1.3のアミノ酸配列	QVQLVQSGGVEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYGFSWRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYCARSTYFYGSGTLYGMDVWGQGTITVSS
395	STIM002-B - B-重鎖可変領域	STIM002-BのV _H の核酸配列	CAGGTTCACTGGTGCAGTCTGGAGGTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTTTCAGCTGGTGGACAGGCCCTGGACAAGACTAGAGTGGATGGATGGATGATCAGCGCTTACATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCA CAGACACATCCACGAGCACAGCTACATGGAGCTGAGGAGCTTGAGATCTGACG ACAGGCCGTGATTTACTGTGGAGATCTACGTATTTCTATGTTCTGGGGACCC TCTACGGTATGGAGCTCTGGGCCAAGGACACCGTCAACCTCTCTCTCA
396	STIM002-B - B-完全重鎖配列	STIM002-B重鎖のアミノ酸配列	QVQLVQSGGVEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYGFSWRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYCARSTYFYGSGTLYGMDVWGQGTITVSSASTKPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSMHEALHNHYTKSLSLSPGK
397	STIM002-B - B-完全重鎖配列	STIM002-B重鎖の核酸配列	CAGGTTCACTGGTGCAGTCTGGAGGTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTTTCAGCTGGTGGACAGGCCCTGGACAAGACTAGAGTGGATGGATGGATGATCAGCGCTTACATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCA CAGACACATCCACGAGCACAGCTACATGGAGCTGAGGAGCTTGAGATCTGACG ACAGGCCGTGATTTACTGTGGAGATCTACGTATTTCTATGTTCTGGGGACCC TCTACGGTATGGAGCTCTGGGCCAAGGACACCGTCAACCTCTCTCTCAAGCCA GCACCAAGGGCCCTCTGTGTTCCCTCTGGCCCTCCAGCAAGTCCACCTCTG GCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCTGTAAGGACTACTTCCCGAGCCTGTGA

10

20

30

40

50

【表 7 7】

[illegible]

【表 7 8】

404	STIM002-B-完全 軽鎖配列	STIM002-B-軽鎖の核酸配列	GATATTGTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCCACCCCTGGAGAGCGCG GCCTCATCTCTCGAGGTCTAGTCAGAGCCTCTCTGCATGTGATGATGATACAA TGTGTTGATTGTTAGTCTGAGAACCCAGGCGAGTCTCCACAGCTCTCTGATCTAT TTGGTTTCTACTCGGGCTCCGGTTCCCTGACAGGTTCTAGTGGCAGTGGATCA GGCACAGATTTTACACTGAAATTCAGCAGAGTGGAGGCTGAGAGTGTGGGGTT TATTACTGATGCAAGCTCTACAACTCCGTGCGACTTTTGGCCAGGACCAAG CTGGAGATCAAAGtacgggagcgctccctcggtgttcatcttccctccacagagcagtgaa gtccggcacgctctgtctgtctgtgaacaactctaccccgagagcgagcagagcacagcac gtgacaacgctcgtcagtcggaactccaggaaatcgtgacccgagcagagcagagcacagcac ctactcctgtctccaccctgaccctgtccaagcgactacgagagacacaaagtgatcgctcgaa gtgacccaccagggcctgtgagcccggtaccaggtcttcaacggcgaggtgaggtg
405	STIM003-CDRH1	IMGTを使用したSTIM003の CDRH1のアミノ酸配列	GVTFDDYG
406	STIM003-CDRH2	IMGTを使用したSTIM003の CDRH2のアミノ酸配列	INWNGGDT
407	STIM003-CDRH3	IMGTを使用したSTIM003の CDRH3のアミノ酸配列	ARDFYGGSSYHVHPFDY
408	STIM003-重鎖可変 領域	STIM003のV _H のアミノ酸配列	EVQLVESGGGVVPRPGSLRLSCVASGVTDDYGMMSVWRQAPKGLWVSGINWN GGDTYSDSWKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCARDYFGSGSYHV PFDYWGQGLITVVS
409	STIM003-重鎖可変 領域	STIM003のV _H の核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGAGTCTGGGGGAGGTGTGTGTACGGCTGGGGGGTCCCT GAGACTCTCTGTGTAGCCTCTGGAGTCACCTTTGATGATTATGGCATGAGCTG GGTCCGCAAGCTCCAGGAAGGGCTGGARTGGGTCTCTGGTATTATTTGGA ATGGTGGGACACAGATTTCAGACTCTGTAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAGCCCAAGAACTCCCTGTATCTACAAATGAATAGTCTGAGAGCCGAGG ACACGCGCTTGTATTACTGTGCGAGGATTTCTATGTTCTGGGAGTTATTATC ACGTTCTTTTGACTACTGGGGCCAGGAATCTGTGTCACGTCTCTCTCA
410	STIM003-完全重鎖 配列	STIM003重鎖のアミノ酸配列	EVQLVESGGGVVPRPGSLRLSCVASGVTDDYGMMSVWRQAPKGLWVSGINWN GGDTYSDSWKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCARDYFGSGSYHV PFDYWGQGLITVVSASTKPSVFLPAPSSKSTSGTAAALCLVKDYFPEPTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWTPVPSSTGTQTYTCNVNHPKSTNKVDKK VEPKSCDKTHCTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSMHEALHNHYT OKSLSI SPKG

40

[illegible]

【表 80】

				AGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTTCAGTGGCGATGGGTCTGGGACAGACTTC ACTCTCTCCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAAC AGTATGATATGCACCATTCACCTTCGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAA
417	STIM003 - 完全軽鎖 配列		STIM003 軽鎖のアミノ酸配列	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSRSLAWYQQKRGQAPRLITYGASSRAT GIPDRFSGDSGTDFLTSLRLEPEDFAVYCHQYDMSPFTFGPGTKVDIKRTVAAP SVFIFFPDEQLKSGTASWCLLNFFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSTLTLSKADYEHKHYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
418	STIM003 - 完全軽鎖 配列		STIM003 軽鎖の核酸配列	GAAATTGTGTGAGCGAGTCTCAGGGACCTGTCTTGTCTCCAGGGGAAAGA GCCACCTCTCTGCAGGGCCAGTCCAGAGTGTAGCAGAAGCTACTAGCCTGG TACCAGCAGAAACGTGGCAGGCTCCAGGCTCTCATCTATGTCATCCAGC AGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTTCAGTGGCGATGGTCTGGGACAGACTTC ACTCTCTCCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAAC AGTATGATATGTACCATTCACCTTCGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAAAG tacggtgcctcctcgtgttcttccaccttcgagcagcagtgaaagtcgacccgtctctg gtgtcctgtgaacaattctaccccgaggaagcagtgagtgaggaagcagcagcagcagc tcggcaactccaggaatcgtgacgagcaggaactcaagcagcagcagcagcagcagcagc tgacctgttcaaggccgactacgagacagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc ctagcccgtagaccagcttcaaccggggcgagtg GLTFDDYG
419	STIM004 - CDRH1		IMGTを使用したSTIM004の CDRH1のアミノ酸配列	
420	STIM004 - CDRH2		IMGTを使用したSTIM004の CDRH2のアミノ酸配列	INWNGDNT
421	STIM004 - CDRH3		IMGTを使用したSTIM004の CDRH3のアミノ酸配列	ARDYYGSGSYNVPFDY
422	STIM004 - 重鎖可変 領域		STIM004のV _H のアミノ酸配列	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGLTFDDYGMISWVRQVPGKLEWWSGINWN GDNITDYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDYYGSGSYNV PFDYWGQGTLVTVSS
423	STIM004 - 重鎖可変 領域		STIM004のV _H の核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGTGTGGTACGGCCTGGGGGGTCCCT GAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGACTCACCTTTGATGATTAATGGCATGAGCTG GGTCCGCCAAGTTCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCTGGTATTAATTGGA ATGGTGATAACACAGATTATGCAGACTCTGTAAGGGCCGATTACCATCTCCA GAGACACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAATGAACAGTCTGAGAGCCGAGG ACAGCCCTTGTATTACTGTGCGAGGGAATTAATATGTTCTGGGAGTTATTA ACGTTCTTTTACTACTGGGGCAGGAAACCTGGTCAACCTCTCTCTCA EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGLTFDDYGMISWVRQVPGKLEWWSGINWN GDNITDYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDYYGSGSYNV
424	STIM004 - 完全重鎖 配列		STIM003 重鎖のアミノ酸配列	

10

20

30

40

50

【表 8 1】

			PFYWGQGLTVVSSASTKGPSVFPILAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVAVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKHTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVDVSHEDP EVKFNWYDGVFNHAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNKEYKCKVSN KALPAIEKTTISKAGQPREQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT QKLSLSPGK
425	STIM004-完全重鎖配列	STIM004重鎖の核酸配列	GAGTGCAGCTGGTGGAGCTCTGGGGGAGGTGTGGTACGGCCTGGGGGGTCCCT GAGACTCTCTGTGAGCCTCTGGACTCACCTTTGATGATTATGGCATGAGCTG GGTCGCCCAAGTTCAGGAAGGGGCTGGAGTGGTCTCTGGTATTAATTGGA ATGGTATAACACAGATTATGACACTCTGTGAAGGGCGATTACCATCTCCA GAGACAAGCCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAATGAACAGTCTGAGAGCCGAGG ACACGGCTTGTTATTACTGTGCGAGGATTACTATGTTTCGGGAGTTATTATA ACGTTCTTTTACTACTGGGGCAGGAACTTGTGACCGTCTCTCTCAGCCA GACCAAGGGCCCTCTGTCTCTCTGGCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTG GCGAACAGCCGCTCTGGGCTGCTGTGAAGGACTTCTCCCGAGCCTGTGA CCGTGCTGGAACTCTGGGCTCTGACCGGAGTGCACACCTTCCCTGCTG TGCTGCAGTCTCCGGCTGTACTCCCTGTCTCTCCGTCTGACCGTGCCTTCCA GCTCTGGGCAACAGACCTTACATCTGCAACGTGAACCAAGCCCTCCAACAC CAAGTGGACAAGAGGTGGAACTTGTGGGGGACCTTCCGTCTCTCTGTTCCCTCC CCCTTGTCTCCCTGAACTGTGGGGGACCTTCCGTCTCTCTGTTCCCTCC AAGCCCAAGGACACCTGTATCTCCCGACCCCGAAGTGAAGTGCCTGGTGT GGTGGATGTCTCCAGGACCTTGAAGTGAAGTCAATTGGTACGTGGACG GCGTGAAGTGCAACGCCAAGCAAGCTTAGAGAGGAACAGTACAACCTCA CCTACCGGGTGTCTCCGTGTACCGTGTCTGACAGGATTTGGTGAACGGCA AAGGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAGGCTGTCTGCCCCCATCGAAAGA CCATCTCAAGGCCAAGGCCAGCCCGGGAACCCAGGTGTACACACTGCCCTC CTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACAGGTGTCTGACCTGTCTGTGAAG GCTTACCTCTCGATATCGCGTGGAAATGGGAGTCCAAGGCCAGCCTGAGA ACAATAAGACACCCCTCTGTCTGGACTCCGAGGCTCATTTCTCTGTGA CAGCAAGCTGACAGTGGCAAGTCCGGTGGCAGGCGCAACGTGTCTCTCTG CTCCGTGATGACGAGGCTGTGCAACCACTACACCCAGAAAGTCCCTGTCTCT GAGCCCCGGAAGTATGA
426	STIM004-CDRL1	IMGTを使用したSTIM004のCDRL1のアミノ酸配列	QSVSSSY
427	STIM004-CDRL2	IMGTを使用したSTIM004のCDRL2のアミノ酸配列	GAS

10

20

30

40

50

【表 8 2】

428	STIM004 - CDRL3	IMGTを使用したSTIM004のCDRL3のアミノ酸配列	QYGSF
429	STIM004 - 修正軽鎖可変領域	STIM004の修正V _L のアミノ酸配列	EVLTSPTLSLSPGERATLSRASQSVSSSYLAWYQKPGQAPRLLYGASSRAT GIPDRFSGSGTDFLTIRRLPEDFAVYCCQYGSPPFGPGTKVDIK
430	STIM004 - 修正軽鎖可変領域	STIM004の修正V _L の核酸配列	GAATTGTTGACGCGAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGA GCCACCTCTCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGG TACCAGCAGAAACCTGGCAGGCTCCAGGCTCCTCATATATGGTCATCCAGC AGGCCACTGGCATCCAGACAGTTTCAGTGGCAGTGGTCTGGACAGACTTC ACTCTCACCATCAGAAAGACTGGAGCTGAAGATTTTCAGTGTATTACTGTGAG CAGTATGGTAGTTACCATTTCTGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAA
431	STIM004 - 軽鎖可変領域	STIM004のV _L の核酸配列	GAATTGTTGACGCGAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGA GCCACCTCTCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGG TACCAGCAGAAACCTGGCAGGCTCCAGGCTCCTCATATATGGTCATCCAGC AGGCCACTGGCATCCAGACAGTTTCAGTGGCAGTGGTCTGGACAGACTTC ACTCTCACCATCAGAAAGACTGGAGCTGAAGATTTTCAGTGTATTACTGTGAG CAGTATGGTAGTTACCATTTCACTTCGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAA
432	STIM004 - 完全修正軽鎖配列	STIM004軽鎖のアミノ酸配列	EVLTSPTLSLSPGERATLSRASQSVSSSYLAWYQKPGQAPRLLYGASSRAT GIPDRFSGSGTDFLTIRRLPEDFAVYCCQYGSPPFGPGTKVDIKRTVAAPS VFIFPSDEQLKSGTASWCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSTLTLSKADYEHKHYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
433	STIM004 - 完全修正軽鎖配列	修正STIM004軽鎖の核酸配列	GAATTGTTGACGCGAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGA GCCACCTCTCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGG TACCAGCAGAAACCTGGCAGGCTCCAGGCTCCTCATATATGGTCATCCAGC AGGCCACTGGCATCCAGACAGTTTCAGTGGCAGTGGTCTGGACAGACTTC ACTCTCACCATCAGAAAGACTGGAGCTGAAGATTTTCAGTGTATTACTGTGAG CAGTATGGTAGTTACCATTTCTGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAAcgtg cggggcgcctccctcgtgttctatctccacctccgacgagcagctgaagtcgacccgctctgtg tgtctgtgaacaacttctatccccgcgagccaagggtgagtggaaggtggaacgacctgtcgt ccggcaactccaggaaatcgtgacgagcagagctccaaggacagcacctactcctgtctccacct gacctgtccaaggcgcactacgagaagaagtgtagcctgtagagtgagccaccagggcctgt ctagccctgagccaagctcttcaaccggcgagtggt
434	STIM004 - 完全軽鎖配列	STIM004軽鎖の核酸配列	GAATTGTTGACGCGAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGA GCCACCTCTCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGG TACCAGCAGAAACCTGGCAGGCTCCAGGCTCCTCATATATGGTCATCCAGC AGGCCACTGGCATCCAGACAGTTTCAGTGGCAGTGGTCTGGACAGACTTC ACTCTCACCATCAGAAAGACTGGAGCTGAAGATTTTCAGTGTATTACTGTGAG CAGTATGGTAGTTACCATTTCACTTCGGCCCTGGGACCAAGTGGATATCAAAcgtg cggggcgcctccctcgtgttctatctccacctccgacgagcagctgaagtcgacccgctctgtg tgtctgtgaacaacttctatccccgcgagccaagggtgagtggaaggtggaacgacctgtcgt ccggcaactccaggaaatcgtgacgagcagagctccaaggacagcacctactcctgtctccacct gacctgtccaaggcgcactacgagaagaagtgtagcctgtagagtgagccaccagggcctgt ctagccctgagccaagctcttcaaccggcgagtggt

10

20

30

40

50

【表 8 4】

			ACACGGCCGTGATTACTGTGCGAGAGGGTTACGATATTTTACTGATTTT CCGATGCTTTTGATATCTGGGGCCACGGGACAAATGGTACCGTCTCTTCA GCCAGCAAGGGCCCTCTGTGTTCCCTGGCCCTTCCAGAAAGTCCACC TCTGGGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCCTGTAAGGACTACTTCCCGAGCCT GTACCGTGTCTGGAATCTGGGCTGTGACAGGGAGTGACACCTTCCCT GCTGTGTCAGTCTCGGCTGTACTCCTGTCTGCTGCTGACCGTGGCT TCCAGCTCTCTGGGCAACAGACCTACATCTGCAAGTGAACCAAGCCCTCCA ACCAAGGTGGACAAGAGGTGGAACCAAGTCTGCAACAGACCCACACT GTCCCTTGTCTGCTGCTGAACTGTGGGGGACCTTCCGTGTTCTGTTCC CCCCAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCGAAGTGACCTGG TGGTGGTGGATGTCCACAGGACCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGG ACGGGTGGAAGTGCAACAGCCCAAGCAAGCTAGAGAGGAACAGTACAAT CCACTACCGGTGGTGTCCGTGTGACCGTGTGACAGGATGGCTGAACG GCAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAAAGGCTGCTGCCCATCGAAA AGCATCTCCAGGCCAAGGGCAGCCCGGGAACCCAGGTGTCCGTGACACTGC CCCTAGCAGGGACGAGTGACCAAGAACCAAGGTGTCCGTGACCTGTCTCGTA AAGCTTCTACCCCTCCGATATCGCGTGGAAATGGAGTCCAACGGCCAGCTG AGAACCTACAAGACACCCCTGCTGTGAGTCCGACGGCTCATTTCTCT GTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGTGGCAGAGGGCAACGTGCTC CTGCTCGTGTGACAGAGGCTGCAACCAACTACACCCAGAAAGTCCCTGTC CCTGAGCCCGCAAGTGATGA
442	STIM005 - CDRL1	IMGTを使用したSTIM005の CDRL1のアミノ酸配列	QNINNF
443	STIM005 - CDRL2	IMGTを使用したSTIM005の CDRL2のアミノ酸配列	AAS
444	STIM005 - CDRL3	IMGTを使用したSTIM005の CDRL3のアミノ酸配列	QQSYGIPW
445	STIM005 - 軽鎖可変 領域	STIM005のV _L のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQNNINFLNFWYQQKEGKPKLLIYAASSLQR GIPSTFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYICQQSYGIPWVGQGTKVEIK
446	STIM005 - 軽鎖可変 領域	STIM005のV _L の核酸配列	GTACCATCACTTCCGGGCAAGTCAGAACATAATACTTTTAAATTGGTATC AGCAGAAAGAGGGAAGCCCTAAGCTCTGATCTATGCAGCATCCAGTTTGC AAAGAGGATACCATCAAGTTTCAGTGGCAGTGGAGTGGGACAGACTTCACTC TCACCATCAGAGTGTCAACCTGAAGATTTTGAACCTTACATCTGTCAACAGAG CTACGGTATCCCGTGGTGGCCCAAGGGACCAAGGTGGAATCAAA
447	STIM005 - 完全軽鎖 配列	STIM005 軽鎖のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQNNINFLNFWYQQKEGKPKLLIYAASSLQR GIPSTFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYICQQSYGIPWVGQGTKVEIK

10

20

30

40

50

【表 8 5】

448	STIM005-完全軽鎖配列	STIM005 軽鎖の核酸配列		RTAAPSVFIPPPDEQLKSGTASWCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCCTGCTCGATCTGTAGGAGACAGAGATC GTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAAGACATTAATAACTTTTTAAATTTGGTATC AGCAGAAAGGAGGAAAGCCCTAAGCTCTGATCTATGCAGCATCCAGTTTGC AAGAGGATACCATCAACGTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGACTTCACTC TACCATCAGAGCTTGCACCTGAAGA TTTTGCACCTTACATCTGTCAACAGAG CTACGGTATCCCGTGGGTCGGCAAGGGACCAAGTGGAAATCAAAAGTACGGTg ccgtccctccgtgtatcttccaccttcgacgagcagctgaagtcgagccgcttctgtgtgct gtgaacacattcttaccgccgagccgaggtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgag actccaggagatcgtgacgagcaggaactcgaaggacagcacctactcctgtctccacctgaccc gtccaggccgactcgaagacacagggtacgctgacgctgacgagtgacacacagggcctgtctgaccc ccgtgacacagcttctcaaccgggctgagtgctg
449	STIM006-CDRH1	IMGTを使用したSTIM006のCDRH1のアミノ酸配列		GFTFSDYF
450	STIM006-CDRH2	IMGTを使用したSTIM006のCDRH2のアミノ酸配列		ISSSGSTI
451	STIM006-CDRH3	IMGTを使用したSTIM006のCDRH3のアミノ酸配列		ARDHYDGGSGIPLYYYGLDV
452	STIM006-重鎖可変領域	STIM006のVHのアミノ酸配列		QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYFMNWIRQAPKGKLEWISYISSSGSGSTIYADSVRGRFTISRDNKASYLYQMNSLRSEDTAVYVCARDHYDGGSGIPLYYYGLDWVGQGTITVTVSS
453	STIM006-重鎖可変領域	STIM006のVHの核酸配列		CAGGTGACGCTGGTGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCTTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCTGTGACGCTCTGGATTCACTTCACTTCACTTCACTGAGCTGATCCGCCAGCGCCAGGAGGCGCTGGAGTGGA TTTTATACATAGTTCTAGTGTAGTACCATATACGACAGACTCTGAGGGGCCAGTTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGTACTCACTGTATCTGCAATGAACAGCTGAGATCCGAGGACACGGCCGTATTA TCTGTGCGAGAGATCACTAGCATGTTTCGGGGATTTATCCCTCTACTACTATTACGGTTTGGACGCTCTGGGGCCAGGGGACCAACGGTCAACCGTCTCTCA
454	STIM006-完全重鎖配列	STIM006 重鎖のアミノ酸配列		QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYFMNWIRQAPKGKLEWISYISSSGSGSTIYADSVRGRFTISRDNKASYLYQMNSLRSEDTAVYVCARDHYDGGSGIPLYYYGLDWVGQGTITVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWTPVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCTCPCPAPPELLGGPVF LPPPKKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKENVYVDQGVVEVHNAKTKPRFEQYNSTYRVSW TMLHODWVNGKEYKKCVSN

【表 86】

455	STIM006 - 完全重鎖配列	STIM006 重鎖の核酸配列	KALPAPIETTSKAKGQREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSPGK CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCTGTGCAGCTCTGGATTACCTTCAGTGAAGTACTTATCATAGTCTGATGATCCGAGGCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGATTTCATACATTAGTTCCTAGTGGTAGTACCATATACAGCAGACTCTGTGAGGGGCCGATCACCATTCCAGGGACACGCCAAGTACTCACTGATCTGCAAAAGAAGCCTGAGATCCAGGACACGGCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCACTACGATGGTTCGGGATTATATCCCTCTACTACTATTAGGTTTGGAGCTTGGGGCCAGGGACACCGGTACCCGTCTCTCAGCAGCACCAAGGCCCTCTGTGTCTCTCTGGCCCTTCCAGCAAGTCCACTCTGGCGAACAGCCGCTCTGGGCTGCTGTGAAGGACTACTTCCCGAGCCTGTGACCGTCTCTGGAACTCTGGCGCTCTGACCAAGCGGAGTGCACACCTTCCCTGTGTGCTGAGTCTCTGGCCCTGTACTCTCTCTCTCGTCTCGTGACCGTGCTTCCAGCTCTCTGGGCAACCCAGACTTACATCTGCAAGCTGAACCAAGGCCCTCAACACCAAGGTGGAAGGTGGAACCCAAAGTCTCTCGCAAGACCCACACTGTCCCCCTTGTCTGCCCTGAACTGTCTGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTCCCCCAAGCCAGGACCCCTGATGATCTCCCGGACCCCGGAAGTGACCTGGTGGTGGATGTCTCCAGAGGACCTGAAGTGAAGTTCAATTGTACGTGGACGGCGTGGAGTGCACAAACCCCAAGCCTAGAGAGGAACAGTAACTCCACCTACCGGGTGTCTCCGTGCTGACCGTGTGACCAAGGATTGGCTGAAGCGCAAGAGTGAAGGTGTCAACAGGCCCTGCTGCCCCCATCGAAAGACCATCTCAAGGCCAAGGCCAGCCCGGGAAACCCAGGTGTACACTGCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACAGGTGTCTGTGACCTGTCTGTGAAAGGCTTACCCCTCCGATATGCCGTGGAATGGAGTCCAAAGGCCAGCTGAGAACCACTACAAGACCAACACCCCTGTGTGCTGGACTCCGACCGCTCATTTCTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCGTGTGATGACAGGAGGCCCTGCAACACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCCCCGGCAAGTGATGA
456	STIM006 - CDRL1	IMGTを使用したSTIM006のCDRL1のアミノ酸配列	QSLHNSGNY
457	STIM006 - CDRL2	IMGTを使用したSTIM006のCDRL2のアミノ酸配列	LGS
458	STIM006 - CDRL3	IMGTを使用したSTIM006のCDRL3のアミノ酸配列	MQALQTPRS
459	STIM006 - 軽鎖可変領域	STIM006のVLのアミノ酸配列	IVMTQSPSLPVTTPGEPASISCRSSQSLHNSGNYLDYYLQKPGQSPQLLYLGSYRASGYPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYCMQALQTPRSFGQGTILEIK

10

20

30

40

50

40

50

【表 8 8】

468	STIM007-完全重鎖 配列	STIM007重鎖のアミノ酸配列	GACAGCCACATATTTCTGTACACAGGATATGGTTCGGGAGTTATTACCACT ACGGTATGGACGTCTGGGSCCAAGGACCACGGTACCCGTCTCTCA QITLKESPTLVKPTQLTLCTFSGSLTITGVGVWIRPPGKALEWLAIVYWD DDKRYSPSLKSLRTTKDTSKNQVWLTMNMDPVDATYFCTHGYGSASYHYGM DVWGQGTTVTVSSASTKPSVFLPSSKSTSGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSVHTFPVAVLQSSGLYSLSVTVPSLSLGTQYICNVNHPKSNK/DKRYE PKSCDKHTHTCPAPPELLGGPSVFLPDKDTLMISRTPETVTVVWVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIETSKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSMHEALHNHYTQ KSLSPGK
469	STIM007-完全重鎖 配列	STIM007重鎖の核酸配列	CAGATCACCTTGAAGGAGTCTGGTCTACGGCTGGTGAACCCACACAGACCTC ACGCTGACCTGCACCTTCTCTGGGTCTCACTAGCACTACTGGAGTGGGTG GGCTGGATCCGTGAGCCCGCCAGGAAGCCCTGGAGTGGCTTGAGTCACTTAT TGGGATGATGATAAGCGCTACAGCCATCTCTGAAGAGCAGACTCACCATCACC AAGGACACCTCCAAACCCAGGTGGTCTTACAATGACCAACATGGACCTGTG GACAGCCACATATTTCTGTACACAGGATATGGTTCGGGAGTTATTACCACT ACGGTATGGACGTCTGGGCCAAGGACCACGGTCAACCTCTCTCA GCCAGCACCAAGGCCCTCTGTCTCTCTGGCCCTTCAGCAAGTCCACC TCTGGCGAACAAGCCCTCTGGCTGGCTCTGTAAGGACTATTCCTCCGAGCCT GTACCGTGTCTGGAAGTCTGGGCTCTGACGAGGAGTGACACCTTCCCT GCTGTGTCAGTCTCGGCTGTACTCTCTCTGCTGCTGACCGTGGCT TCCAGTCTCTGGGACCCAGACTACATCTGCAAGTGAACCAAGCCCTCA ACCAAGGTGGACAAGAGGTGGAACCAAGTCTGCGACAGACCCACACT GTCCCTTGTCTGCCCTGAAGTGTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTC CCCCAAGCCCAAGCACCTGATGATCTCCGGACCCCGAAGTACCTGCG TGGTGGTGGATGTCTCCACGAGGACCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGG ACGGGTGGAAGTGCACAGCCAGACCAAGCTAGAGAGGAACAGTACAACT CCACTACCGGTGGTGTCCGTGTGACCGTGTGACAGGATTTGGCTGAACG GCAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCACAAGGCCCTGCCCCCATCGAAA AGACATCTCAAGCCCAAGGCCAGCCCGGAAACCCAGGTGTACACACTGC CCCCTAGCAGGAGGAGCTGACCAAGAACAGGTGTCTGACCTGTCTGTGA AAGGCTTCTACCTCCGATATCGCCGTGGAAATGGAGTCCACGGCCAGCCTG AGAACAACTACAAGACACCCCTCTGTGTGGACTCCGACGGCTATTCTCTCT GTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGGAGGCAACGTGTCTC CTGCTCCGTGATGACGAGGCCCTGCAACCACTACACCCAGAGTCCCTGTC CCTGAGCCCGGCAAGTATGA

10

20

30

40

50

【表 8 9】

470	STIM007-CDRL1	IMGTを使用したSTIM007のCDRL1のアミノ酸配列	QSVITNY	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVNTYLAHQKPGQAPRLIYDASNRATGIPARFSGSGTDFLTITISLEPEDFAVYQCQRNSWPLTFGGGKVEIK
471	STIM007-CDRL2	IMGTを使用したSTIM007のCDRL2のアミノ酸配列	DAS	
472	STIM007-CDRL3	IMGTを使用したSTIM007のCDRL3のアミノ酸配列	QHRNSWPLT	
473	STIM007-軽鎖可変領域	STIM007のV _L のアミノ酸配列		EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVNTYLAHQKPGQAPRLIYDASNRATGIPARFSGSGTDFLTITISLEPEDFAVYQCQRNSWPLTFGGGKVEIK
474	STIM007-軽鎖可変領域	STIM007のV _L の核酸配列		GAATTTGATTGACACAGTCTCCAGCACCTCTCTTTGCTCCAGGGGAAAGA GCCACCTCTCTCGAGGGCAGTCAGATGTTACCACTATTAGCTTGGCTGGCAC CAACAGAACTCGCCAGGCTCCAGGCTCTCTATGATGCATCCAAACAGG GCCACTGGCATCCAGCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGACAGACTTTCAC CTCACCATCAGCAGCTAGAGCTGAAGATTTTCAGTTTATTACTGTCAGCAC GTAGCACTGGCTCTCACTTCGGCGGAGGACCAAGTGGAGATCAAC
475	STIM007-完全軽鎖配列	STIM007軽鎖のアミノ酸配列		EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVNTYLAHQKPGQAPRLIYDASNRATGIPARFSGSGTDFLTITISLEPEDFAVYQCQRNSWPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIPTDEQLKSGTAVYCLNNFYPREKQVQWYDNLQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSLTLSKADYKHKYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
476	STIM007-完全軽鎖配列	STIM007軽鎖の核酸配列		GAATTTGATTGACACAGTCTCCAGCACCTCTTTGCTCCAGGGGAAAGA GCCACCTCTCTCGAGGGCAGTCAGATGTTACCACTATTAGCTTGGCTGGCAC CAACAGAACTCGCCAGGCTCCAGGCTCTCTATGATGCATCCAAACAGG GCCACTGGCATCCAGCAGGTTTCAGTGGCAGTGGTCTGGACAGACTTTCAC CTCACCATCAGCAGCTAGAGCTGAAGATTTTCAGTTTATTACTGTCAGCAC GTAGCACTGGCTCTCACTTCGGCGGAGGACCAAGTGGAGATCAACAGta cggtgccctccctcgtgtcatctccacttcgacgagcagctgaagtcgacccgctctg tgctgtgtgaacaacttctacccccgagggcgaaggtgacgtgaaggtgaacagccctg ccggcaactcccgaggaatcgtgaccgagcaggaactcgaagacagcactctctctccact gacctgtccaagggtcgtacgagagcacaaggtgtacgtctg-cgaagtgaccaccagggcctgt ctagcccgtagaccaagctcttcaaccgggagcagtggt
477	STIM008-CDRH1	IMGTを使用したSTIM008のCDRH1のアミノ酸配列	GFSLTSGVG	
478	STIM008-CDRH2	IMGTを使用したSTIM008のCDRH2のアミノ酸配列	IYWDDDK	
479	STIM008-CDRH3	IMGTを使用したSTIM008のCDRH3のアミノ酸配列	THYGSASYYHYGMDV	

【表 90】

480	STIM008-重鎖可変領域	STIM008のV ₁₁ のアミノ酸配列	QITLKESGPTLVKPTQTLTLCTCTSGFSLSTSGVGVGWIROPKGALEWLAVIYWD DDKRYSPSLKSRLITTKDTSKNQVLTMTNMDPVDATYFCTHGYGSASYHYGM DWMGQGTIVTVSS
481	STIM008-重鎖可変領域	STIM008のV ₁₁ の核酸配列	CAGTACCTTGAAGGAGTCTGGTCTACGCTGGTGAACCCACACAGACCCCTC ACGCTGACCTGCACCTTCTCTGGGTCTCACTCAGCAGTGTGGAGTGGGTGTG GGCTGGATCCGTAGCCCCAGGAAAGCCCTGGAGTGGCTTGCAGTCAATTAT TGGGATGATAGAGCGCTACAGCCCATCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCAC AAGGACCTCCAAAACAGGTGGTCTTACATGACCAACATGGACCCCTGTG GACACGCCACATATTTCTGTACACAGGATATGGTTGGCGAGTTATTACCACT ACGGTATGGAGCTCTGGGGCCAGGGACACGGTCAACCGTCTCTCTCA
482	STIM008-完全重鎖配列	STIM008重鎖のアミノ酸配列	QITLKESGPTLVKPTQTLTLCTCTSGFSLSTSGVGVGWIROPKGALEWLAVIYWD DDKRYSPSLKSRLITTKDTSKNQVLTMTNMDPVDATYFCTHGYGSASYHYGM DWMGQGTIVTVSSASTKGPSVFLPSSKSTSGTAAAGCLVKDYFPEPTVSWN SGALTSVHTFPVQLQSSGLYSLSWTVPSSSLGTQTYICNVNHPSPNTRVDKKE PKSCDKHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRWSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGPYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
483	STIM008-完全重鎖配列	STIM008重鎖の核酸配列	CAGTACCTTGAAGGAGTCTGGTCTACGCTGGTGAACCCACACAGACCCCTC ACGCTGACCTGCACCTTCTCTGGGTCTCACTCAGCAGTGTGGAGTGGGTGTG GGCTGGATCCGTAGCCCCAGGAAAGCCCTGGAGTGGCTTGCAGTCAATTAT TGGGATGATAGAGCGCTACAGCCCATCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCAC AAGGACCTCCAAAACAGGTGGTCTTACATGACCAACATGGACCCCTGTG GACACGCCACATATTTCTGTACACAGGATATGGTTGGCGAGTTATTACCACT ACGGTATGGAGCTCTGGGGCCAGGGACACGGTCAACCGTCTCTCTCAGCCAGCA CCAAGGCCCTCTGTGTTCCCTCTGGCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCG GAACAGCGCTCTGGGCTGCTGCTGTAAGGACTACTTCCCGAGCCCTGTGACCG TGCTCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACAGCGGAGTGCACACCTTCCCTGTGTGC TGAGTCTCCGGCTGTACTCCCTGCTCTCGTGTGACCGTGTCCAGCT CTCTGGCAGCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCAAGCCCTCCACACCAA GGTGACAAGAGGTGGAACCAAGTCTCTGGACAAGACCAAGCCCTGTCCCTCC TTGTCTGCCCCGAACTGTGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTCCCTCCCAAA GCCAAGGACACCTGTATGATCTCCCGACCCCGAAGTGACCTGCGTGTGTG GGATGTGTCACAGGACCTCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGAGCGGT GGAAGTGACAACGCCAAGACCAAGCTTAGAGAGAACAGTACAACTCCACCTA CCGGGTGGTGTCTGCTGCTGACCGTGTGACACAGGATGGGTGAACGGCAAG

10

20

30

40

50

【表 9 1】

				AGTACAAAGTGAAGGTGTCCAAAGAGGCGCTGCCTGCCCGCATCGAAAGACCA TCTCAAGGCCAAGGGCAGCCCGGGAACCCAGGTGTACACACTGCCCCCTA GCAGGACGAGCTGACCAAGAACAGGTGTCCCTGACCTGTCTGTGAAAGGT TCTACCCCTCCGATATGCCGTGGAA TGGAGTCCAGCGGCGAGCCTGAGAAC ACTACAAGACACCCCGCTGTGCTGACTCCGAGGCTCATCTCTCTGTACAG CAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGGAGGCAACGTGTCTCTGCTC CGTGATGCACGAGGCGCTGCACACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAG CCCCGGCAAGTGATGA
484	STIM008- CDRL1	IMGTを使用したSTIM008の CDRL1のアミノ酸配列		QSVTNY
485	STIM008- CDRL2	IMGTを使用したSTIM008の CDRL2のアミノ酸配列		DAS
486	STIM008- CDRL3	IMGTを使用したSTIM008の CDRL3のアミノ酸配列		QQRSNWPLT
487	STIM008- 軽鎖可変 領域	STIM008のV _L のアミノ酸配列		EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVTNYLAWHQKPGQAPRLITYDASNRAT GIPARFSGSGGTDFLTISLSEPEDFVYQCQRSNWPLTFGGGKVEIK
488	STIM008- 軽鎖可変 領域	STIM008のV _L の核酸配列		GAAATTGTGTGACACAGTCTCCAGCCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGA GCCACCTCTCTGAGGGCCAGTCAGAGTGTACCACTACTAGCCTGGCAC CAACAGAAACCTGGCAGGCTCCAGGCTCTCTATCTATGATGATCCAAACAGG GCCACTGGCATCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTAGAGCTGAAGATTTTGAGTTTATTACTGTGTCAGCAGC GTAGCAACTGGCTCTCACTTTTCGGCGGAGGACCAAGTGGAGATCAAA
489	STIM008- 完全軽鎖 配列	STIM008 軽鎖のアミノ酸配列		EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVTNYLAWHQKPGQAPRLITYDASNRAT GIPARFSGSGGTDFLTISLSEPEDFVYQCQRSNWPLTFGGGKVEIKRTVAAP SVFIPTPDEQLKSGTASVCLINNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
490	STIM008- 完全軽鎖 配列	STIM008 軽鎖の核酸配列		GAAATTGTGTGACACAGTCTCCAGCCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGA GCCACCTCTCTGAGGGCCAGTCAGAGTGTACCACTACTAGCCTGGCAC CAACAGAACTGGCAGGCTCCAGGCTCCAGTCTCATCTATGATGATCCAAACAGG GCCACTGGCATCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGTCTGGGACAGACTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTAGAGCTGAAGATTTTGAGTTTATTACTGTGTCAGCAGC GTAGCAACTGGCTCTCACTTTTCGGCGGAGGACCAAGTGGAGATCAAAcgttac ggtagccgtccctcggttcaacttccaccttcgacgagcagctgaagtcgagccgctctgctg gtgctgtgacacacttctacccccgagggccaggtgcaaggtagtggaacgccccgagtc cggcaacttccagaaatccgtgaccgagcaggtctcaaggacagcactactctctgctccaccctg

10

20

30

40

50

【表 9 2】

				accctgccaggccgactacgagaagcacaagggtagcctgcgaagtgaccaccaggccgtgtct agcccgctgacccaagcttccaacggggcgagctgt
491	STIM009- CDRH1		IMGTを使用したSTIM009の CDRH1のアミノ酸配列	GFTFSDYY
492	STIM009-CDRH2		IMGTを使用したSTIM009の CDRH2のアミノ酸配列	ISSSGSTI
493	STIM009- CDRH3		IMGTを使用したSTIM009の CDRH3のアミノ酸配列	ARDFYDILTDSFYFYGV
494	STIM009-重鎖可変 領域		STIM009のV _H のアミノ酸配列	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGKGLEWNSYISSSGS TIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQINSRAEDTAVYYCARDYDILTDSFYFYG VDVWGQGTTVTVSS
495	STIM009-重鎖可変 領域		STIM009のV _H の核酸配列	CAGGTGAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGTCCT GAGACTCTCTGTGAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTG GATCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGTTCATACATAGTAGTA GTGGTAGTACCATATACGACGACTCTGTGAAGGGCGGATTCACATCTCCA GGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAAATAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATTTTACGATATTTGACTGATAGTC CGTACTTCTACTACGGTGTGGACGCTCTGGGGCAAGGACACGGTCAACGCTCT CCTCA
496	STIM009-完全重鎖 配列		STIM009重鎖のアミノ酸配列	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGKGLEWNSYISSSGS TIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQINSRAEDTAVYYCARDYDILTDSFYFYG VDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFLPAPSSKTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWTVPPSSSLGTQYICNVNIHKPSNTKVDKK VEPKSCDKHTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPETVTVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQQGNVFSCVSMHEALHNHYT QKSLSPGK
497	STIM009-完全重鎖 配列		STIM009重鎖の核酸配列	CAGGTGAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGTCCT GAGACTCTCTGTGAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTG GATCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGTTCATACATAGTAGTA GTGGTAGTACCATATACGACGACTCTGTGAAGGGCGGATTCACATCTCCA GGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAAATAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATTTTACGATATTTGACTGATAGTC CGTACTTCTACTACGGTGTGGACGCTCTGGGGCAAGGACACGGTCAACGCTCT CCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCTCTGTGTTCCCTCTGGCCCTTCCAGCAAGT

10

20

30

40

50

【表 9 3】

498	STIM009- CDRL1	IMGTを使用したSTIM009のCDRL1のアミノ酸配列	CCACCTCTGGCGAAGCAGCGCTCTGGGCTCGCTCTGTGAAGGACTACTTTCCCGGAGCTGTGACCGTCTCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACCAAGGAGTGCAACCTTCCCTGTGCTGAGTCTCCGGCTGTACTCCCTGTCTCCGTGTCGACCGTGCTCCAGCTCTGGCAGCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCAAGCCCTCAACACCAAGGTGACAAGGTGGAACCAAGTCTCTGCGACAAGACCAACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCTGAACTGCTGGCGGACCTTCGTGTCTCTGTCCCCCAAGCCCAAGCACCTGATCTCCGGACCCCAAGTGACCTGCGTGGTGGATGTGCCAGGACCTGAAGTGAAGTTCAATTTGGTACGTGACGGGTGCAACAGCCCAAGCAAGCTAGAGAGCAACAGTACAATCCACCTACCGGTGTCGCTGACCTGACCTGTGCAACAGGATGGCTGAACGCAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCACAAGGCCCTGCTGCCCAAGCAATCTCAAGGCCAAGGCCAGCCCGGAGCAAGCTGTACAACCTAGCAGGACGAGTGACCAAGCAACCAAGCTGTCCTGACCTGTCTGAAAGGCTTACCCCTCCGATATCGCGTGGAGTGGAGTCCAACGGCCAGCTGAGAACAACATAAGACCAACCCCTGTGTGGAATCCGACGGCTCATCTTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGAAGTCCCGTGGCAGCAGGGCAAGTGTTCTCTGCTCGGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAACTCCCTGCTGAGCCCCGCAAGTGATGA
499	STIM009- CDRL2	IMGTを使用したSTIM009のCDRL2のアミノ酸配列	QSLHNSGNYN
500	STIM009- CDRL3	IMGTを使用したSTIM009のCDRL3のアミノ酸配列	LGS
501	STIM009- 軽鎖可変領域	STIM009のV _L のアミノ酸配列	MQALQTPRT
502	STIM009- 軽鎖可変領域	STIM009のV _L の核酸配列	DIVMTQSP _L LPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGNYLDWYLQKPGSPQLLYLGS NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDG _V VYCMQALQTPRTFGQGTKEIK GATTTGTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCCCTCACCCCTGGAGAGCCG GCCTCATCTCTGCAGGTCTAGTCAGGACCTCTGCAAGTATGATGATCAACT ATTTGGATTGTTACTGCAGAGCCAGGCGAGTCTCCACAGCTCTGATCATTT TGGGTTCTAAATCGGGCTCCGGGTCCTCAGCAGGTTCAGTGGCAGTGGATCA GGCAGAGATTTTACACTGAATAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTT TATTACTGCATCGAAGCTTACAACTCTCTGGAGCTTCGGCCCAAGGGACCAAG GTGGAATAATCAAA
503	STIM009- 完全軽鎖配列	STIM009軽鎖のアミノ酸配列	DIVMTQSP _L LPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGNYLDWYLQKPGSPQLLYLGS NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDG _V VYCMQALQTPRTFGQGTKEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLINFPYREAKVQWVDNALQSGNSQESVTE FDSKDSYSL SSIITL SKADYKHKVYACEVTHOGI SSPVTKSENRGEC

【表 9 4】

[illegible]

【表 9 5】

512	シグナルペプチドを有する マウスICOS	マウスICOSのアミノ酸配列（シグナルペプチドに下線が引かれている）	MGWSLILFLVATATGVHSEINGSADHRMFSEHNGGVQISKYPETVQQLKMLRFR EREVLCELTKTKGSGNAVSIKNPMLCLYLHLSNNSVSFFLNNPDSQGSQSYFCSLSIF DPPFEERNLGGYLHIYESQLCCQLKVVQVTE
513	シグナルペプチドを有する カニクイザルICOS	カニクイザルICOSのアミノ酸配列（シグナルペプチドに下線が引かれている）	MKSGLWYFEL FCLHMKVLTG EINGSANYEM FIFHNGGVQI LOKYPDIVQQ FKMQLKGGQILCDLTKTKGSGNKVSIKSLKFCHSQLSNNSVSFFLYNLD RSHANYFCNLISFDPPPKVTLTGGLYHIYESQLCCQLKFWLPIGCATF WVCFGLICWLTKKYVSTVHPNGEYMFRAVNTAKKSRLTGTPP
514	カニクイザルICOS細胞 外ドメイン	カニクイザルICOS細胞外ドメイン のアミノ酸配列	EINGSANYEMFIFHNGGVQILKYPDIVQQFKMQLKGGQILCDLTKTKG SGNKVSIKSLKFCHSQLSNNSVSFFLYNLD RSHANYFCNLISFDPPPK VTLTGGLYHIYESQLCCQLK
515	ヒトICOSリガンド	細胞外ドメインを含むヒトICOSリ ガンドのアミノ酸配列	DTQKEVRAMVGSVDVELSCAPEGSRFDLNDVYVWQTSSEKTVVYHIPQNSSL ENVDSRYNRALMSPAGMLRGDFSLRFNVTPQDEQKFHCLVLSQSLGFQEVLSVE VTLHVAANFSVPWSAPHSPSQDELTFCTCTSINGYPRPNVYWNKTDNSLDDQALQ NDTVFLNMRGLYDVSVLRIRARTPSVNIACCENVLQQLTVGSQTGNDIGERDK ITENPVSTGEKNAATWS
516	ヒトICOSリガンド		MRLGSPGLFLFSSLRADTQKEVRAMVGSVDVELSCAPEGSRFDLNDVYVWQTS SEKTVVYHIPQNSSLENVDSRYNRALMSPAGMLRGDFSLRFNVTPQDEQKFH CLVLSQSLGFQEVLSVEVTLHVAANFSVPWSAPHSPSQDELTFCTCTSINGYPRPNV YWNKTDNSLDDQALQNDTVFLNMRGLYDVSVLRIRARTPSVNIACCENVLQQL LTVGSQTGNDIGERDKITENPVSTGEKNAATWSILAVLCLLVVAVAGWVCRDRC LQHSYAGAWAVSPETELTGHV
517	h1L-2のC末端アミノ 酸配列	R38W変異（太字および下線）を有 するh1L-2のアミノ酸21～133	LQMLNGINNYKNPKLTAMLTFFKYPMPKKA TELKHLQCLEELKPLEEVNLQAQSKN FHLRPRDLISINNVVLELKGSETTFMCEYADETATTFEFLNRWITFCQSIISTLT
518	h1L-2のC末端アミノ 酸配列	R38Q変異（太字および下線）を有 するh1L-2のアミノ酸21～133	LQMLNGINNYKNPKLTQMLTFKYPMPKKA TELKHLQCLEELKPLEEVNLQAQSKN FHLRPRDLISINNVVLELKGSETTFMCEYADETATTFEFLNRWITFCQSIISTLT
519	STIM002-修正軽鎖 可変領域	STIM002の修正V _L の核酸配列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCGTCACCCCTGGAGAGCGG GCCTCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCTGCGATAGTGATGATACAAAC TATTTGGATTGGTACCTGCAGAGCAGGGCAGTCTCCAGAGTCTCTGATCTAT TTGGTTCTACTGGGCCTCGGGTTCCCTGACAGGTTGAGTGGCAGTGATCA GGCACAGATTTTACACTGAAATCAGAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTT TATTTACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCGCTCAGTTTGGCCAGGGGACCAAG CTGGAGATCAAA

10

20

30

40

50

【表 9 7】

523	ヒト IgG 1 定常領域	IGHG1*03	ヒト重鎖定常領域 (IGHG1*03)) スクレオチド配列	CCATCTCAAGGCCAAGGCCAGCCCGGGAACCCAGGTTACACACTGCCCC CTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCGAGTGTCTTCTGACCTGTCTCTGTAAG GCTTCTACCCCTCCGATATCGCGTGGAAATGGGAGTCCAAAGCCAGCCTGAGA ACAACCTACAAGACACCCCTCTGTCTGACTCCGACGGCTCATTTCTCTGTA CAGCAAGCTGACAGTGCAGCAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTG CTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCCT GAGCCCGCGCAAGTGA
524	ヒト IgG 1 定常領域	IGHG1*04	ヒト重鎖定常領域 (IGHG1*04)) スクレオチド配列	gctctcaccaaggcccatggtcttcccttgaccctctctcaagagaccctcttgagggacacg ccctgggtgctctgggtcaaggactcttccgaaaccggtgacggtgtgtaactcagcgccctgac cagcggtgacacacttcccgctgtctacgtctcaggactctactctcctcagcagcggtgac tgccctcagcagcttggccaccagactcactgtcaaggtgaatgaatcagcccgacacacgaag tgacaagagattgagcccaatctgtgaaaaactacacatgccccacgtgccccagactgaact cctgggggaccgtcagcttctcttcccccaaaaccaggaacacctcatgtctccccgacccctg aggtaacatgctgtgtgtgtgacgtgacgaagacccctgtggttcaagttcaactgtacgtgacg gcgtggaggtgcataatgccaagacaagccggtggagagcaglacaaacagcaglacggtgtgt caggtctcaccgtctgtcactcaggtgtgtgaatgcaaggtgacaggtgtcgaaggtgtccaca agccttccagccccctgagaaaaactctcaagccaaaggcagcccggaagcaacacaggtgt acacctgccccatcccggtggagatgaccaagaacccaggtcagctgacctgtctcaaaaggt tctatccagcagatcgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt gctctcgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt agcaggggaacgtctctcgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt ctcctgtctcccggtgaaa A STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS LGQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPC PAPELLGGPSVFLPFPKPKDTHLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
525	ヒト IgG 1 定常領域	IGHG1*04	ヒト重鎖定常領域 (IGHG1*04)) スクレオチド配列	gctctcaccaaggcccatggtcttcccttgaccctctctcaagagaccctcttgagggacacg ccctgggtgctctgggtcaaggactcttccgaaaccggtgacggtgtgtaactcagcgccctgac cagcggtgacacacttcccgctgtctacgtctcaggactctactctcctcagcagcggtgac tgccctcagcagcttggccaccagactcactgtcaaggtgaatgaatcagcccgacacacgaag tgacaagagattgagcccaatctgtgaaaaactacacatgccccacgtgccccagactgaact cctgggggaccgtcagcttctcttcccccaaaaccaggaacacctcatgtctccccgacccctg aggtaacatgctgtgtgtgtgacgtgacgaagacccctgtggttcaagttcaactgtacgtgacg gcgtggaggtgcataatgccaagacaagccggtggagagcaglacaaacagcaglacggtgtgt caggtctcaccgtctgtcactcaggtgtgtgaatgcaaggtgacaggtgtcgaaggtgtccaca agccttccagccccctgagaaaaactctcaagccaaaggcagcccggaagcaacacaggtgt acacctgccccatcccggtggagatgaccaagaacccaggtcagctgacctgtctcaaaaggt tctatccagcagatcgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt gctctcgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt agcaggggaacgtctctcgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt ctcctgtctcccggtgaaa A STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS LGQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPC PAPELLGGPSVFLPFPKPKDTHLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【表 9 8】

526				ヒト重鎖定常領域 (IGHG1*04) タンパク質配列	ASTKGPVFP LAPSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVMNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSWVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPPCP APELLGGPSVFLPPKPKDTLMISRTPETCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTPREEQYNSTRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVL DSGGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHLEAHNHHTYQKLSLSGPK
527	ヒトIGH2*01 & IGH2*03 & IGH2*05	ヒトIGH2定常領域		ヒト重鎖定常領域 (IGHG2*01) スクレオチド配列	gctctaccaggcgccatgcttctccctggcgccctgctccaggagacacctcgagagacagccg cctgggtctcgtgcaagagctactctccgaaccgggtgaggtgtgtggaactcaggcgtctgtac cagcggtgtgacacctctcagctgtctcagctcctgagctactcctcagcagcgtgtgagcg tgccttcagcaactctggcaccagactctacacgtcaacgttagatctacacagcaacacaggg tgacaagacagttgagcgaatgtgtgtgtgaggtccaccgtgcagcaccacctgtgtgagggac cgtagcttctctctcccaaaacccaaagacaccctcagctcctggaccctgagcagcagtgctg tgggtgtgagcgtgagcagaccgaggttcaggttcacgttagctgtgagcggcgtgaggtg catactgccaagacaaagccacgggagcagcttcacagcagcttctgtgtgtgtgtcttacc gtgtgaccaggactgtgacggcaaggagtagaagtgcaaggtcttcacaagaaggctctccagc ccccatgagaaaacatctcraaaacaaaggcgaccgccagaaacacacaggtgtacacctgccc cattccgggaggagatgaccaagaacaggtcagctgacctgtgtgtcgaaggctcttaccaccaagc acatgcgtgaggtgtgagagcaatggcgagccggagagaacactacaagacacacctcctcatgtg gactccgacggtctctctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtgtgagcaggggaac gtctctcatgtctcgtgtagtgaaggctctgtcacaacacatcacgcagagagcagctctctctgtccg ggtaaa
528				ヒト重鎖定常領域 (IGHG2*01) タンパク質配列	ASTKGPVFP LAPSKSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVMNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSWVTPSSNFGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKTVKRCCKVECPCPAPP VAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPETCVVDVSHEDPEVFNWYVDGVEVHNKATK PREEQNSTFRWVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTIISKTKGQPREP QVYTLPPSRREMTKNQVSLTCLVKGFPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPMLDSD GSEELYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHLEAHNHHTYQKLSLSGPK

【表 100】

532				ggactcgcgcgcctcttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaa cgctctctatgctcgtgagtgagggctctgcaaacactatacgcagagaagcctctccctgctctcc ggtaaa
	ヒト重鎖定常領域 (IGHG2*04)) タンパク質配列			ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHITPAVL QSSGLYSLSWTVPSNFGTQTYTCNW/DHKPSNTKVDKTVRKCCVECPAPP VAGPSVFLPPPKDITLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWV/DGVEVHNAKTK PREEQFNSTFRWVSLTVHQDWLNGKEYCKV/SNKG/LPAPIEKTISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSD GSFELYSKLTVDKSRWQQGNV/FSCV/MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
533	ヒトIGHG2定常領域) スクレオチド配列	IGHG2*06		GCCTCCACCAAGGCCCATCGCTTCTCCCTCGCCCTGCTCCAGGAGCAC TCGAGAGCACAGCGCCCTGGCTGCTGCTCAAGGACTACTTCCCGAACCG GTGACGGTGTCTGGAACTCAGGGCTCTGACAGCGGCTGCACACCTTCCCG GCTGTCTACAGTCTCAGGACTTACTCTCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCC TCCAGCAACTTCGGCACCAGACTACACCTGCAACGTAGATCAACAGCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAATGTTGTGCGAGTGCCACCGT GCCAGCACCATCTGTGGAGGACCGTCACTTCTCTTCTCCCCCAAAACCCAA GGACACCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGTCACGTGCTGGTGGTGGACGT GAGCCAGAACCCCGAGGTCCAGTTCACTGGTACGGAGCGGTGCGGTGGAGG TGCAATAATGCCAAGACAAAGCCAGGAGGAGGAGTTCAACAGCACGTTCCTGT TGGTCAGGTCCTCACCGTGTGACAGGAGTGGCTGACGGCAAGGAGTACA AGTGCAAGGTCTCAACAAAGGCTCCAGCCCTCATGACCCCTGCCCTTCCCGGA AACCAAGGGCAGCCCGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCCCTTCCCGGA GGAGATGACCAAGAACAGGTGACCTGACCTGCTGGTCAAGGGTCTTACCC CAGGACATCTCGTGGAGTGGAGAGCAATGGGACGCGGAGAACAACTACAA GACCACCTCCATGCTGGACTCCGAGGCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTC ACCGTGACAAAGAGCGGTGGCAGCAGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACACCACTACACAGAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT AAA
	ヒト重鎖定常領域 (IGHG2*06)) タンパク質配列			ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHITPAVL QSSGLYSLSWTVPSNFGTQTYTCNW/DHKPSNTKVDKTVRKCCVECPAPP VAGPSVFLPPPKDITLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWV/DGVEVHNAKTK PREEQFNSTFRWVSLTVHQDWLNGKEYCKV/SNKG/LPAPIEKTISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSD GSFELYSKLTVDKSRWQQGNV/FSCV/MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
534				GGTCAGCCCAAGGCTGCCCTCGGTCACTCTGTTCACACCTCTCTCTGAGGAG CTTCAAGCCCAAGGCCACACTGGTGTGTCTGTAAGTGACTTCAACCCGGA CCCGTGACAGTGGCTTGAAGGAGATGGCAGCCCGCTCAAGTGGGAGTGGA
	ヒト重鎖定常領域 (IGHG2*06)) タンパク質配列			GGTCAGCCCAAGGCTGCCCTCGGTCACTCTGTTCACACCTCTCTCTGAGGAG CTTCAAGCCCAAGGCCACACTGGTGTGTCTGTAAGTGACTTCAACCCGGA CCCGTGACAGTGGCTTGAAGGAGATGGCAGCCCGCTCAAGTGGGAGTGGA
535	ヒトIGHG2定常領域) スクレオチド配列	IGHG2*03		GGTCAGCCCAAGGCTGCCCTCGGTCACTCTGTTCACACCTCTCTCTGAGGAG CTTCAAGCCCAAGGCCACACTGGTGTGTCTGTAAGTGACTTCAACCCGGA CCCGTGACAGTGGCTTGAAGGAGATGGCAGCCCGCTCAAGTGGGAGTGGA
	ヒトIGHG2定常領域) スクレオチド配列			GGTCAGCCCAAGGCTGCCCTCGGTCACTCTGTTCACACCTCTCTCTGAGGAG CTTCAAGCCCAAGGCCACACTGGTGTGTCTGTAAGTGACTTCAACCCGGA CCCGTGACAGTGGCTTGAAGGAGATGGCAGCCCGCTCAAGTGGGAGTGGA

10

20

30

40

50

【表 101】

536				Cλ 軽鎖定常領域 (IGLC7*03)) アミノ酸配列	GACCACCAACCCCTCAAAAGCAACAAAGTATGCGGCCAGCAGCTACCT GAGCCTGACGCCGAGCAGTGGAGTCCACAGAAGCTACAGCTGCCGGTCAAC GCATGAAGGAGCAGCAGTGGAGAGAGTGGCCCTGCGAATGCTCT GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLVDFNPQAVTVAWKADGSPVKVGVETT KPSKQSNKNKYAASSYLSTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECS
537	ヒトWT IGG1定 常領域	IGHG1*0 1 & IGHG1*0 5 (19G1)		WTヒトIGG1ヌクレオチド配列# 2	gcttcacaaaggcccatggtttcccttgccacctctcctaagagcacctctggtgggacacg ccctggcctgctgtaaggactatctccgaacgggagcggtgctggaactcaggcgcctgac cagcgggtgacacctctccggtgtctacagctctcagactctactctcctcagcaggtgacg tgctctcagcagcttgaccagacactatctgcaacgtgaaatcaacagccacgacacacag tggacaagaagttagcccaaatcttgaacaaactcacatgcccacgtgcccagcacctgaact cctgggggacgtcagctctctctcccccacacacacacacacacacacacacacacacac aggtcacatgctggtggagcgtgagccagagacccctgaggtcaggtcaggtcaggtgacg gctgaggtgataatgccaagacaagccggtggtgaggtgaggtacacacacacacacacac cagctctcagctcgtgacacagagctggtgaaatgcaaggtgacacacacacacacacac agcctccacagcccatgagaaacacacacacacacacacacacacacacacacacacac acacctgcccccatcgggtgaggtgacacacacacacacacacacacacacacacacac ctatccagcagacacacacacacacacacacacacacacacacacacacacacacacac cctccgtgctgagactcagcgtctctctctctcagcaagctcaccgtgacacacacacac gcagggaacgctctctcagctcgtgaggtcttgacacacacacacacacacacacacac tcctgtctccggglaaa
538	ヒトCλ定 常領域	IGLC2*01		Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列# 2 ヌクレオチド配列バージョンAおよび Bによってコードされる	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSK QSNKNKYAASSYLSTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
539	ヒトTIGIT-His/ Flag			NCBI受託番号NM_173799 3 UniProt受託番号Q49 5A1-1 発現タンパク質はECDの みに対応する；全長配列によるMet 22~Pro 141注射付きのタン パク質ドメイン；Campathリ ダー（二重線）、細胞外ドメイン（太 字）、リンカー&Flag/Hista グ（斜体）	MGWSCILLELVATATGVHSMMTGTETTGNISAEKGGSTILQCHLSSTTAQV TQVNWQQDQLLAICNADLGWHISPSFKORVAPGPGGLGLTLQSLTVND TGEYFCITYHTYDPDGTGTGRIFLEVLSSVAEHGARFQIP/IEGRDYKDDDDKH HHHHH

10

20

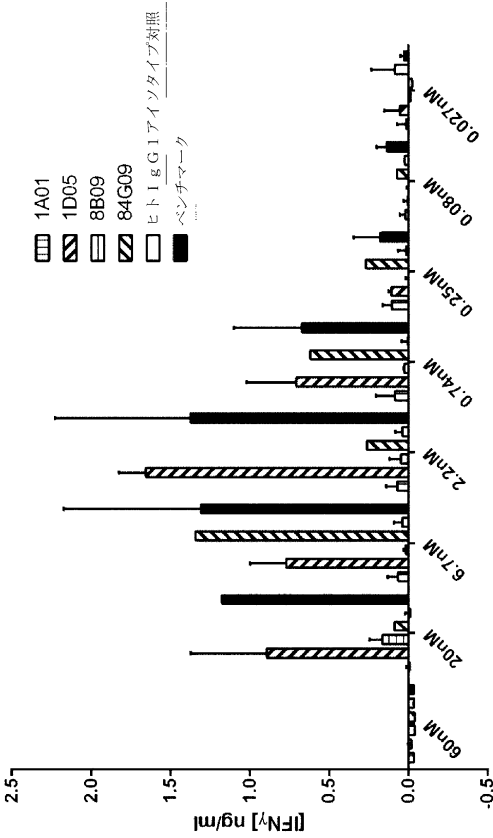
30

40

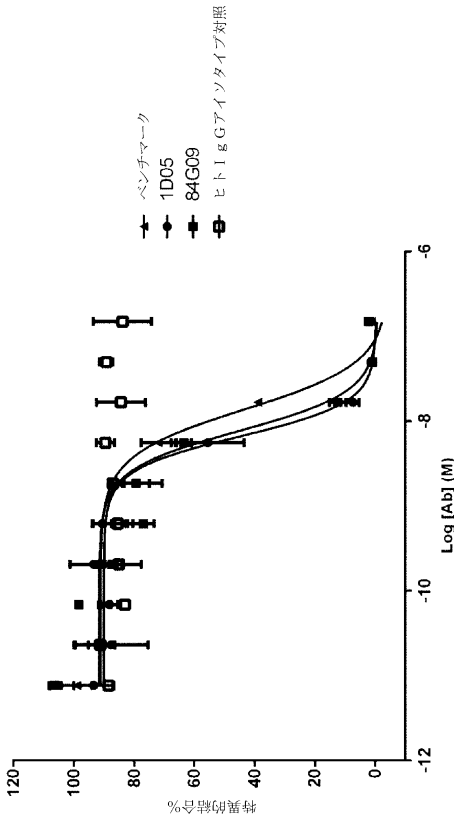
50

【図面】

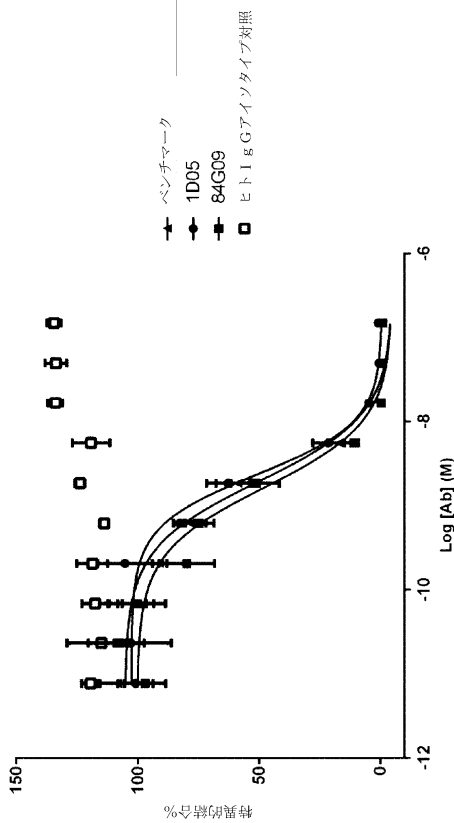
【図 1】



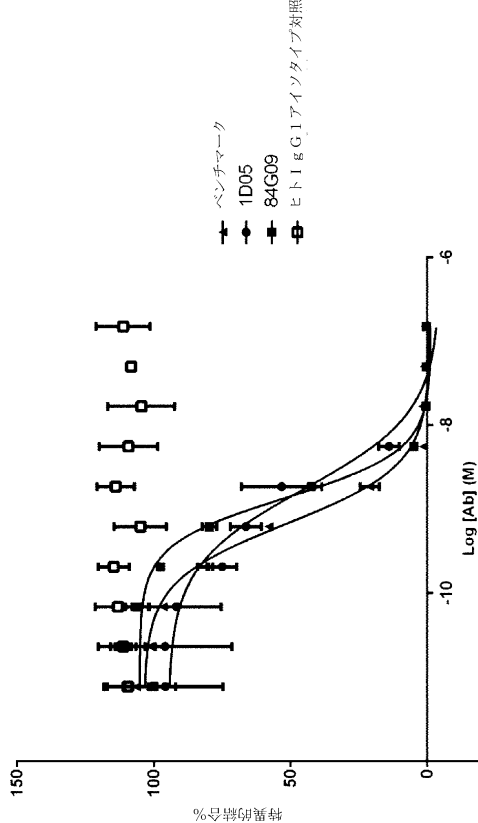
【図 2】



【図 3】



【図 4】



10

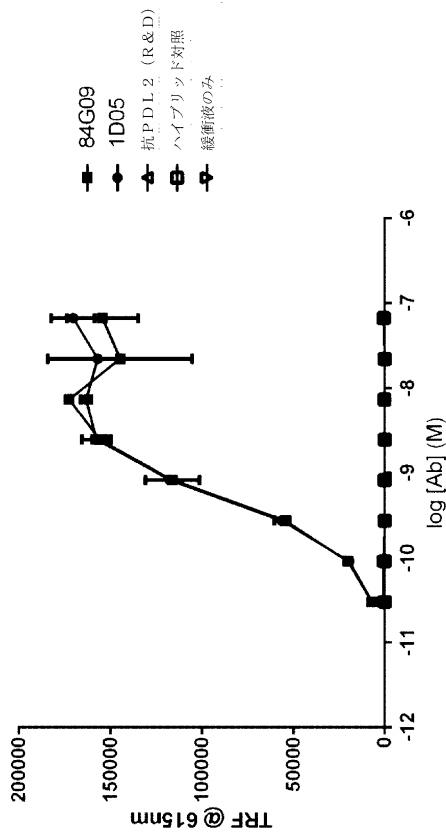
20

30

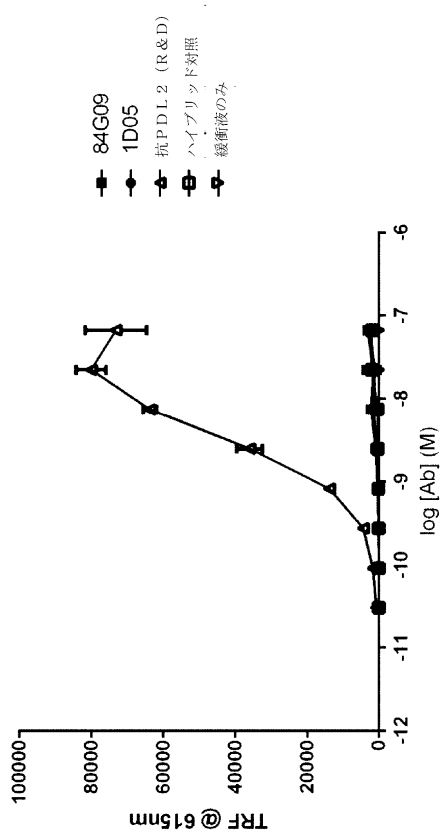
40

50

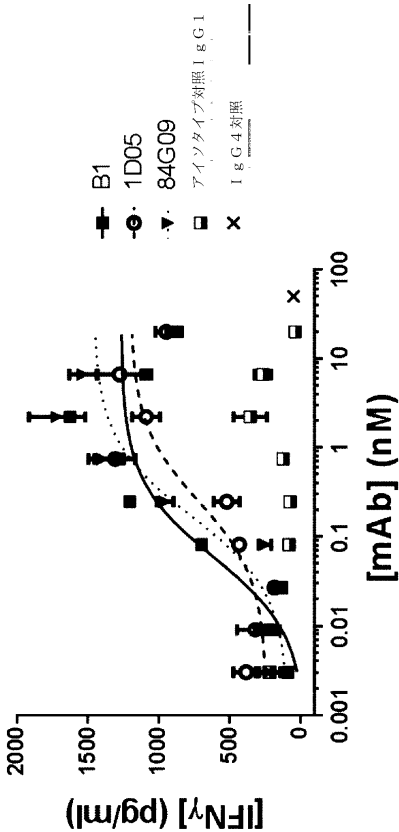
【図 5 a】



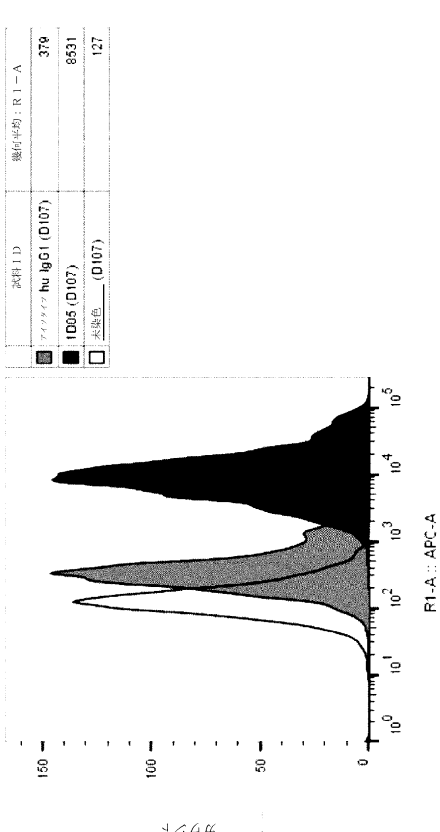
【図 5 b】



【図 6】



【図 7 a】



10

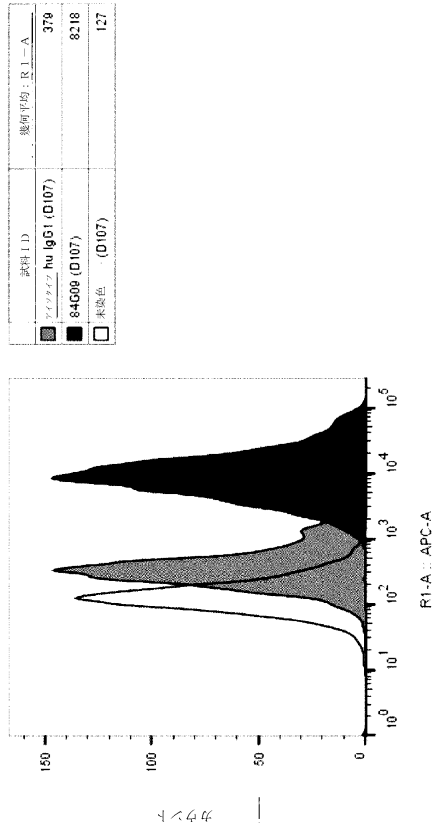
20

30

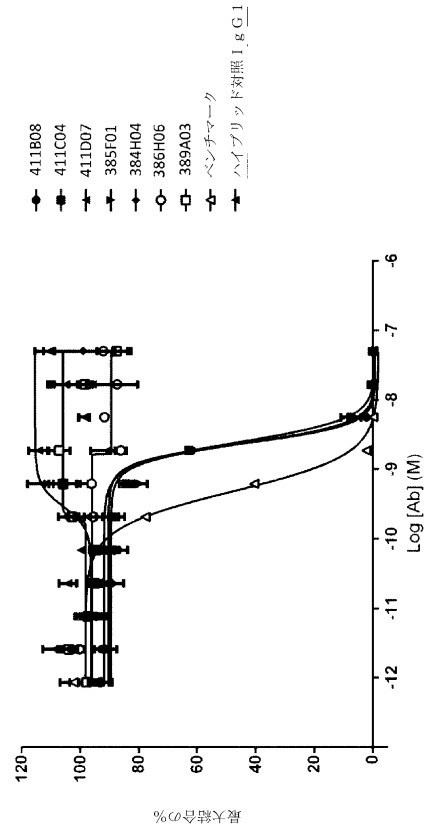
40

50

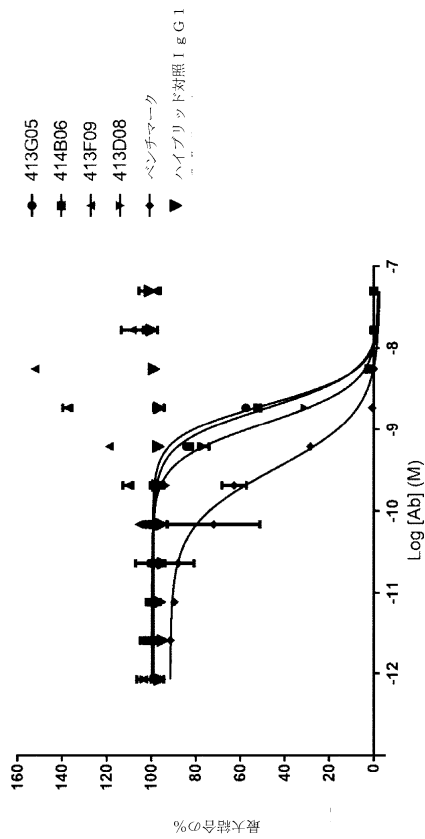
【図 7 b】



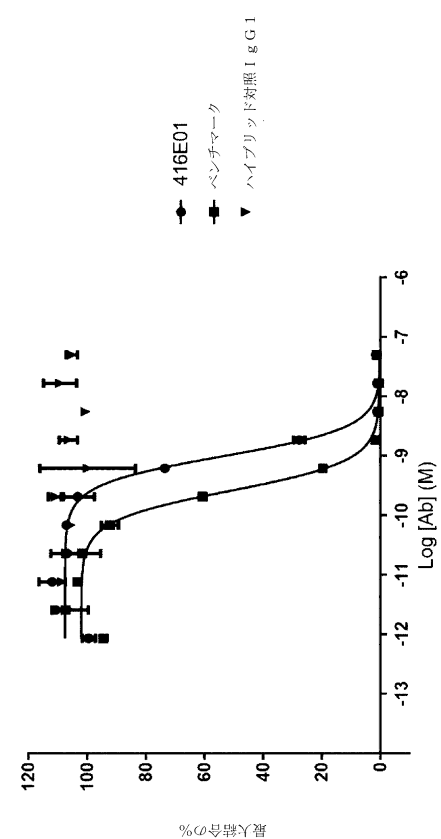
【図 8 a】



【図 8 b】



【図 8 c】



10

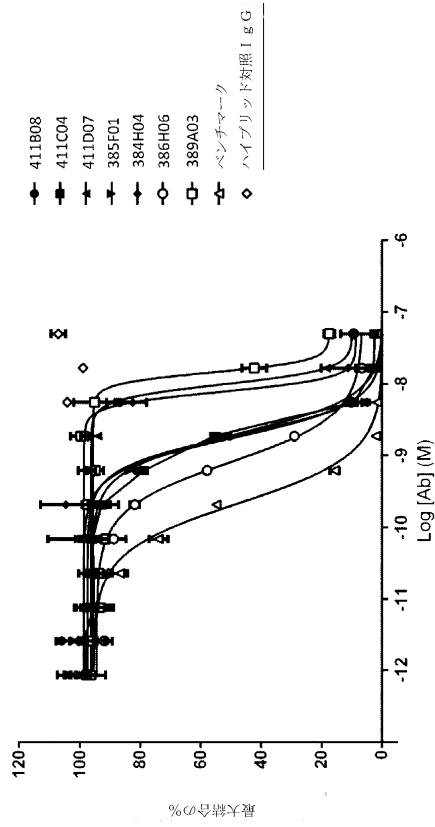
20

30

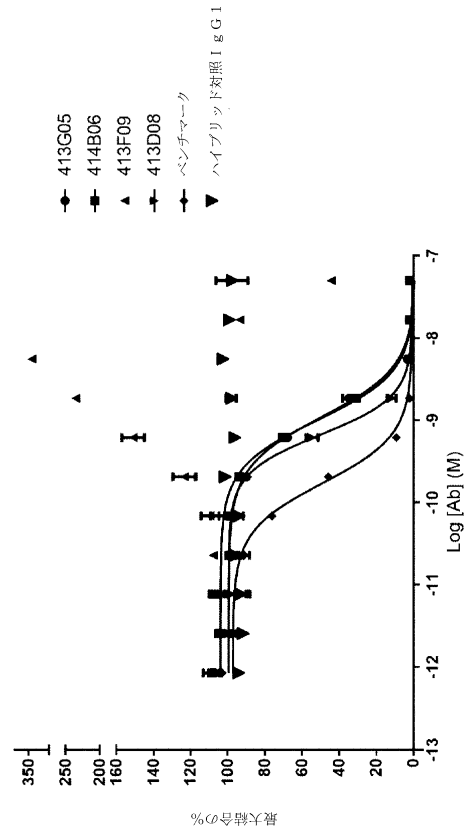
40

50

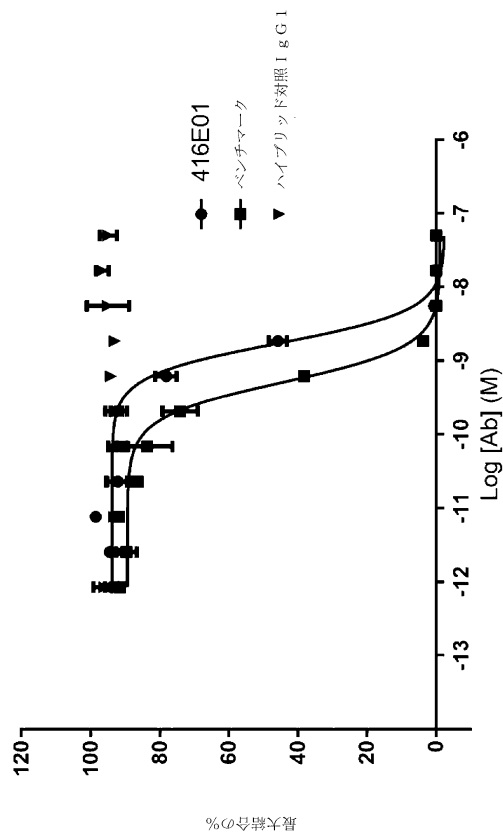
【図 9 a】



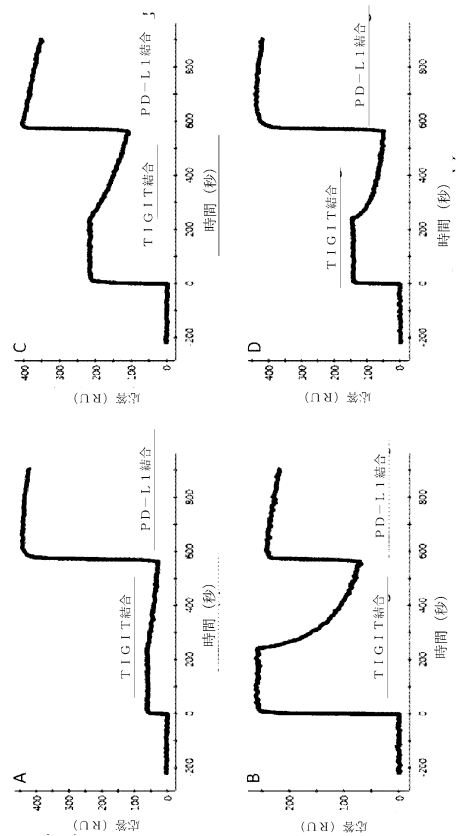
【図 9 b】



【図 9 c】



【図 10】



10

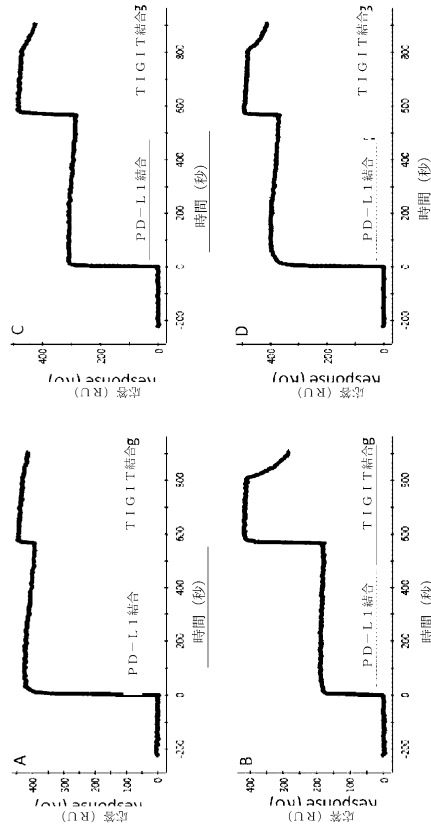
20

30

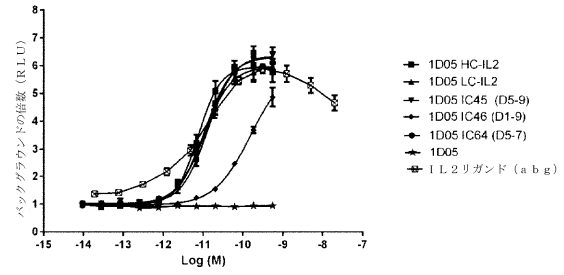
40

50

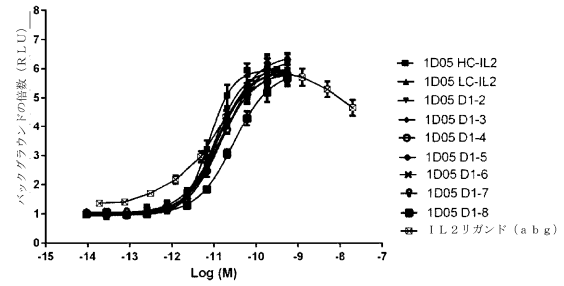
【図 1 1】



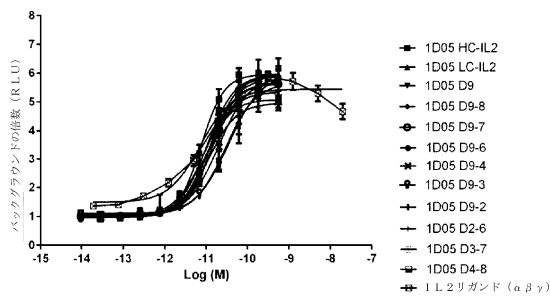
【図 1 2 (a) - 1】



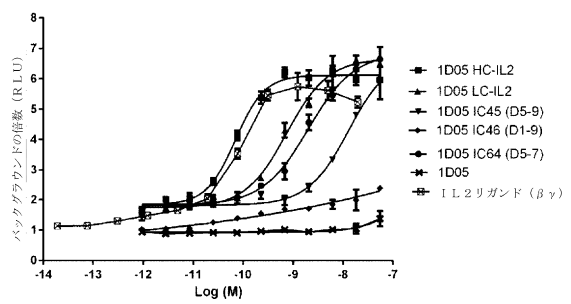
TF1 $\alpha\beta\gamma$ 細胞 (11) の増殖に対する
1D05-1L2 構築物の効果



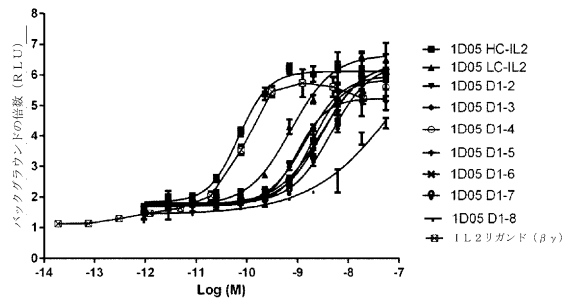
【図 1 2 (a) - 2】



【図 1 2 (b) - 1】



TF1 $\beta\gamma$ 細胞 (11) の増殖に対する
1D05-1L2 構築物の効果



10

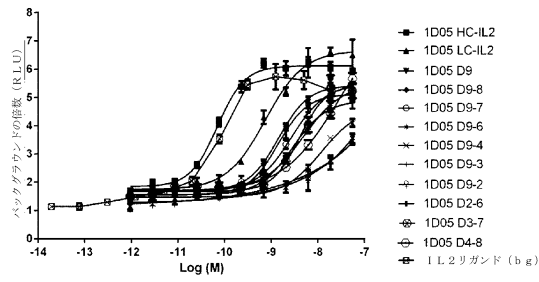
20

30

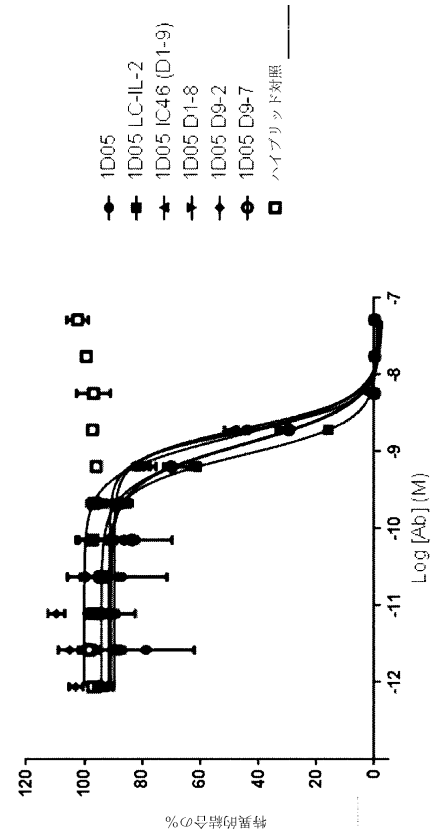
40

50

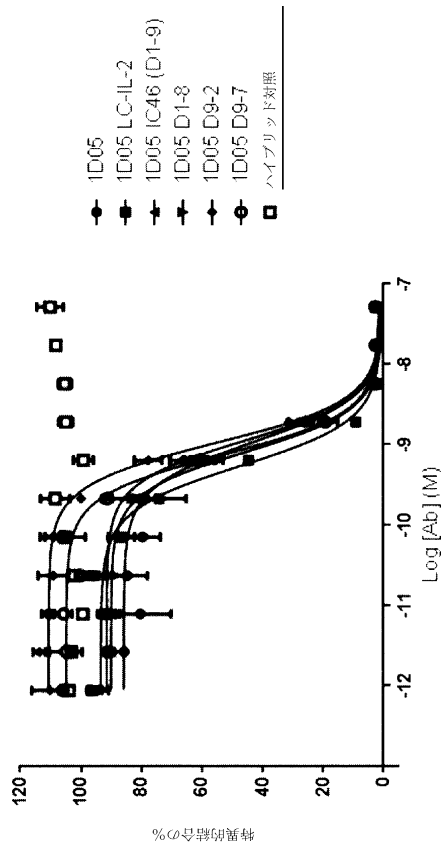
【図 12 (b) - 2】



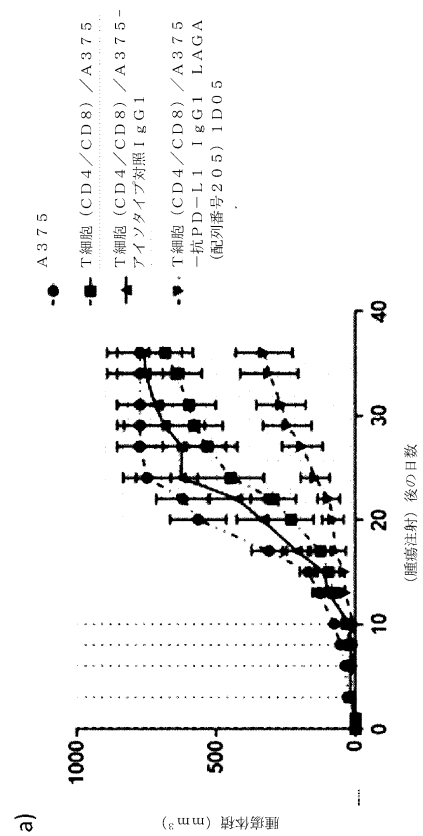
【図 13 (a)】



【図 13 (b)】



【図 14 - 1】



10

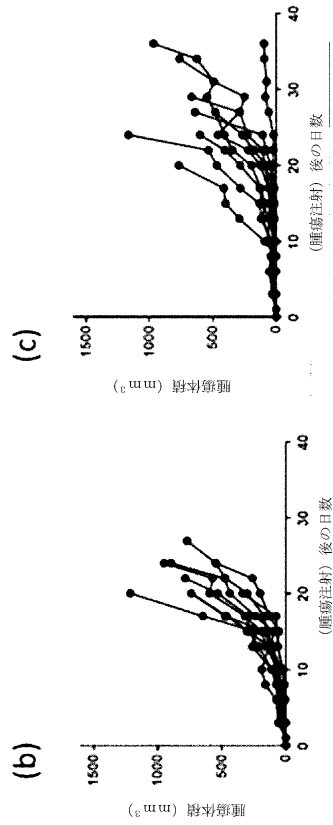
20

30

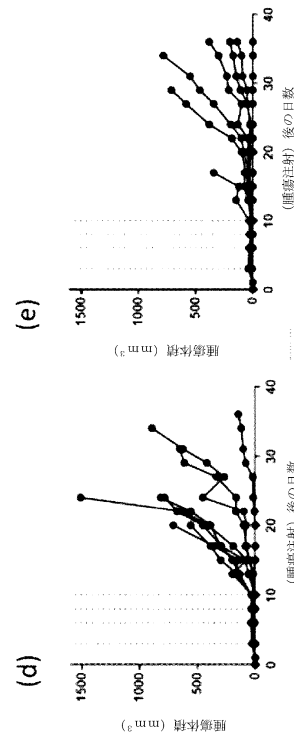
40

50

【図 1 4 - 2】

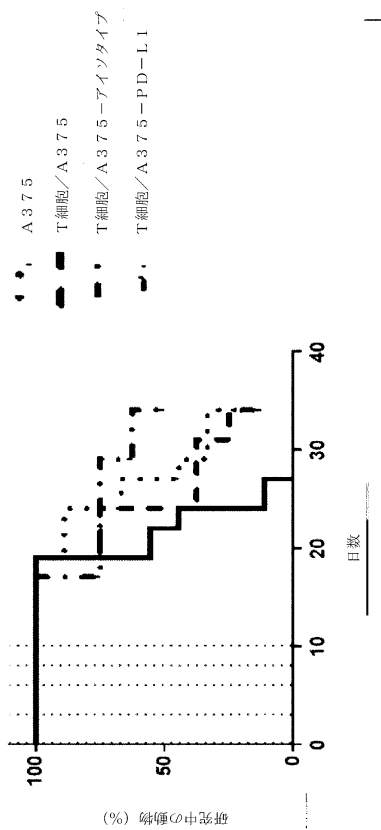


【図 1 4 - 3】

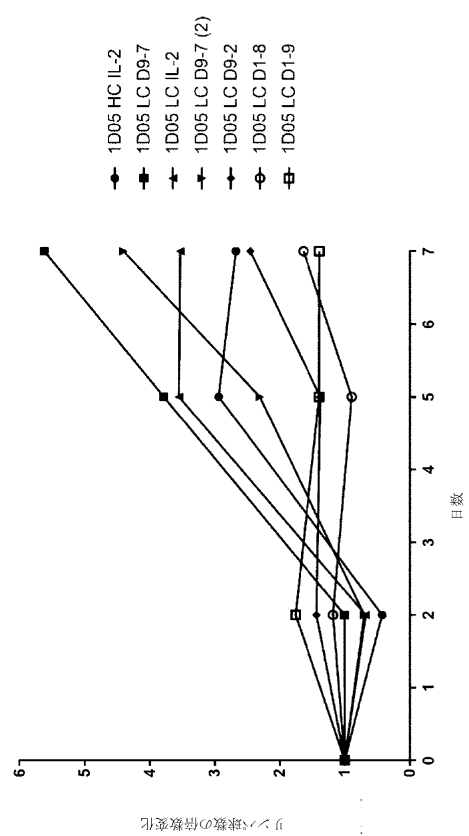


121

【図 1 5】



【図 1 6】



10

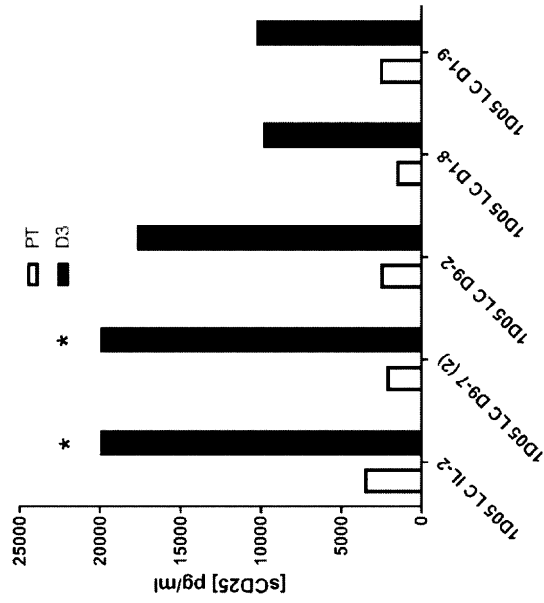
20

30

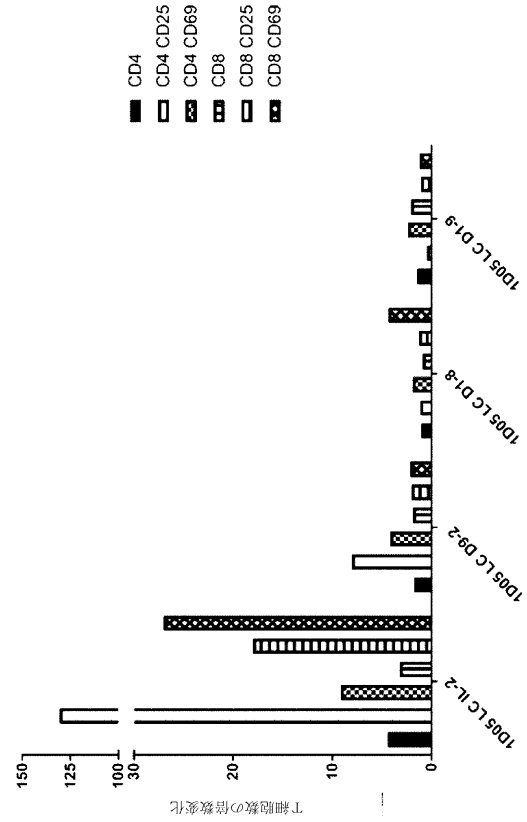
40

50

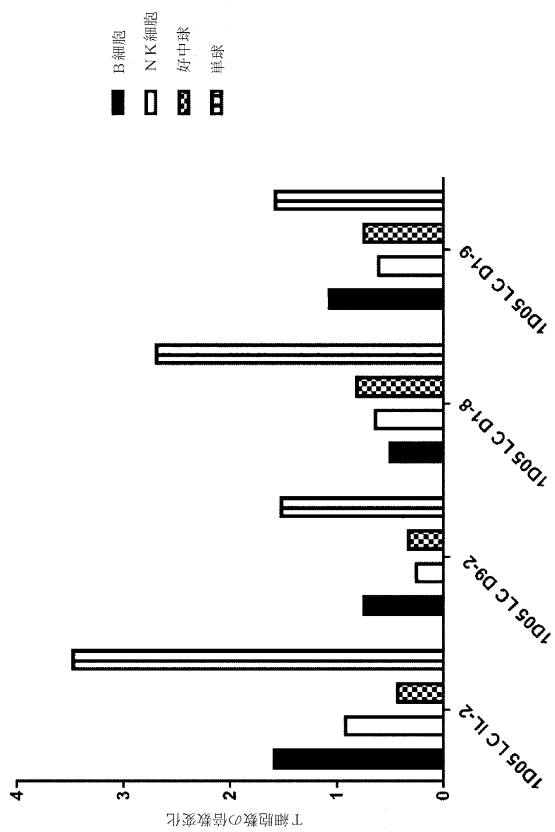
【図 19】



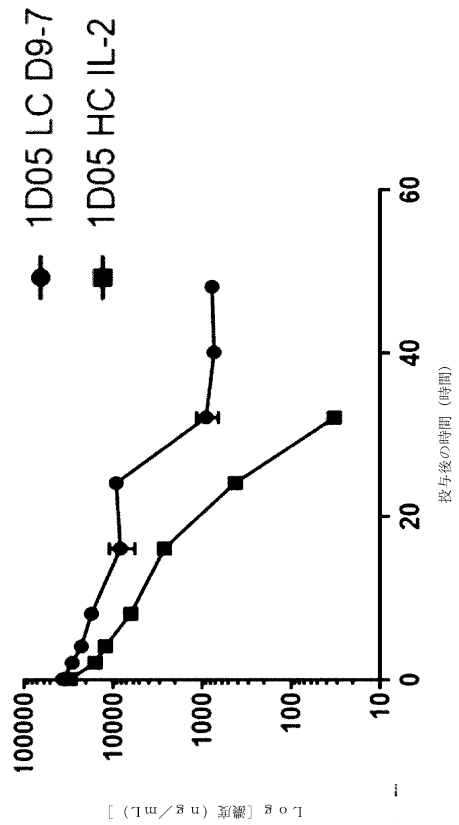
【図 20 a】



【図 20 b】



【図 21 a】



10

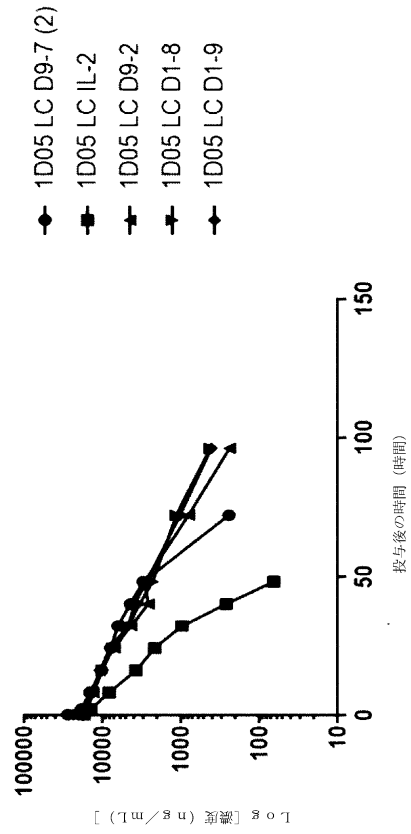
20

30

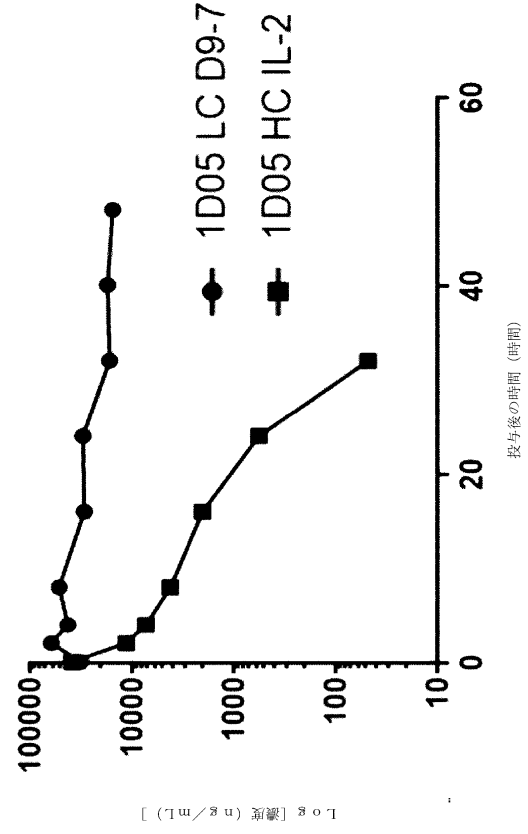
40

50

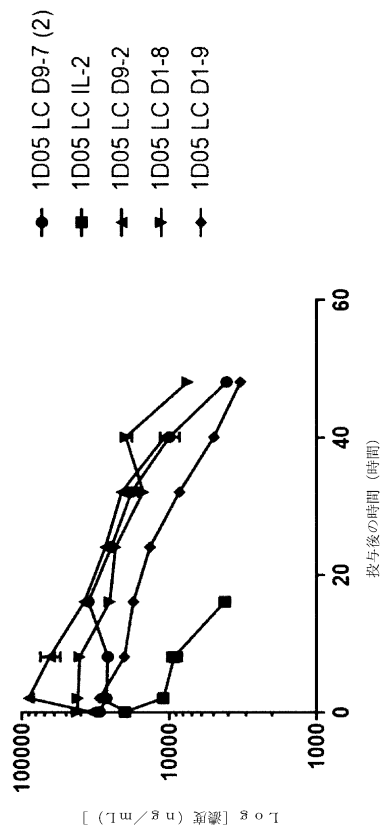
【図 2 1 b】



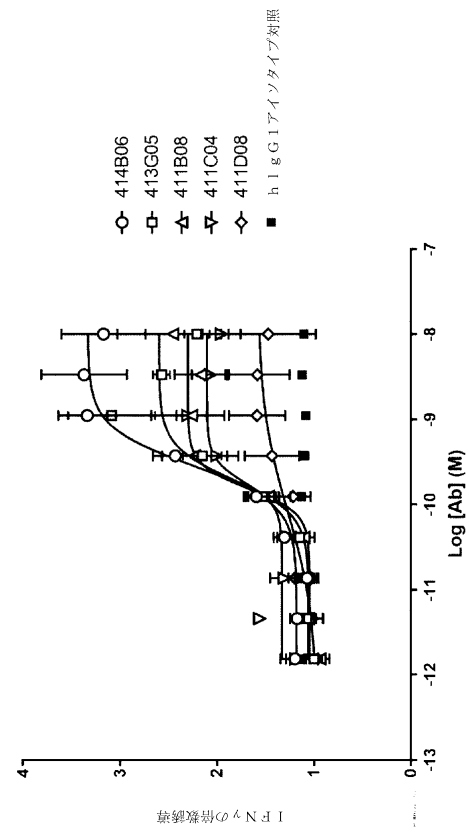
【図 2 1 c】



【図 2 1 d】



【図 2 2 a】



10

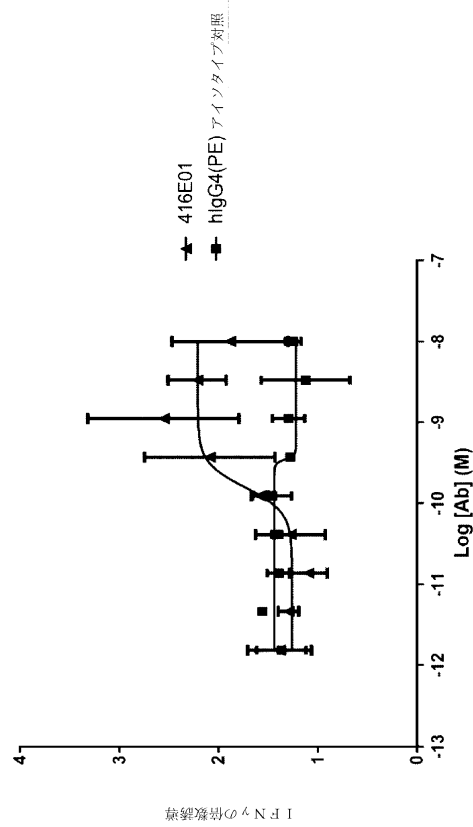
20

30

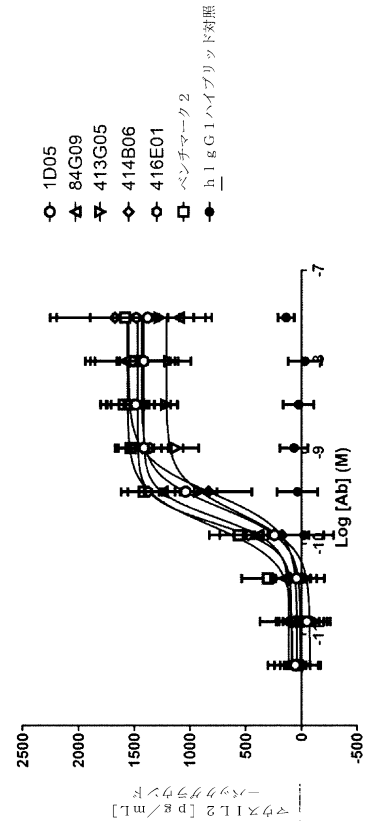
40

50

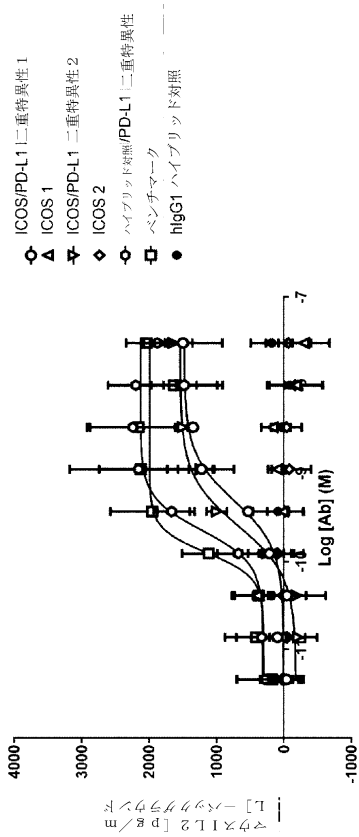
【図 2 2 b】



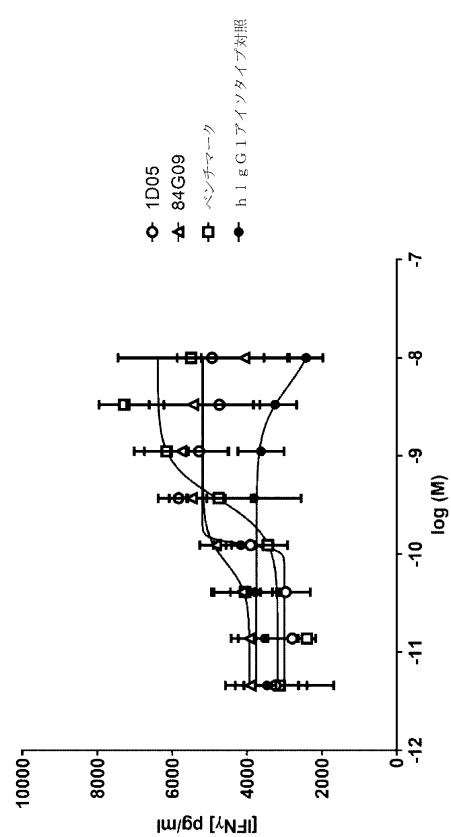
【図 2 3 (a)】



【図 2 3 (b)】



【図 2 4 (a)】



10

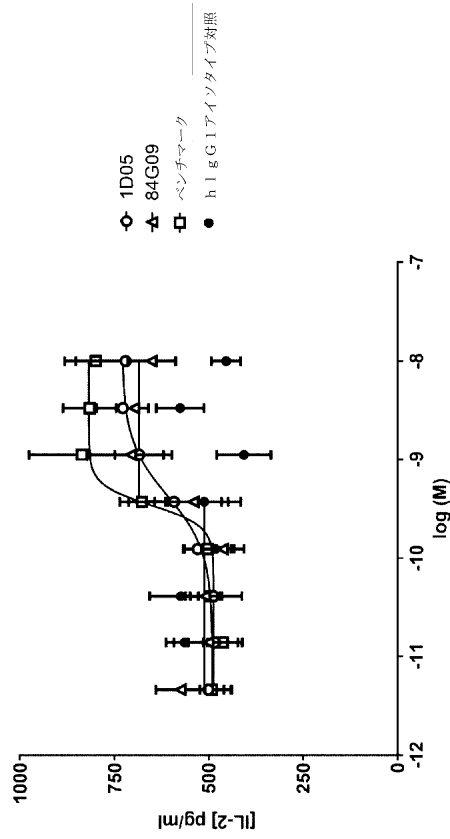
20

30

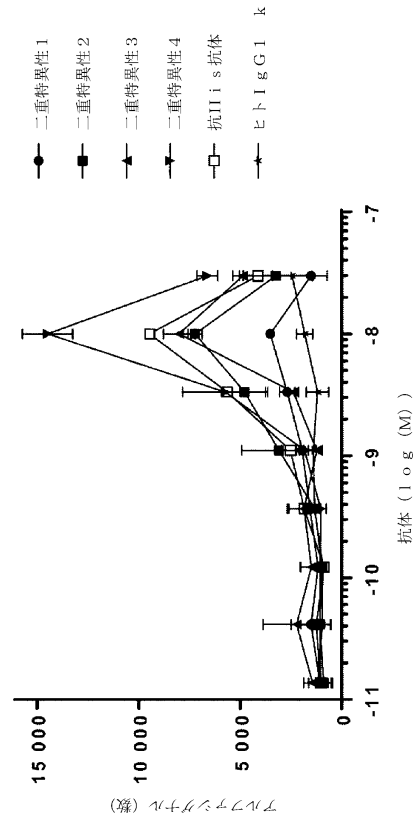
40

50

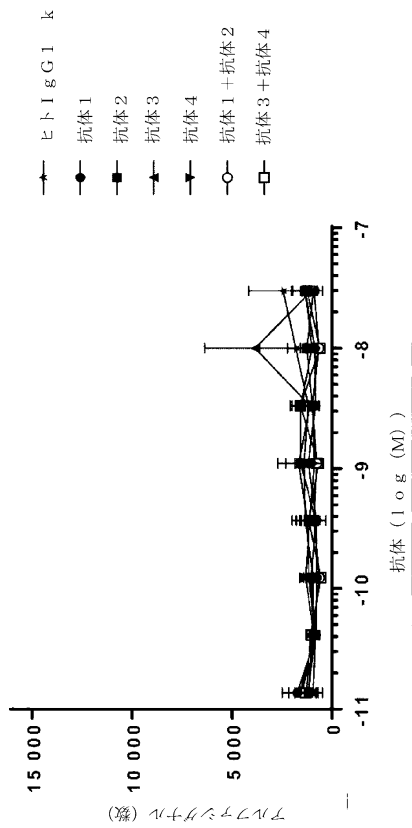
【図 2 4 (b) 】



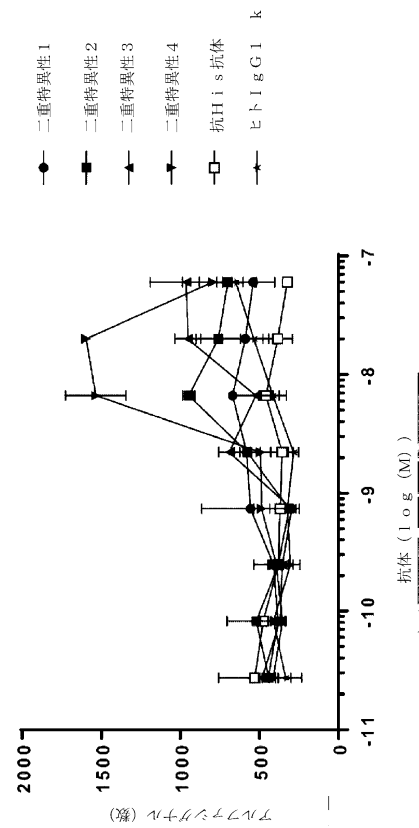
【図 2 5 (a) 】



【図 2 5 (b) 】



【図 2 6 (a) 】



10

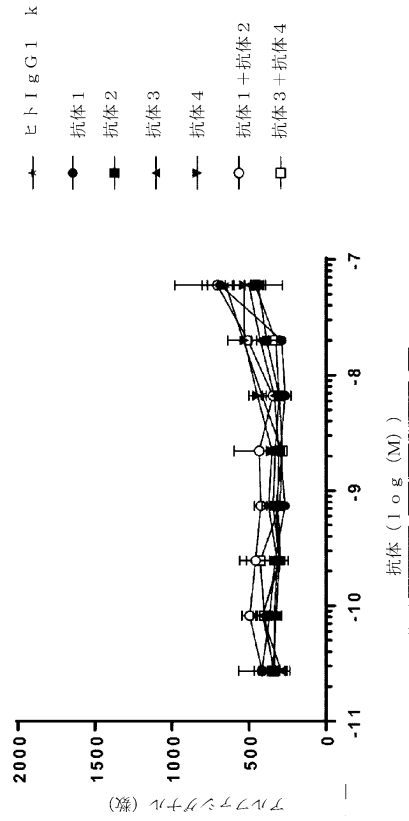
20

30

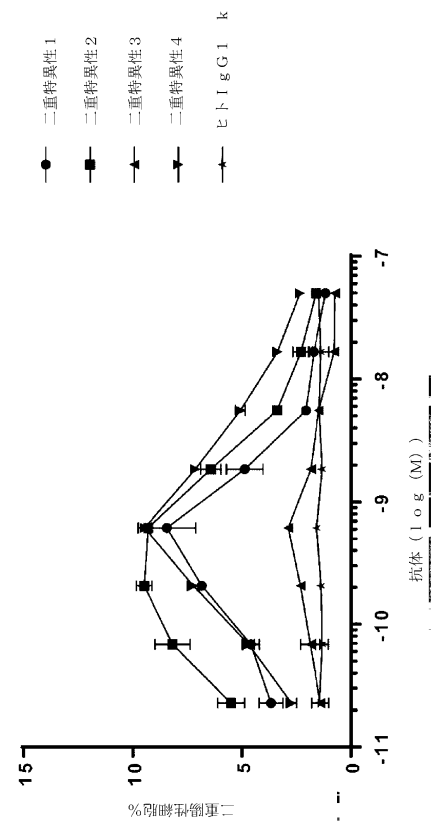
40

50

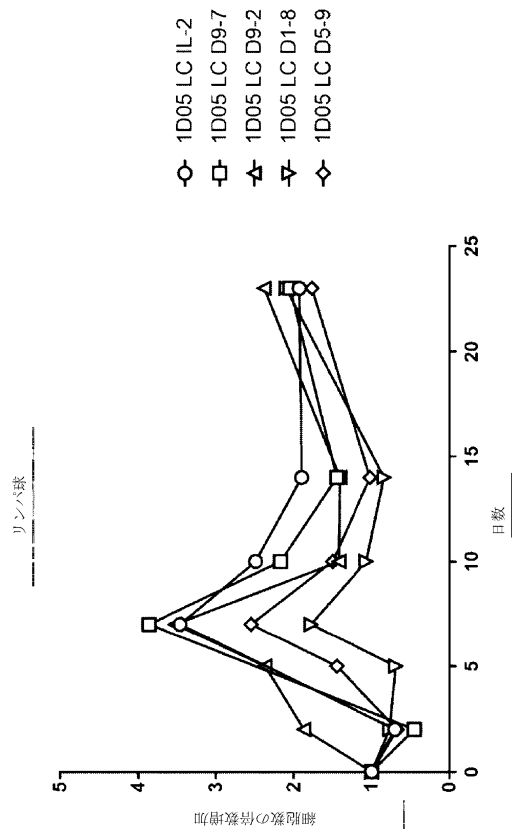
【図 26 (b)】



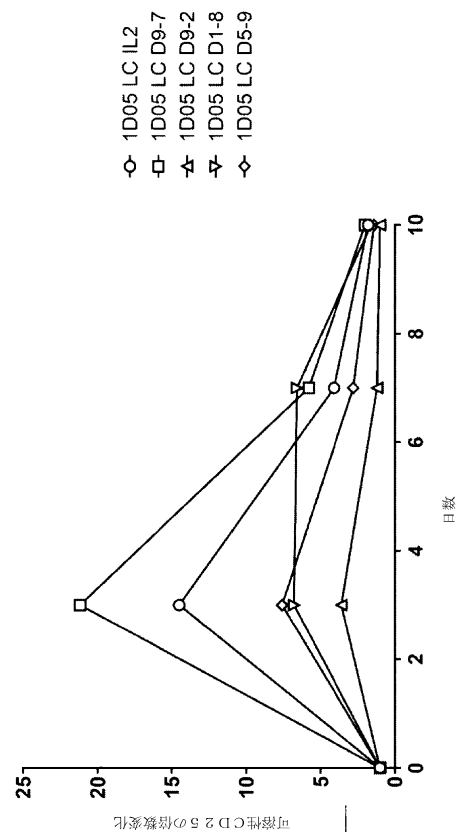
【図 27】



【図 28】



【図 29】



10

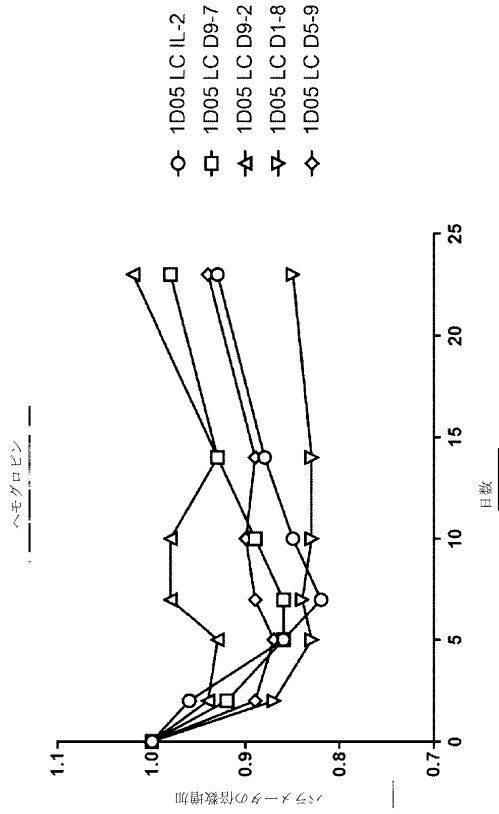
20

30

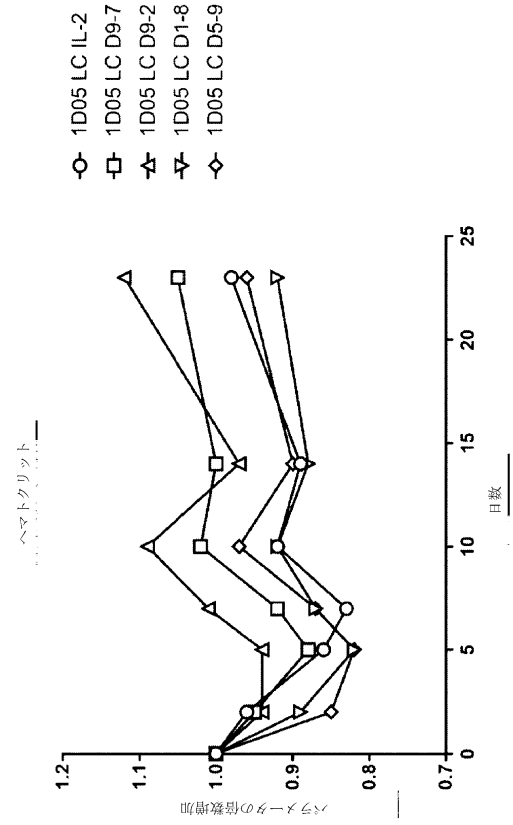
40

50

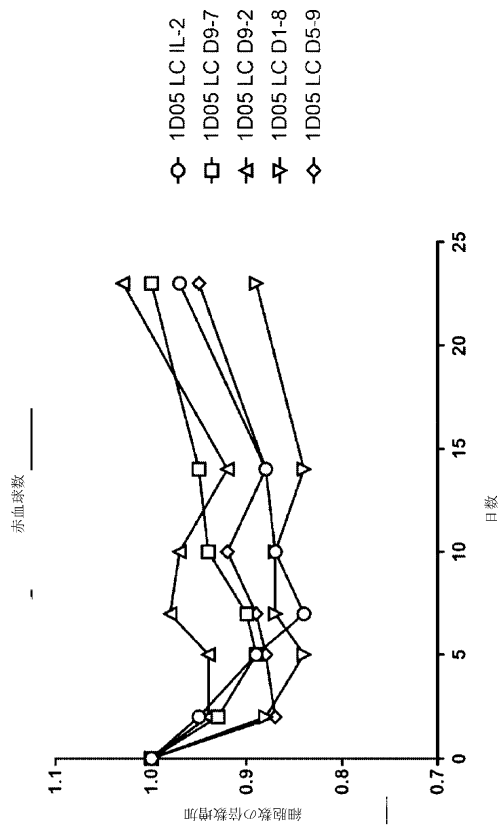
【図 30 (a)】



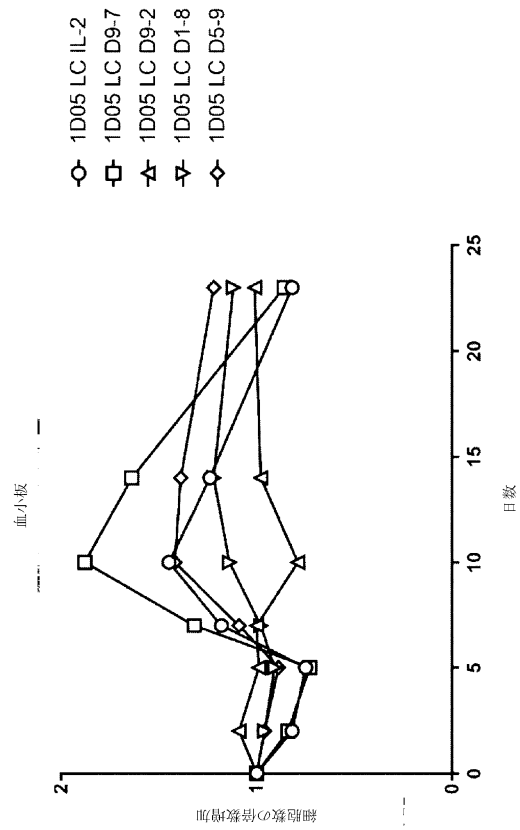
【図 30 (b)】



【図 30 (c)】



【図 30 (d)】



10

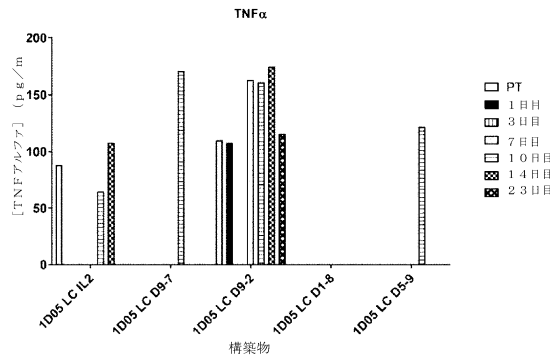
20

30

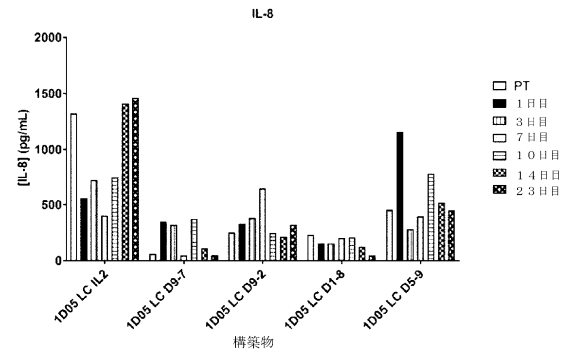
40

50

【図 3 1 (a) 】

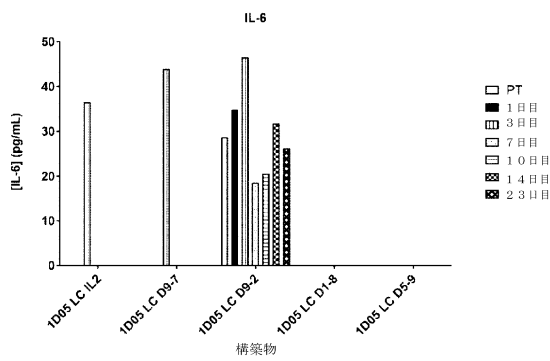


【図 3 1 (b) 】

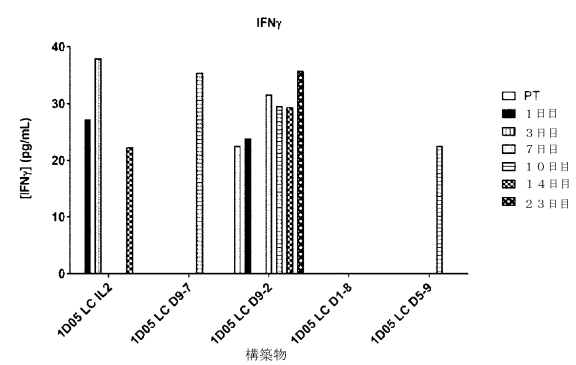


10

【図 3 1 (c) 】

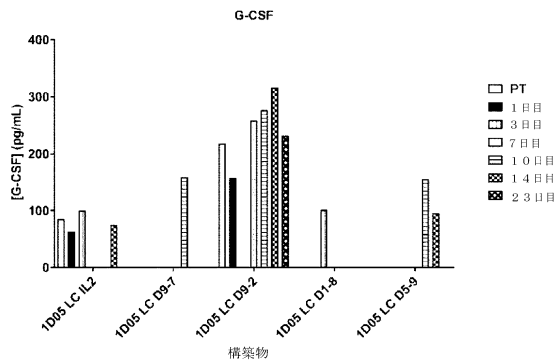


【図 3 1 (d) 】

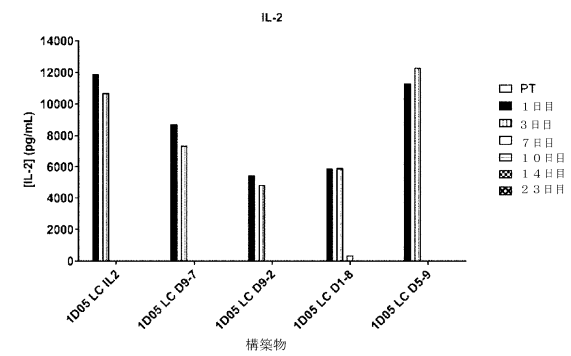


20

【図 3 1 (e) 】



【図 3 1 (f) 】

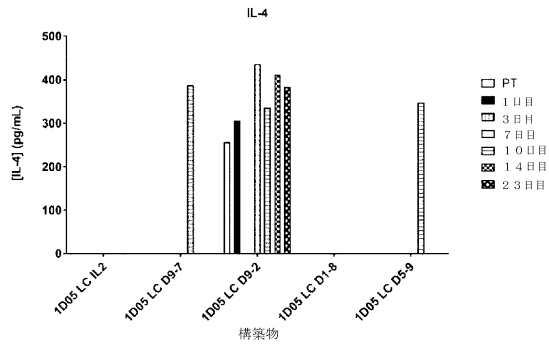


30

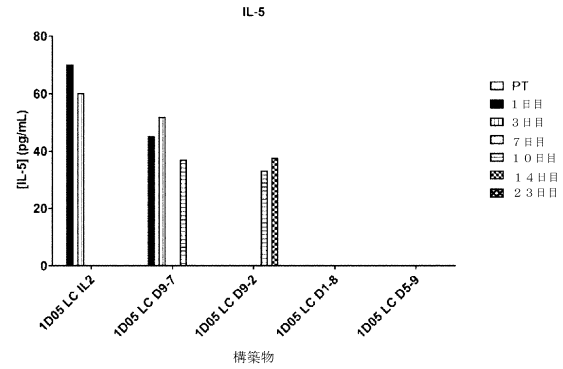
40

50

【図 3 1 (g)】

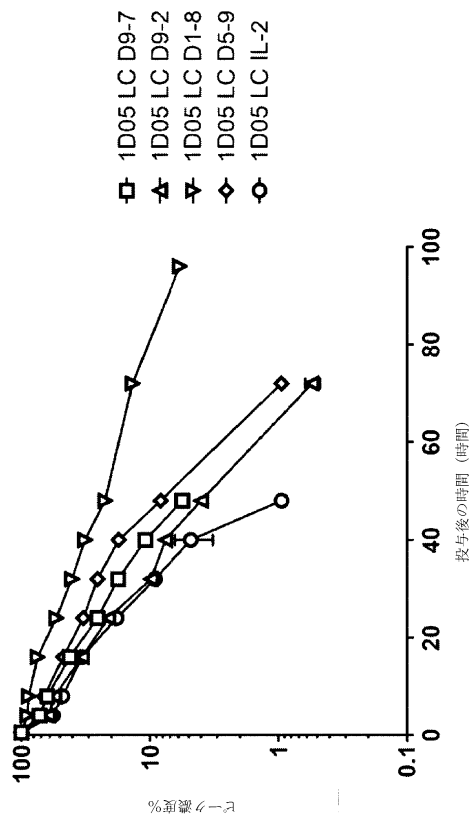


【図 3 1 (h)】

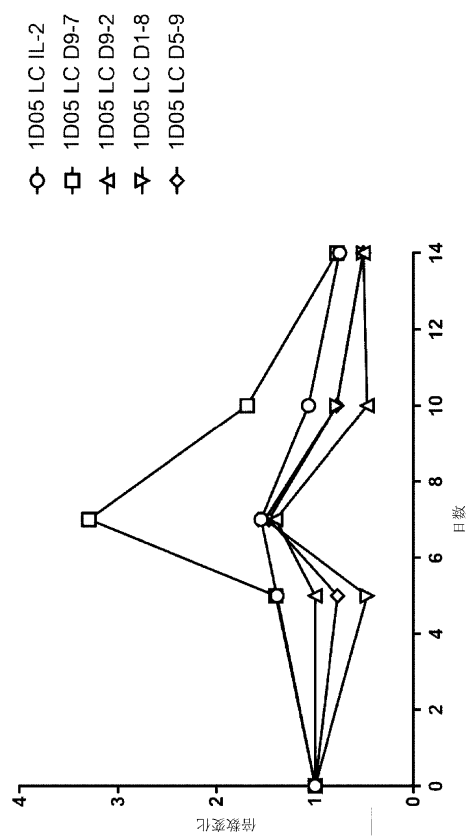


10

【図 3 2】



【図 3 3 (a)】



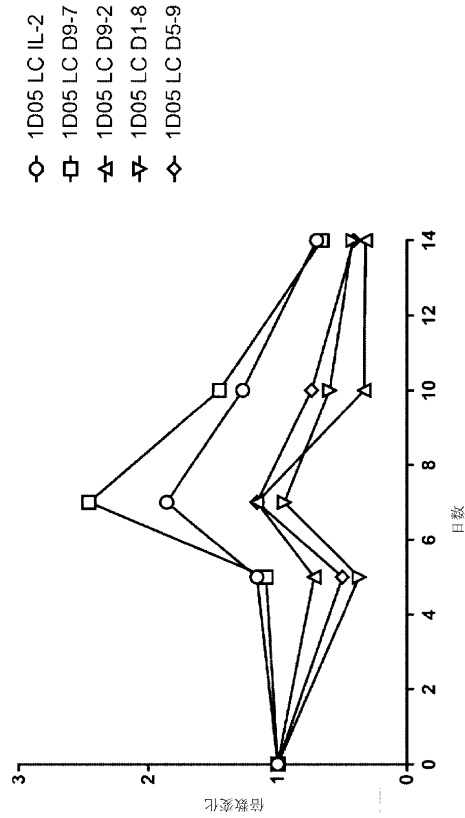
20

30

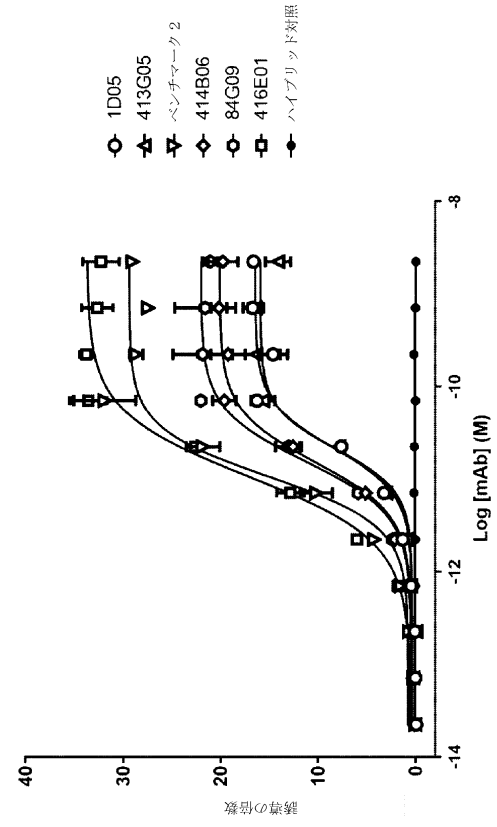
40

50

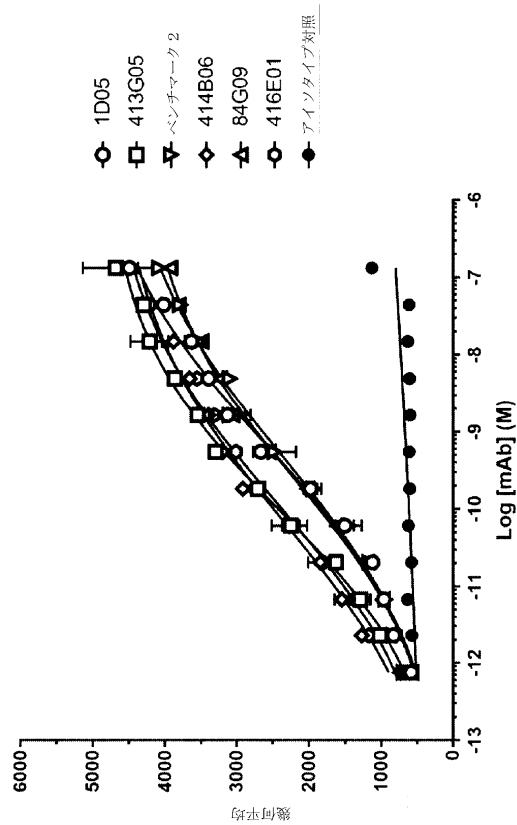
【図 3 3 (b)】



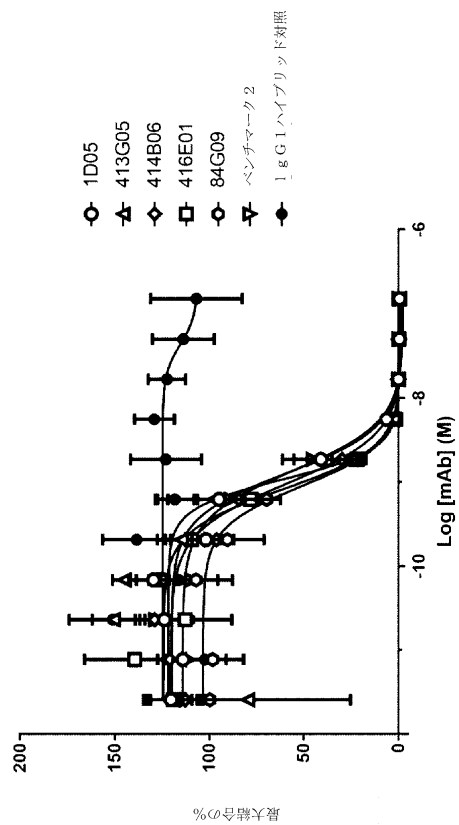
【図 3 4】



【図 3 5】



【図 3 6 (a)】



10

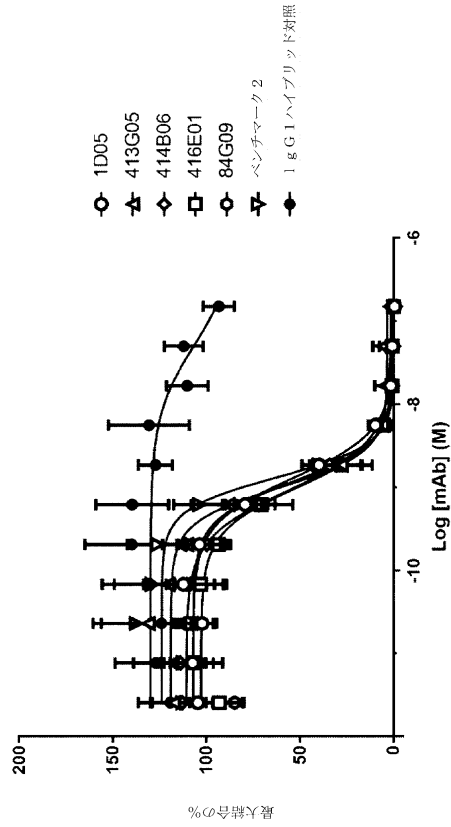
20

30

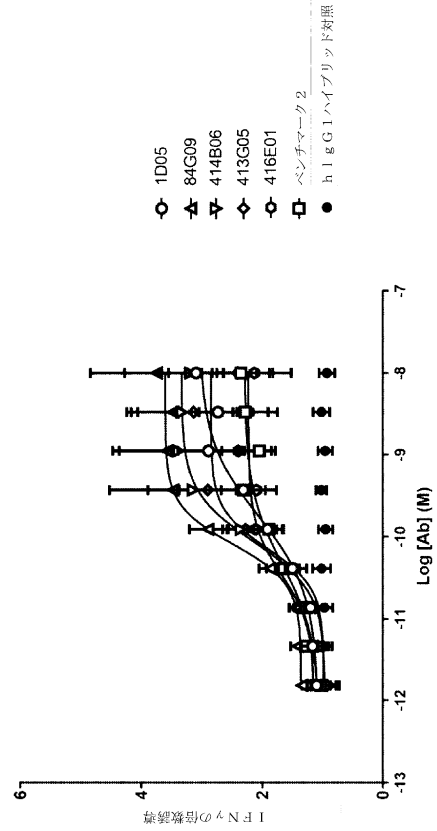
40

50

【図 3 6 (b)】



【図 3 7】



【配列表】

0007261379000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	E
A 6 1 P	37/02 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	T
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
		A 6 1 P	37/02	
		A 6 1 K	45/00	
		C 1 2 P	21/08	

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 1613683.0

(32)優先日 平成28年8月9日(2016.8.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関
英国(GB)

(31)優先権主張番号 1615224.1

(32)優先日 平成28年9月7日(2016.9.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関
英国(GB)

(31)優先権主張番号 15/354,971

(32)優先日 平成28年11月17日(2016.11.17)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 1620414.1

(32)優先日 平成28年12月1日(2016.12.1)

(33)優先権主張国・地域又は機関
英国(GB)

(31)優先権主張番号 1702338.3

(32)優先日 平成29年2月13日(2017.2.13)

(33)優先権主張国・地域又は機関
英国(GB)

(31)優先権主張番号 1702339.1

(32)優先日 平成29年2月13日(2017.2.13)

(33)優先権主張国・地域又は機関
英国(GB)

(31)優先権主張番号 1703071.9

(32)優先日 平成29年2月24日(2017.2.24)

(33)優先権主張国・地域又は機関
英国(GB)

(31)優先権主張番号 15/480,525

(32)優先日 平成29年4月6日(2017.4.6)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 1615335.5

(32)優先日 平成28年9月9日(2016.9.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

(31)優先権主張番号 1621782.0

(32)優先日 平成28年12月20日(2016.12.20)

(33)優先権主張国・地域又は機関
英国(GB)

前置審査

ンパス、シー／オー ザ ベネット ビルディング (ビー930)

(72)発明者 サンディ, ニコル

イギリス、バブラハム シービー22 3エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー／
オー ザ ベネット ビルディング (ビー930)

(72)発明者 ヴァン クリンクス, カサンドラ

イギリス、バブラハム シービー22 3エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー／
オー ザ ベネット ビルディング (ビー930)

(72)発明者 アーキンストール, スティーヴン ジョン

イギリス、バブラハム シービー22 3エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー／
オー ザ ベネット ビルディング (ビー930)

(72)発明者 ゲルマシェウスキー, フォルカー

イギリス、バブラハム シービー22 3エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー／
オー ザ ベネット ビルディング (ビー930)

(72)発明者 カービー, イアン

イギリス、バブラハム シービー22 3エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー／
オー ザ ベネット ビルディング (ビー930)

(72)発明者 コズマック, ミハ

イギリス、バブラハム シービー22 3エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー／
オー ザ ベネット ビルディング (ビー930)

(72)発明者 ギャラガー, トーマス

イギリス、バブラハム シービー22 3エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー／
オー ザ ベネット ビルディング (ビー930)

(72)発明者 デアントニオ, セシリア

イギリス、バブラハム シービー22 3エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー／
オー ザ ベネット ビルディング (ビー930)

(72)発明者 ギリース, スティーヴン, ダグラス

アメリカ合衆国、マサチューセッツ 01741-1044、カーライル、スワンソン レーン 47

審査官 田中 晴絵

(56)参考文献 国際公開第2015/112805 (WO, A1)

Cancer Immunol Res, 2015年, 3(9), p.1052-1062

Cancer Immunol Res, 2014年, 2(9), p.846-856

TOSOH Research & Technology Review, 2012年, Vol.56, p.3-9

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C12N 15/00-15/90

C07K 16/00-16/46

CAPLUS/REGISTRY (STN)

PubMed