(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2021-515541
(P2021-515541A)
(43)公表日　令和3年6月24日(2021.6.24)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/13	(2006.01)	C12N	15/13		4B064
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28	ZNA	4B065
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4C076
C12N 15/63	(2006.01)	C12N	15/63	Z	4C084
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4C085

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 76 頁）　最終頁に続く

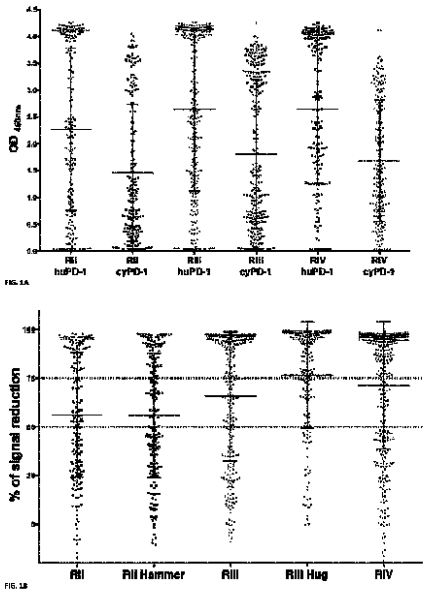
(21)出願番号　特願2020-542228 (P2020-542228)
(86)(22)出願日　平成31年3月8日 (2019.3.8)
(85)翻訳文提出日　令和2年9月14日 (2020.9.14)
(86)国際出願番号　PCT/EP2019/055927
(87)国際公開番号　WO2019/170898
(87)国際公開日　令和1年9月12日 (2019.9.12)
(31)優先権主張番号　1803746.5
(32)優先日　平成30年3月8日 (2018.3.8)
(33)優先権主張国・地域又は機関
英国 (GB)
(31)優先権主張番号　1813405.6
(32)優先日　平成30年8月16日 (2018.8.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
英国 (GB)

(71)出願人　520284104
ウルトラヒューマン　ナイン　リミテッド
イギリス国，ケント　シーティー１３　９
エフエフ　サンドウィッチ，ラムスゲイト
ロード，イノベーション　ハウス，クレストン　リーブス　エルエルピー内
(74)代理人　100079108
弁理士　稲葉　良幸
(74)代理人　100109346
弁理士　大貫　敏史
(74)代理人　100117189
弁理士　江口　昭彦
(74)代理人　100134120
弁理士　内藤　和彦

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＰＤ１結合剤

(57)【要約】
【課題】ＣＤＲの生殖細胞系列化および開発クオリティの最適化は複雑で多因子的な課題である。
【解決手段】
本明細書において、プログラム細胞死１（ＰＤ１）に特異的に結合する抗体分子、ならびにその関連する核酸分子、ベクターおよび宿主細胞が提供される。さらに本明細書において、当該抗体分子の医療用途が提供される。
【選択図】図１



【特許請求の範囲】
【請求項１】
抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体は、重鎖可変（ＶＨ）領域および軽鎖可変（ＶＬ）領域を含有し、
（ａ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号３４）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６）のＬＣＤＲ１、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８）のＬＣＤＲ３を含み、
（ｂ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＬＳＳＹＧＭＳ（配列番号３９）のＨＣＤＲ１、ＶＡＶＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４０）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６）のＬＣＤＲ１、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８）のＬＣＤＲ３を含み、
（ｃ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＥＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４１）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６）のＬＣＤＲ１、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８）のＬＣＤＲ３を含み、
（ｄ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４３）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、
（ｅ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＴＳＹＧＭＳ（配列番号４７）のＨＣＤＲ１、ＬＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４８）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、
（ｆ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＶＨ（配列番号４９）のＨＣＤＲ１、ＶＧＶＩＷＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５０）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＬＡ（配列番号５１）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２）のＬＣＤＲ３を含み、
（ｇ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４３）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、
（ｈ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２）のＨＣＤＲ１、ＬＡＮＩＷＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５３）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番

号４５）のＬＣＤＲ２、およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｉ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＬＳＳＹＧＭＨ（配列番号５４）のＨＣＤＲ１、ＬＡＶＩＷＡＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５５）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＭＹＩＤＶ（配列番号５６）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｊ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号５７）のＨＣＤＲ１、ＶＧＶＩＫＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５８）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、または、

（ｋ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＴＳＹＧＭＨ（配列番号５９）のＨＣＤＲ１、ＶＧＶＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号６０）のＨＣＤＲ２、およびＧＹＧＮＹＷＹＩＤＶ（配列番号６１）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＬＡ（配列番号５１）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２）のＬＣＤＲ３を含む、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分。

【請求項２】

（ａ）前記ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号１を含み、かつ、前記ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号２を含み、

（ｂ）前記ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号３を含み、かつ、前記ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号４を含み、

（ｃ）前記ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号５を含み、かつ、前記ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号６を含み、または

（ｄ）前記ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号７を含み、かつ、前記ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号８を含む、請求項１記載の抗体またはその抗原結合部分。

【請求項３】

抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体は、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３を含有する重鎖可変（ＶＨ）領域、ならびにＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３を含有する軽鎖可変（ＶＬ）領域を含有し、

（ａ）ＨＣＤＲ１は、アミノ酸配列Ｇ－Ｆ－X_1－X_2－X_3－Ｓ－Ｙ－X_4－X_5－X_6を含み、式中、X_1はＴまたはＴの保存的置換であり、X_2はＦまたはＦの保存的置換であり、X_3はＳまたはＳの保存的置換であり、X_4はＧまたは任意の他のアミノ酸であり、X_5はＭまたはＭの保存的置換であり、またX_6はＳまたは任意の他のアミノ酸であり（配列番号２０）、

（ｂ）ＨＣＤＲ２は、アミノ酸配列X_1－X_2－X_3－Ｉ－X_4－X_5－X_6－Ｇ－Ｓ－X_7－X_8－Ｙ－X_9－Ｄ－Ｓ－Ｖ－Ｋ－Ｇを含み、式中、X_1はＶまたはＶの保存的置換であり、X_2はＡまたはＡの保存的置換であり、X_3はＶまたはＮであり、X_4はＷまたはＫであり、X_5はＱまたはＡであり、X_6はＤまたはＧであり、X_7はＴまたはＥであり、X_8はＮ、ＫまたはＳであり、またX_9はＮまたはＶであり（配列番号２１）、

（ｃ）ＨＣＤＲ３は、アミノ酸配列X_1－X_2－Ｇ－X_3－X_4－X_5－Ｙ－X_6－X_7－X_8を含み、式中、X_1はＡまたは任意の他のアミノ酸であり、X_2はＹまたはＹの保存的置換であり、X_3はＮまたは任意の他のアミノ酸であり、X_4はＹまたはＹの保存的置換であり、X_5はＷまたは任意の他のアミノ酸であり、X_6はＩまたは任意の他のアミノ酸であり、X_7はＤまたはＤの保存的置換であり、またX_8はＶまたは任意の他のアミノ酸であり（配列番号２２）、

（ｄ）ＬＣＤＲ１は、アミノ酸配列Ｋ－Ｓ－Ｓ－X_1－Ｓ－Ｖ－X_2－Ｎ－Ｄ－X_3－

Ａを含み、式中、X_1はＱまたはＥであり、X_2はＳまたはＳの保存的置換であり、またX_3はＬまたはＬの保存的置換であり（配列番号２６）、

（ｅ）ＬＣＤＲ２は、アミノ酸配列Ｙ－Ａ－X_1－X_2－Ｒ－Ｆ－X_3を含み、式中、X_1はＦまたは任意の他のアミノ酸であり、X_2はＨまたは任意の他のアミノ酸であり、またX_3はＳまたはＳの保存的置換であり（配列番号２７）、

（ｆ）ＬＣＤＲ３は、アミノ酸配列X_1－Ｑ－X_2－Ｙ－Ｓ－X_3－Ｐ－X_4－Ｔを含み、式中、X_1はＱまたは任意の他のアミノ酸であり、X_2はＡまたは任意の他のアミノ酸であり、X_3はＴまたは任意の他のアミノ酸であり、またX_4はＹまたは任意の他のアミノ酸である（配列番号２８）、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分。

【請求項４】

抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分であって、当該抗体または抗原結合部分は、ＰＤ１への結合を、請求項１から３のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分と交差競合し、ならびに

（ａ）完全生殖細胞系列ヒトフレームワークアミノ酸配列を含有し、および／または

（ｂ）ヒトＰＤ１およびカニクイザルＰＤ１に対して特異的に結合し、および／または

（ｃ）ＬＣＤＲ２中に酸化部位を含有せず、および／または

（ｄ）ＶＨドメインのＨＣＤＲ２／フレームワーク３領域中に、高いＭＨＣクラスＩＩ結合アフィニティをもつヒト生殖細胞ペプチド配列を含有し、および／または

（ｅ）ＶＨドメインのＨＣＤＲ１／フレームワーク２領域中にヒトＴ細胞エピトープ配列を含有せず、および／または

（ｆ）ＶＨドメインのＨＣＤＲ３／フレームワーク４領域中にヒトＴ細胞エピトープ配列を含有せず、および／または

（ｇ）ＩｇＧ１エフェクターヌル抗体形式のときに、抗体Ｈｕ３１７と比較して、低い電荷種の不均一性を示す、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分。

【請求項５】

前記抗体が、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体である、請求項１から４のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項６】

前記ＶＨ領域、前記ＶＬ領域、または前記ＶＨ領域と前記ＶＬ領域との両方は、１つまたは複数のヒトフレームワーク領域のアミノ酸配列を含有する、請求項１から５のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項７】

前記ＶＨ領域、前記ＶＬ領域、または前記ＶＨ領域と前記ＶＬ領域との両方は、前記ＣＤＲが挿入されたヒト可変領域フレームワークスキャホールドのアミノ酸配列を含有する、請求項１から６のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項８】

前記ＶＨ領域は、前記ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３のアミノ酸配列が挿入されたＩＧＨＶ３－７ヒト生殖細胞系列スキャホールドのアミノ酸配列を含有する、請求項１または３に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項９】

前記ＶＬ領域は、前記ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３のアミノ酸配列が挿入されたＩＧＫＶ４－１ヒト生殖細胞系列スキャホールドのアミノ酸配列を含有する、請求項１、３および８のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項１０】

前記抗体は、免疫グロブリン定常領域を含有する、請求項１から９のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項１１】

前記免疫グロブリン定常領域は、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡまたはＩｇＹである、請求項１０記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項１２】

前記免疫グロブリン定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１またはＩｇＡ２である、請求項１１に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項１３】

前記免疫グロブリン定常領域は、免疫学的に不活性である、請求項１０記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項１４】

前記免疫グロブリン定常領域は、野生型ヒトＩｇＧ４定常領域、Ｓ２２８Ｐのアミノ酸置換を含有するヒトＩｇＧ４定常領域、野生型ヒトＩｇＧ１定常領域、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５ＡおよびＧ２３７Ａのアミノ酸置換を含有するヒトＩｇＧ１定常領域である、または野生型ヒトＩｇＧ２定常領域である、請求項１０記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項１５】

前記免疫グロブリン定常領域は、配列番号９から１５のいずれか１つを含有する、請求項１３記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項１６】

前記抗体または抗原結合部分は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｄ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、単一ドメイン抗体（ｄＡｂ）、マキシボディ、ミニボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ｖ－ＮＡＲ、またはｂｉｓ－ｓｃＦｖである、請求項１から１５のいずれか一項に記載の抗原結合部分。

【請求項１７】

前記抗体は、モノクローナルである、請求項１から１６のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項１８】

前記抗体は、四量体抗体、四価抗体、または多特異性抗体である、請求項１から１７のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項１９】

前記抗体は、第一の抗原および第二の抗原に特異的に結合する二特異性抗体であり、前記第一の抗原はＰＤ１であり、前記第二の抗原はＰＤ１ではない、請求項１から１８のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項２０】

前記抗体または抗原結合部分は、（ａ）ヒトＰＤ１に特異的に結合する、または（ｂ）ヒトＰＤ１およびカニクイザルＰＤ１に特異的に結合する、請求項１から１９のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分。

【請求項２１】

治療剤に結合された請求項１から２０のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分を含有する免疫結合体。

【請求項２２】

前記治療剤が、細胞毒素、放射性同位体、化学療法剤、免疫調節剤、抗血管新生剤、抗増殖剤、アポトーシス促進剤、細胞増殖抑制酵素、細胞溶解性酵素、治療用核酸、抗血管新生剤、抗増殖剤、またはアポトーシス促進剤である、請求項２１記載の免疫結合体。

【請求項２３】

請求項１から２０のいずれか一項に記載の抗体もしくは抗原結合部分、または請求項２１もしくは２２に記載の免疫結合体、および薬学的に許容可能な担体、希釈剤または賦形剤を含有する、医薬組成物。

【請求項２４】

核酸分子であって、請求項１から２０のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合部分の

（ａ）ＶＨ領域のアミノ酸配列、

（ｂ）ＶＬ領域のアミノ酸配列、または

（ｃ）ＶＨ領域およびＶＬ領域の両方のアミノ酸配列、をコードする核酸分子。

【請求項２５】

請求項２４に記載の核酸分子を含有する発現ベクター。
【請求項２６】
請求項２４に記載の核酸分子、または請求項２５に記載の発現ベクターを含有する組換え宿主細胞。
【請求項２７】
抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を作製する方法であって、
前記核酸分子が発現される条件下で、請求項２５に記載の発現ベクターを含有する組換え宿主細胞を培養し、それにより抗体または抗原結合部分を作製することと、および
当該宿主細胞または培養物から、前記抗体または抗原結合部分を単離することと、を含む、方法。
【請求項２８】
対象において、免疫反応を強化する方法であって、請求項１から２０のいずれか一項に記載の抗体もしくは抗原結合部分の、請求項２１もしくは２２に記載の免疫結合体の、または請求項２３に記載の医薬組成物の治療有効量を前記対象に投与することを含む、方法。
【請求項２９】
対象において、癌、感染症もしくは免疫性疾患を治療または予防する方法であって、請求項１から２０のいずれか一項に記載の抗体もしくは抗原結合部分の、請求項２１もしくは２２に記載の免疫結合体の、または請求項２３に記載の医薬組成物の治療有効量を前記対象に投与することを含む、方法。
【請求項３０】
前記癌が、膵臓癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、気管支癌、結腸直腸癌、前立腺癌、胃癌、卵巣癌、膀胱癌、脳腫瘍または中枢神経系の癌、末梢神経系の癌、食道癌、子宮頸癌、子宮癌または子宮内膜癌、口腔または咽頭の癌、肝癌、腎癌、精巣癌、胆管癌、小腸癌または虫垂癌、唾液腺癌、甲状腺癌、副腎癌、骨肉腫、軟骨肉腫、または血液組織の癌である、請求項２９記載の方法。
【請求項３１】
前記感染症が、ウイルス性、細菌性、真菌性、または寄生虫性である、請求項２９記載の方法。
【請求項３２】
前記感染症が、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）感染症である、請求項２９記載の方法。
【請求項３３】
癌、感染症、または免疫性疾患の治療における使用のための、請求項１から２０のいずれか一項に記載の抗体もしくは抗原結合部分、請求項２１もしくは２２に記載の免疫結合体、または請求項２３に記載の医薬組成物。
【請求項３４】
前記癌が、膵臓癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、気管支癌、結腸直腸癌、前立腺癌、胃癌、卵巣癌、膀胱癌、脳腫瘍または中枢神経系の癌、末梢神経系の癌、食道癌、子宮頸癌、子宮癌または子宮内膜癌、口腔または咽頭の癌、肝癌、腎癌、精巣癌、胆管癌、小腸癌または虫垂癌、唾液腺癌、甲状腺癌、副腎癌、骨肉腫、軟骨肉腫、または血液組織の癌である、請求項３３に記載の使用のための抗体もしくは抗原結合部分、免疫結合体、または医薬組成物。
【請求項３５】
前記感染症が、ウイルス性、細菌性、真菌性、または寄生虫性である、請求項３３に記載の使用のための抗体もしくは抗原結合部分、免疫結合体、または医薬組成物。
【請求項３６】
前記感染症が、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）感染症である、請求項３３に記載の使用のための抗体もしくは抗原結合部分、免疫結合体、または医薬組成物。
【請求項３７】

医薬品としての使用のための、請求項１から２０のいずれか一項に記載の抗体もしくは抗原結合部分、請求項２１または２２に記載の免疫結合体、または請求項２３に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０１８年8月１６日に出願された英国特許出願第１８１３４０５．６号明細書、および２０１８年3月8日に出願された英国特許出願第１８０３７４６．５号明細書の利益を主張するものであり、それら各開示内容は、その全体で参照により本明細書に援用される。
【０００２】
電子的に提出されるテキストファイルに関する説明
本明細書とともに電子的に提出される以下のテキストファイルの内容は、その全体で参照により本明細書に援用される：コンピューター読み取り可能な形式の配列表のコピー（ファイルの名称：ＵＬＮＬ＿００１＿００ＷＯ＿ＳｅｑＬｉｓｔ＿ＳＴ２５．ｔｘｔ、データ記録日：２０１９年3月7日、ファイルサイズは１５３，５６２バイト）。
【０００３】
本発明は、ＰＤ１（プログラム細胞死１、ＰＤＣＤ１、ＣＤ２７９、ＰＤ－１、ＳＬＥＢ２、ＰＤ－１、ＳＬＥ１としても知られる）に特異的に結合する抗体分子およびその医療用途に関する。
【背景技術】
【０００４】
ＰＤ１は免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバーである細胞表面受容体であり、主にＴ細胞上で発現するが、プロＢ細胞上では観察されない、細胞表面受容体である。ＰＤ１は２つの公知のリガンド、ＰＤ－Ｌ１およびＰＤ－Ｌ２を結合する。これらリガンドとＴ細胞上のＰＤ１との相互作用により、Ｔ細胞炎症活性が下方制御されるが、これが免疫自己寛容を促進する。したがって、ＰＤ１は免疫「チェックポイント」であると説明されている。このチェックポイント活性は、自己抗原に反応するリンパ節常在性Ｔ細胞においてアポトーシス（プログラム細胞死）を促進することによって、自己免疫リスクを最小化することが実証されている。重要なことには、ＰＤ１ライゲーションもまた、制御性（抗炎症性）Ｔ細胞の生存を促進する。
【０００５】
非病的状態におけるＰＤ１／ＰＤ－Ｌ１（２）結合の役割は、自己寛容に重要であるが、それはまた、それによって腫瘍細胞が免疫監視の間に「外来性」として特定されることを免れる重要な機序でもある。実際にＰＤ－Ｌ１は、数種の癌において高度に発現されることが示されている。したがってＰＤ１を標的とし、またその機能に拮抗するモノクローナル抗体は、高ＰＤ－Ｌ１発現を伴うおよび／または高レベルの変異が現れる、悪性細胞に対する免疫反応を後押しすることによって、癌治療の際に有意な潜在的価値があるものとなり得る。数多くの前臨床のエビデンスおよび臨床のエビデンスが、ＰＤ１／ＰＤ－Ｌ１結合を遮断することが、Ｔ細胞の抗腫瘍活性を促進して、また血液悪性腫瘍および固形悪性腫瘍の両方の成長を阻害することが可能であるということを示唆する。ＰＤ１／ＰＤ－Ｌ１活性はまた、例えばＨＩＶ等である慢性疾患で誘導され得るため、抗ＰＤ１アンタゴニスト抗体もまた、感染症環境において治癒的価値を有し得る。ゆえに、アンタゴニスト性の抗ＰＤ１　ｍＡｂは、癌、免疫疾患および感染症の環境において免疫治療剤として作用し、現在確立されている治療法の有効性を増幅させる可能性を有している。
【０００６】
現在承認されている抗体治療剤の大部分は、免疫化されたげっ歯類に由来する。そうした抗体の多くが、マウスＣＤＲのヒトｖ－遺伝子フレームワーク配列への「移植」を介し

た、「ヒト化」として知られるプロセスを経ている（Ｎｅｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，２０１０，Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖ ９：７６７－７７４を参照のこと）。このプロセスは多くの場合、不正確であり、得られた抗体の標的結合アフィニティの低下が生じる。元の抗体の結合アフィニティに戻すために、通常、移植されたｖ－ドメインの可変ドメインフレームワーク中の重要な位置にマウス残基が導入される（「復帰突然変異（ｂａｃｋ－ｍｕｔａｔｉｏｎ）」としても知られる）。

【０００７】

ＣＤＲ移植および復帰突然変異によりヒト化された抗体は臨床において、完全マウスｖ－ドメインによるものと比較して低い免疫反応率を誘導することが示されているが、この基礎的な移植法を使用してヒト化された抗体は、物理的に不安定である可能性があり、移植ＣＤＲループ内に免疫原性モチーフがいまだ保存されていることから、いまだ重大な臨床開発リスクを負っている。免疫細胞上の受容体を標的とし、その薬理学的な機能によって免疫反応が刺激される、例えばＰＤ１阻害剤などの抗体は、抗薬剤抗体反応を誘発するリスクを高める。患者のそうした抗薬剤抗体反応は、臨床使用における薬剤の半減期、有効性および安全性も低下させ得る。タンパク質の免疫原性に関する動物実験は、ヒトでの免疫反応の予測とはならないことが多く、治療用途の抗体操作は、予測されるヒトＴ細胞エピトープ含量、非ヒト生殖細胞系列アミノ酸含量、および精製タンパク質が凝集してしまう可能性を最小化することに焦点が置かれている。

【０００８】

ゆえに理想的なヒト化アゴニスト性抗ＰＤ１抗体は、ｖ－ドメイン中に、詳細に特徴解析されたヒト生殖細胞系列配列のフレームワークとＣＤＲの両方に存在する残基と同一の残基を可能な限り多く有している抗体である。Ｔｏｗｎｓｅｎｄら （２０１５； ＰＮＡＳ １１２：１５３５４－１５３５９）は、抗体の作製方法を記載しており、当該方法においてラット抗体、ウサギ抗体およびマウス抗体に由来するＣＤＲは、好ましいヒトフレームワーク内に移植され、次いで「拡張バイナリー置換（ａｕｇｍｅｎｔｅｄ ｂｉｎａｒｙ ｓｕｂｓｔｉｔｕｔｉｏｎ）」と呼ばれるヒト生殖細胞系列化（ｈｕｍａｎ ｇｅｒｍ－ｌｉｎｉｎｇ）方法が行われた。この方法は、元の抗体のパラトープにおいては基礎的な柔軟性を示したが、研究者らが正確性の高い抗体－抗原の共結晶構造データを有している場合であっても、任意の所与の抗体のＣＤＲループ中のどの個々の残基がどの組み合わせでヒト生殖細胞系列に転換され得るかを確実に予測することは未だ不可能である。さらにＴｏｗｎｓｅｎｄらの研究では、ヒト生殖細胞系列中に存在する残基を超えた、開発リスクモチーフの除去が有益となる可能性がある位置に突然変異誘導を加えることには対処していない。これは技術の限界であり、この限界によってプロセスが本質的に非効率的となり、開始抗体配列を改変する余剰な段階が必要となる。さらに現時点では、個々のｖ－ドメインのタンパク質配列で離れた位置にある改変のいずれが、リスクモチーフを排除しながら、抗原結合のアフィニティと特異性の維持を促進し得るのかは、たとえパートナーｖ－ドメイン上であったとしても正確に予測することはできない。

【０００９】

このようにＣＤＲの生殖細胞系列化および開発クオリティの最適化は複雑で多因子的な課題であるため、本例においては以下をはじめとする複合的な分子の機能特性が維持されるまたは改善されることが好ましい：標的結合特異性、ＰＤ１／ＰＤ－Ｌ１シグナル伝達アンタゴニズム、高い正確性の前臨床安全性試験を容易にするできる限り類似する必要があるヒトおよび実験動物種（例えばカニクイザルとして知られるｃｙｎｏｍｏｌｇｕｓ ｍｏｎｋｅｙ、すなわちＭａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）の両方に由来するＰＤ１に対するアフィニティ、ｖ－ドメインの生物物理的安定性、ならびに／または製造目的に最適である必要があるＩｇＧ発現収率。抗体操作実験から、重要なＣＤＲ中のたった１つの残基位置での突然変異であっても、これら望ましい分子特性のすべてに対し劇的な負の影響を与え得ることが示されている。

【００１０】

国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号は、「Ｍｕ３１７」と名づけられたアンタゴ

ニスト性マウス抗ＰＤ１　ＩｇＧ分子、ならびに「Ｍｕ３１７（ｈｕ３１７と表す）」のヒト化型の調製を記載している。そのＭｕ３１７のヒト化型は、古典的なヒト化技術、すなわちＫａｂａｔ規定のマウスＣＤＲをヒトの重鎖および軽鎖のフレームワーク配列に移植することにより作製されており、ヒトフレームワーク残基の一部は、対応する位置のＭｕ３１７マウス残基に復帰突然変異されている可能性がある。上述の理由によって、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号に記載されるＭｕ３１７のヒト化型は理想的ではない。

【発明の概要】

【００１１】

本発明は、多くの抗ＰＤ１抗体、およびその医療用途を提供する。

【００１２】

本発明の１つの態様によると、ヒトＰＤ１に、および任意でカニクイザルＰＤ１にも特異的に結合する抗体分子、またはその抗原結合部分が提供され、当該抗体分子または抗原結合部分は、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するＨＣＤＲ１：Ｇ－Ｆ－ＴまたはＴ（例えばＳ）－Ｆの保存的置換またはＦ（例えばＬ）－Ｓの保存的置換またはＳ（例えばＴ）－Ｓ－Ｙ－Ｇの保存的置換または任意のアミノ酸（例えばＷ）－ＭまたはＭ（例えばＶ）－Ｓの保存的置換または任意のアミノ酸（例えばＨ）（配列番号２０）と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するＨＣＤＲ２：ＶまたはＶ（例えばＬ）－Ａの保存的置換またはＡ（例えばＧ）－Ｖ／Ｎ－Ｉ－Ｗ／Ｋ－Ｑ／Ａ－Ｄ／Ｇ－Ｇ－Ｓ－Ｔ／Ｅ－Ｎ／Ｋ／Ｓ－Ｙ－Ｎ／Ｖ－Ｄ－Ｓ－Ｖ－Ｋ－Ｇの保存的置換（配列番号２１）と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するＨＣＤＲ３：Ａまたは任意のアミノ酸（例えばＤ／Ｅ／Ｇ／Ｈ／Ｉ／Ｋ／Ｌ／Ｈ／Ｑ／Ｓ／Ｖ／Ｗ）－ＹもしくはＹ（例えばＦ／Ｗ）－Ｇ－Ｎの保存的置換または任意のアミノ酸（例えばＡ／Ｅ／Ｆ／Ｇ／Ｈ／Ｉ／Ｑ／Ｒ／Ｓ／Ｔ／Ｖ／Ｗ／Ｙ）－ＹまたはＹ（例えばＶ／Ｗ）－Ｗの保存的置換または任意のアミノ酸（例えばＦ／Ｈ／Ｍ／Ｐ／Ｑ／Ｓ／Ｖ）－Ｙ－Ｉまたは任意のアミノ酸（例えばＬ／Ｍ／Ｓ／Ｔ／Ｖ／Ｙ）－ＤまたはＤ（例えばＥ）－Ｖの保存的置換または任意のアミノ酸（例えばＡ／Ｅ／Ｆ／Ｇ／Ｈ／Ｉ／Ｋ／Ｌ／Ｍ／Ｒ／Ｓ／Ｔ／Ｗ／Ｙ）（配列番号２２）と、

を伴う重鎖可変領域を含む。

【００１３】

本発明の態様において、抗体分子もしくは抗原結合部分のＨＣＤＲ１は、配列ＧＦＳＬＴＳＹＧＶＨ（配列番号２３、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号、米国特許出願公開第２０１５／０７９１０９Ａ１号に開示されるＭｕ３１７マウス／ヒト化抗体のＨＣＤＲ１）、ＶＩＷＡＧＧＳＴＮＹＮＳＡＬＭＳ（配列番号２４、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号、米国特許出願公開第２０１５／０７９１０９Ａ１号に開示されるＭｕ３１７マウス／ヒト化抗体のＨＣＤＲ２）を除外してもよく、および／または抗体分子もしくは抗原結合部分のＨＣＤＲ３は、配列ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＶ（配列番号２５、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号、米国特許出願公開第２０１５／０７９１０９Ａ１号に開示されるＭｕ３１７マウス／ヒト化抗体のＨＣＤＲ３）を除外してもよい。

【００１４】

抗体分子または抗原結合部分は、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するＬＣＤＲ１：Ｋ－Ｓ－Ｓ－Ｑ／Ｅ－Ｓ－Ｖ－ＳまたはＳ（Ｇ／Ｔ等）－Ｎ－Ｄ－Ｌの保存的置換またはＬ（Ｖ等）－Ａの保存的置換（配列番号２６）と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するＬＣＤＲ２：Ｙ－Ａ－Ｆまたは任意のアミノ酸（例えばＳ）－Ｈまたは任意のアミノ酸（例えばＰ／Ｔ）－Ｒ－Ｆ－ＳまたはＳ（Ａ／Ｔ等）の保存的置換（配列番号２７）と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するＬＣＤＲ３：Ｑまたは任意のアミノ酸（例えば、Ｈ）－Ｑ－Ａまたは任意のアミノ酸（例えば、Ｓ）－Ｙ－Ｓ－Ｔまたは任意のアミノ酸（例えば、Ｎ／Ｓ）－Ｐ－Ｙまたは任意のアミノ酸（例えば、Ｗ）－Ｔ（配列番号２８）と

、を伴う軽鎖可変領域をさらに含んでもよい。

【００１５】

本発明の態様において、抗体分子もしくは抗原結合部分のＬＣＤＲ１は、配列ＫＡＳＱＳＶＳＮＤＶＡ／ＫＳＳＱＥＶＳＮＤＶＡ（配列番号２９／配列番号３０、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号、米国特許出願公開第２０１５／０７９１０９Ａ１号に開示されるＭｕ３１７マウス／ヒト化抗体のＬＣＤＲ１）を除外してもよく、および／または、抗体分子もしくは抗原結合部分のＬＣＤＲ２は、配列ＹＡＦＨＲＦＴ（配列番号３１、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号、米国特許出願公開第２０１５／０７９１０９Ａ１号に開示されるＭｕ３１７マウス／ヒト化抗体のＬＣＤＲ２）を除外してもよく、および／または抗体分子もしくは抗原結合部分のＬＣＤＲ３は、配列ＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３２、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号、米国特許出願公開第２０１５／０７９１０９Ａ１号に開示されるＭｕ３１７マウス／ヒト化抗体のＬＣＤＲ３）を除外してもよい。

【００１６】

一部の態様において、本明細書は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３を含有する重鎖可変（ＶＨ）領域、ならびにＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３を含有する軽鎖可変（ＶＬ）領域を含有し、この場合において、

（ａ）ＨＣＤＲ１は、アミノ酸配列Ｇ－Ｆ－X_1－X_2－X_3－Ｓ－Ｙ－X_4－X_5－X_6を含み、式中、X_1はＴまたはＴの保存的置換であり、X_2はＦまたはＦの保存的置換であり、X_3はＳまたはＳの保存的置換であり、X_4はＧまたは任意の他のアミノ酸であり、X_5はＭまたはＭの保存的置換であり、またX_6はＳまたは任意の他のアミノ酸であり（配列番号２０）、

（ｂ）ＨＣＤＲ２は、アミノ酸配列X_1－X_2－X_3－Ｉ－X_4－X_5－X_6－Ｇ－Ｓ－X_7－X_8－Ｙ－X_9－Ｄ－Ｓ－Ｖ－Ｋ－Ｇを含み、式中、X_1はＶまたはＶの保存的置換であり、X_2はＡまたはＡの保存的置換であり、X_3はＶまたはＮであり、X_4はＷまたはＫであり、X_5はＱまたはＡであり、X_6はＤまたはＧであり、X_7はＴまたはＥであり、X_8はＮ、ＫまたはＳであり、またX_9はＮまたはＶであり（配列番号２１）、

（ｃ）ＨＣＤＲ３は、アミノ酸配列X_1－X_2－Ｇ－X_3－X_4－X_5－Ｙ－X_6－X_7－X_8を含み、式中、X_1はＡまたは任意の他のアミノ酸であり、X_2はＹまたはＹの保存的置換であり、X_3はＮまたは任意の他のアミノ酸であり、X_4はＹまたはＹの保存的置換であり、X_5はＷまたは任意の他のアミノ酸であり、X_6はＩまたは任意の他のアミノ酸であり、X_7はＤまたはＤの保存的置換であり、またX_8はＶまたは任意の他のアミノ酸であり（配列番号２２）、

（ｄ）ＬＣＤＲ１は、アミノ酸配列Ｋ－Ｓ－Ｓ－X_1－Ｓ－Ｖ－X_2－Ｎ－Ｄ－X_3－Ａを含み、式中、X_1はＱまたはＥであり、X_2はＳまたはＳの保存的置換であり、またX_3はＬまたはＬの保存的置換であり（配列番号２６）、

（ｅ）ＬＣＤＲ２は、アミノ酸配列Ｙ－Ａ－X_1－X_2－Ｒ－Ｆ－X_3を含み、式中、X_1はＦまたは任意の他のアミノ酸であり、X_2はＨまたは任意の他のアミノ酸であり、またX_3はＳまたはＳの保存的置換であり（配列番号２７）、

（ｆ）ＬＣＤＲ３は、アミノ酸配列X_1－Ｑ－X_2－Ｙ－Ｓ－X_3－Ｐ－X_4－Ｔを含み、式中、X_1はＱまたは任意の他のアミノ酸であり、X_2はＡまたは任意の他のアミノ酸であり、X_3はＴまたは任意の他のアミノ酸であり、またX_4はＹまたは任意の他のアミノ酸である（配列番号２８）。

【００１７】

一部の態様において、本発明は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体は、重鎖可変（ＶＨ）領域および軽鎖可変（ＶＬ）領域を含有し、この場合において、

（ａ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号３４）のＨＣＤＲ２、およびＡＹ

ＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６）のＬＣＤＲ１、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｂ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＬＳＳＹＧＭＳ（配列番号３９）のＨＣＤＲ１、ＶＡＶＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４０）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６）のＬＣＤＲ１、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｃ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＥＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４１）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６）のＬＣＤＲ１、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｄ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４３）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｅ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＴＳＹＧＭＳ（配列番号４７）のＨＣＤＲ１、ＬＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４８）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｆ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＶＨ（配列番号４９）のＨＣＤＲ１、ＶＧＶＩＷＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５０）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＬＡ（配列番号５１）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｇ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４３）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｈ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２）のＨＣＤＲ１、ＬＡＮＩＷＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５３）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｉ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＬＳＳＹＧＭＨ（配列番号５４）のＨＣＤＲ１、ＬＡＶＩＷＡＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５５）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＭＹＩＤＶ（配列番号５６）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番

号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｊ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号５７）のＨＣＤＲ１、ＶＧＶＩＫＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５８）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、または、

（ｋ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＴＳＹＧＭＨ（配列番号５９）のＨＣＤＲ１、ＶＧＶＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号６０）のＨＣＤＲ２、およびＧＹＧＮＹＷＹＩＤＶ（配列番号６１）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＬＡ（配列番号５１）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２）のＬＣＤＲ３を含む。

【００１８】

一部の態様において、本明細書は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変（ＶＨ）領域および軽鎖可変（ＶＬ）領域を含有し、この場合において、

当該ＶＨ領域のアミノ酸配列は、

（ａ）配列番号３３、配列番号３９、配列番号４２、配列番号４７、配列番号４９、配列番号５４、配列番号５７、または配列番号５９のＨＣＤＲ１と、

（ｂ）配列番号３４、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４３、配列番号４８、配列番号５０、配列番号５３、配列番号５５、配列番号５８、または配列番号６０のＨＣＤＲ２と、

（ｃ）配列番号３５、配列番号５６、または配列番号６１のＨＣＤＲ３とを含み、

当該ＶＬ領域のアミノ酸配列は、

（ａ’）配列番号３６、配列番号４４、または配列番号５１のＬＣＤＲ１と、

（ｂ’）配列番号３７または配列番号４５のＬＣＤＲ２と、

（ｃ’）配列番号３８、配列番号４６、または配列番号５２のＬＣＤＲ３とを含む。

【００１９】

一部の態様において、本発明は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体は、重鎖可変（ＶＨ）領域および軽鎖可変（ＶＬ）領域を含有し、この場合において、

（ａ）当該ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号１を含み、かつ、当該ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号２を含み、

（ｂ）上記ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号３を含み、かつ、上記ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号４を含み、

（ｃ）上記ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号５を含み、かつ、上記ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号６を含み、または

（ｄ）上記ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号７を含み、かつ、上記ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号８を含む。

【００２０】

さらに本発明により、治療剤に連結された、融合された、または結合された、本明細書に規定される抗体分子またはその抗原結合部分を含有する免疫結合体が提供される。

【００２１】

別の態様において、本発明は、本明細書に規定される抗体分子またはその抗原結合部分をコードする核酸分子を提供する。

【００２２】

さらに、本発明の核酸分子を含有するベクターが提供される。

【００２３】

また、本明細書に規定される本発明の核酸分子またはベクターを含有する宿主細胞も提供される。

【００２４】

さらなる態様において、抗ＰＤ１抗体および／またはその抗原結合部分を作製する方法も提供され、当該方法は、当該抗体および／もしくはその抗原結合部分の発現ならびに／または産生が生じる条件下で、本発明の宿主細胞を培養することと、当該宿主細胞または培養物から、当該抗体および／またはその抗原結合部分を単離することと、を含む。

【００２５】

本発明の別の態様において、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される本発明の核酸分子、または本明細書に規定される本発明のベクターを含有する医薬組成物が提供される。

【００２６】

さらに、対象において免疫反応を強化する方法が提供され、当該方法は、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される本発明の核酸分子の有効量、または本明細書に規定される本発明のベクターの有効量、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物の有効量を投与することを含む。

【００２７】

さらなる態様において、対象において癌を治療または予防する方法が提供され、当該方法は、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される本発明の核酸分子の有効量、または本明細書に規定される本発明のベクターの有効量、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物の有効量を投与することを含む。

【００２８】

さらに、医薬品としての使用のための、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される免疫結合体、または本明細書に規定される核酸分子、または本明細書に規定されるベクター、または本明細書に規定される医薬組成物が提供される。本発明はさらに、癌の治療における使用のための、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体、または本明細書に規定される本発明の核酸分子、または本明細書に規定される本発明のベクター、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物を提供する。

【００２９】

別の態様において、本発明は、例えば抗癌剤などの第二の治療剤と組み合わされる併用において、別個に使用する、連続して使用する、または同時に使用するための、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分、または免疫結合体、または核酸分子、またはベクター、または治療方法を提供する。

【００３０】

さらなる態様において、癌の治療のための医薬品の製造における、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分の使用、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体の使用、または本明細書に規定される本発明の核酸分子の使用、または本明細書に規定される本発明のベクターの使用、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物の使用が提供される。

【００３１】

本発明はさらに、対象において感染性疾患を治療または予防する方法を提供するものであり、当該方法は、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される核酸分子の有効量、または本明細書に規定されるベクターの有効量、または本明細書に規定される医薬組成物の有効量を投与することを含む。

【００３２】

感染症は、すべての態様において、ウイルス性、細菌性、真菌性、または寄生虫性から

なる群から選択されてもよい。一実施形態において、感染症は、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）感染症である。

【００３３】

また、感染症の治療における使用のための、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される免疫結合体、または本明細書に規定される核酸分子、または本明細書に規定されるベクター、または本明細書に規定される医薬組成物が提供される。

【００３４】

さらに、感染症の治療のための医薬品の製造における、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分の使用、または本明細書に規定される免疫結合体の使用、または本明細書に規定される核酸分子の使用、または本明細書に規定されるベクターの使用、または本明細書に規定される医薬組成物の使用が提供される。

【００３５】

本発明はさらに、対象において感染症を治療または予防する方法を提供するものであり、当該方法は、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される核酸分子の有効量、または本明細書に規定されるベクターの有効量、または本明細書に規定される医薬組成物の有効量を投与することを含む。

【００３６】

本発明はさらに、ヒトＰＤ１に特異的に結合し、および任意でカニクイザルのＰＤ１にも特異的に結合する抗体分子、またはその抗原結合部分を作製する方法を提供するものであり、当該方法は、

（１）非ヒト源由来の抗ＰＤ１　ＣＤＲをヒトｖ－ドメインフレームワーク内に移植し、ヒト化抗ＰＤ１抗体分子またはその抗原結合部分を作製する工程、

（２）ＣＤＲ中に１つまたは複数の変異を含有する当該ヒト化抗ＰＤ１抗体分子またはその抗原結合部分のクローンのライブラリーを作製する工程、

（３）ヒトＰＤ１への結合について、および任意でカニクイザルのＰＤ１への結合についても当該ライブラリーをスクリーニングする工程、

（４）スクリーニングする工程（３）から、ヒトＰＤ１に特異的に結合する、および任意でカニクイザルＰＤ１にも特異的に結合するクローンを選択する工程、ならびに

（５）ヒトＰＤ１に特異的に結合し、および任意でカニクイザルＰＤ１にも特異的に結合する抗体分子、またはその抗原結合部分を、工程（４）から選択されたクローンから作製する工程、を含む。

【００３７】

当該方法は、工程（４）で選択されたクローンに基づき、例えば工程（４）で選択されたクローンのＣＤＲ中の特定の位置でのさらなる探索的な突然変異誘導に基づき、追加のクローンを作製して、ヒト化を強化し、および／またはヒトＴ細胞エピトープ含量を最小化し、および／または工程（５）で作製された抗体分子もしくはその抗原結合部分の製造特性を改善するさらなる工程を含んでもよい。

【図面の簡単な説明】

【００３８】

【図１Ａ】図１Ａ～図１Ｂ。ヒトおよびカニクイザルのＰＤ１－Ｆｃタンパク質に対するライブラリー由来抗ＰＤ１　Ｆａｂの直接結合ＥＬＩＳＡならびにＨＴＲＦ競合アッセイ。複数のファージ選択ブランチからクローンが誘導された。選択ブランチにおいて、ファージ群は、ビオチン化されたヒトまたはカニクイザルのＰＤ１タンパク質に対し各ラウンドで選択された。標準選択は、ＲＩ～ＲＩＶと番号付けされた。各選択ラウンドの後に、ライブラリー由来クローンは、ＥＬＩＳＡ（図１Ａ）において、ヒト（ｈｕＰＤ１）およびカニクイザル（ｃｙＰＤ１）の両方に対して、ペリプラズム発現したＦａｂタンパク質としてスクリーニングされた。Ｆａｂサンプルはまた、ＨＴＲＦによって、ヒトＰＤ１上のｍｕ３１７の結合エピトープに対する競合能について並行して試験した（図１Ｂ）。各

ラウンドの平均±ＳＤ値は、灰色の棒で表されている。
【図１Ｂ】同上。
【図２Ａ】図２Ａ～図２Ｂ。生殖細胞系列への変異に関する、ＣＤＲ残基の寛容の分析。ＥＬＩＳＡ陽性の７１２個の固有ｓｃＦｖクローン群のＣＤＲにおける、マウスアミノ酸保持頻度の図をそれぞれV_L（配列番号４０９～４１１）（図２Ａ）ドメインおよびV_H（配列番号４１２～４１４）（図２Ｂ）ドメインについて示す。ＨＣＤＲ３以外では、ヒト／マウス残基の突然変異誘導の標的とされた残基のみプロットされている。Ｘ軸上のカッコ内に記載されるＣＤＲ残基は、移植に使用されたヒト生殖細胞系列（ＩＧＫＶ４－１およびＩＧＨＶ３－７）中に存在する残基と同一である。両方の図において、７５％での灰色の破線は、ヒト生殖細胞系列によるマウス残基の置換の寛容性に対するカットオフを表している。
【図２Ｂ】同上。
【図３Ａ】図３Ａ～図３Ｂ。ヒトおよびカニクイザルのＰＤ１－Ｆｃタンパク質への、ライブラリー由来ＩｇＧ１ヌルクローンの結合に関する、直接的力価測定ＥＬＩＳＡ。Ｍｕ３１７、およびライブラリー由来のＩｇＧが、ヒト（図３Ａ）およびカニクイザル（図３Ｂ）のＰＤ１－Ｆｃタンパク質に対する直接結合ＥＬＩＳＡにおいて力価測定（単位ｎＭ）された。
【図３Ｂ】同上。
【図４】図４Ａ～図４Ｂ。ヒトＰＤ１＋ＣＨＯ細胞に対するフローサイトメトリー結合。ヒトＰＤ１を発現する、ヒト（図４Ａ）およびカニクイザル（図４Ｂ）のＣＨＯ細胞に対する特異的な結合に関して、Ｍｕ３１７、リードライブラリー由来およびデザインのＩｇＧを検証した。すべてのクローンについてヒトＰＤ１に対して濃度依存性の結合が観察されるとともに、アイソタイプコントロールＩｇＧ１では結合は観察されなかった。非トランスフェクトＣＨＯ細胞に対して、いずれのクローンでも結合シグナルは観察されなかった。
【図５】図５。細胞系ＰＤ１／ＰＤ－Ｌ１アンタゴニズムアッセイ。ヒトＩｇＧ１ヌル形式での複数のリードクローンに関する、細胞表面におけるヒトＰＤ１機能のアンタゴニズムの解析では、新規クローンすべてが、強い、濃度依存性拮抗作用を呈したことが示された。
【図６】図６Ａ～図６Ｃ。最大限にヒト化したリードクローンＭＨ４、ＭＨ８およびＭＨ１２対ｍｕ３１７およびｈｕ３１７に関する、細胞形ＰＤ１／ＰＤ－Ｌ１アンタゴニズムアッセイヒトＩｇＧ１ヌル形式の複数のリードクローンに関する、ヒトＰＤ１機能のアンタゴニズムの解析。これら解析により、　ｓｈｏｗｅｄ　ｔｈａｔ　クローンＭＨ４（図６Ａ）、ＭＨ８（図６Ｂ）およびＭＨ１２（図６Ｃ）が、ｍｕ３１７およびｈｕ３１７の両方と重複する拮抗能を呈することが示された。値は、平均±ＳＤの誘導倍率（ｆｏｌｄ　ｉｎｄｕｃｔｉｏｎ）として表した。
【図７－１】図７Ａ～図７Ｈ。リード抗体ｖ－ドメインにおける、Ｔ細胞エピトープペプチド含量。Ｈｕ３１７および複数のリード抗体のｖ－ドメインを、生殖細胞系列（ＧＥ）、高アフィニティ外来物（ＨＡＦ）、低アフィニティ外来物（ＬＡＦ）およびＴＣＥＤ＋　Ｔ細胞受容体エピトープの存在について検証した。Ｈｕ３１７のＶＨドメインおよびＶＬドメインの両方とも、複数の高リスクなヒトＴ細胞エピトープを含有し、生殖細胞系列エピトープは殆ど含有しないことが判明した。すべてのリードクローンでは、高リスクエピトープ含量は大幅に減少され、生殖細胞系列エピトープ含量は大幅に改善されていた。
【図７－２】同上。
【図８Ａ】図８Ａ～図８Ｃ。ＭＬＲ細胞系ＰＤ１／ＰＤ－Ｌ１アンタゴニズムアッセイ。同種異系ＭＬＲアッセイにおけるＩＦＮ－γ産生に対する抗ＰＤ１　ＩｇＧの効果。コントロール解析（図８Ａ）、リードクローン０９Ｃ０６、ＭＨ４、ＭＨ８、ＭＨ１２の３点での解析（図８Ｂ）、ならびにクローンＭＨ４、ＭＨ８およびＨｕ３１７に関する複数点での解析（図８Ｃ）を示している。各場合において、アイソタイプコントロールを用いた（ヒトＩｇＧ４またはＩｇＧ１）。

【図８Ｂ】同上。
【図８Ｃ】同上。
【図９】図９。精製ＩｇＧの電荷バリアントプロファイル。（１）０９Ｃ０６、（２）ＭＨ４、（３）ＭＨ８、（４）ＭＨ１２および（５）Ｈｕ３１７を示している。Ｙ軸はのシグナルは、発光単位で測定した。
【図１０】図１０。精製したＩｇＧのＤＳＣサーモグラム。（１）０９Ｃ０６、（２）ＭＨ４、（３）ＭＨ８、（４）ＭＨ１２および（５）Ｈｕ３１７を示している。
【図１１】図１１。ＰＤ１または可能性のある非特異的（ｏｆｆ－ｔａｒｇｅｔ）結合タンパク質でトランスフェクトしたＨＥＫ２９３細胞に対するＨｕ３１７、リード、およびコントロールのＩｇＧのフローサイトメトリー結合結合特異性の解析は、ヒトＰＤ１、ヒトＢＴＮ２Ａ１、ヒトＬＳＡＭＰ、ヒトＣＤ２０またはＺＳグリーンマーカのみのいずれかをコードしたプラスミドで一過性トランスフェクトしたＨＥＫ２９３細胞で行った。各抗体は２μｇ／ｍｌ濃度で染色して用い、この図において抗体ごとにヒストグラムを示した。この図の各パネルにおいて、標的結合事象を観察して（より高いＡＦ６４７シグナルに向かう不可欠なヒストグラムの全てまたは主要な部分の動きで示した）、関心のピークに名前をつけた（ＰＤ１、ＣＤ２０、ＬＳＡＭＰ）。ＢＴＮ２Ａ１に対してはいずれのＩｇＧでも結合シグナルは観察されなかった。
【発明を実施するための形態】
【００３９】
本発明の第一の態様によると、ヒトＰＤ１に、およびカニクイザルＰＤ１にも特異的に結合する抗体分子、またはその抗原結合部分が提供され、当該抗体分子または抗原結合部分は、
以下の順序で配列中にアミノ酸を有するＨＣＤＲ１：Ｇ－Ｆ－ＴまたはＴ（例えばＳ）－Ｆの保存的置換またはＦ（例えばＬ）－Ｓの保存的置換またはＳ（例えばＴ）－Ｓ－Ｙ－Ｇの保存的置換または任意のアミノ酸（例えばＷ）－ＭまたはＭ（例えばＶ）－Ｓの保存的置換または任意のアミノ酸（例えばＨ）（配列番号２０）と、
以下の順序で配列中にアミノ酸を有するＨＣＤＲ２：ＶまたはＶ（例えばＬ）－Ａの保存的置換またはＡ（例えばＧ）－Ｖ／Ｎ－Ｉ－Ｗ／Ｋ－Ｑ／Ａ－Ｄ／Ｇ－Ｇ－Ｓ－Ｔ／Ｅ－Ｎ／Ｋ／Ｓ－Ｙ－Ｎ／Ｖ－Ｄ－Ｓ－Ｖ－Ｋ－Ｇの保存的置換（配列番号２１）と、
以下の順序で配列中にアミノ酸を有するＨＣＤＲ３：Ａまたは任意のアミノ酸（例えばＤ／Ｅ／Ｇ／Ｈ／Ｉ／Ｋ／Ｌ／Ｈ／Ｑ／Ｓ／Ｖ／Ｗ）－ＹもしくはＹ（例えばＦ／Ｗ）－Ｇ－Ｎの保存的置換または任意のアミノ酸（例えばＡ／Ｅ／Ｆ／Ｇ／Ｈ／Ｉ／Ｑ／Ｒ／Ｓ／Ｔ／Ｖ／Ｗ／Ｙ）－ＹまたはＹ（例えばＶ／Ｗ）－Ｗの保存的置換または任意のアミノ酸（例えばＦ／Ｈ／Ｍ／Ｐ／Ｑ／Ｓ／Ｖ）－Ｙ－Ｉまたは任意のアミノ酸（例えばＬ／Ｍ／Ｓ／Ｔ／Ｖ／Ｙ）－ＤまたはＤ（例えばＥ）－Ｖの保存的置換または任意のアミノ酸（例えばＡ／Ｅ／Ｆ／Ｇ／Ｈ／Ｉ／Ｋ／Ｌ／Ｍ／Ｒ／Ｓ／Ｔ／Ｗ／Ｙ）（配列番号２２）と、
を伴う重鎖可変領域を含む。
【００４０】
一部の態様では、本明細書に提供される抗ＰＤ１抗体または抗原結合部分は、配列番号１６または配列番号１７を含有する、または配列番号１６または配列番号１７からなる、ＰＤ１タンパク質に特異的に結合する。一部の態様では、本明細書に提供される抗ＰＤ１抗体または抗原結合部分は、配列番号１６または配列番号１７に対して、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％同一であるアミノ酸配列を有するＰＤ１タンパク質に特異的に結合する。
【００４１】
本発明の態様において、抗体分子もしくは抗原結合部分のＨＣＤＲ１は、配列ＧＦＳＬＴＳＹＧＶＨ（配列番号２３、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号、米国特許出願公開第２０１５／０７９１０９Ａ１号に開示されるＭｕ３１７マウス／ヒト化抗体のＨＣ

ＤＲ１）、ＶＩＷＡＧＧＳＴＮＹＮＳＡＬＭＳ（配列番号２４、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号、米国特許出願公開第２０１５／０７９１０９Ａ１号に開示されるＭｕ３１７マウス／ヒト化抗体のＨＣＤＲ２）を除外してもよく、および／または抗体分子もしくは抗原結合部分のＨＣＤＲ３は、配列ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＶ（配列番号２５、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号、米国特許出願公開第２０１５／０７９１０９Ａ１号に開示されるＭｕ３１７マウス／ヒト化抗体のＨＣＤＲ３）を除外してもよい。

【００４２】

本発明による抗体分子またはその抗原結合部分は、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するＬＣＤＲ１：Ｋ－Ｓ－Ｓ－Ｑ／Ｅ－Ｓ－Ｖ－ＳまたはＳ（Ｇ／Ｔ等）－Ｎ－Ｄ－Ｌの保存的置換またはＬ（Ｖ等）－Ａの保存的置換（配列番号２６）と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するＬＣＤＲ２：Ｙ－Ａ－Ｆまたは任意のアミノ酸（例えばＳ／Ｙ）－Ｈまたは任意のアミノ酸（例えばＰ／Ｔ）－Ｒ－Ｆ－ＳまたはＳ（Ａ／Ｔ等）の保存的置換（配列番号２７）と、

以下の順序で配列中にアミノ酸を有するＬＣＤＲ３：Ｑまたは任意のアミノ酸（例えば、Ｈ）－Ｑ－Ａまたは任意のアミノ酸（例えば、Ｓ）－Ｙ－Ｓ－Ｔまたは任意のアミノ酸（例えば、Ｎ／Ｓ）－Ｐ－Ｙまたは任意のアミノ酸（例えば、Ｗ）－Ｔ（配列番号２８）と、を伴う軽鎖可変領域をさらに含んでもよい。

【００４３】

本発明の態様において、抗体分子もしくは抗原結合部分のＬＣＤＲ１は、配列ＫＡＳＱＳＶＳＮＤＶＡ／ＫＳＳＱＥＶＳＮＤＶＡ（配列番号２９／配列番号３０、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号、米国特許出願公開第２０１５／０７９１０９Ａ１号に開示されるＭｕ３１７マウス／ヒト化抗体のＬＣＤＲ１）を除外してもよく、および／または、抗体分子もしくは抗原結合部分のＬＣＤＲ２は、配列ＹＡＦＨＲＦＴ（配列番号３１、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号、米国特許出願公開第２０１５／０７９１０９Ａ１号に開示されるＭｕ３１７マウス／ヒト化抗体のＬＣＤＲ２）を除外してもよく、および／または抗体分子もしくは抗原結合部分のＬＣＤＲ３は、配列ＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３２、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号、米国特許出願公開第２０１５／０７９１０９Ａ１号に開示されるＭｕ３１７マウス／ヒト化抗体のＬＣＤＲ３）を除外してもよい。

【００４４】

一部の態様において、本明細書は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３を含有する重鎖可変（ＶＨ）領域、ならびにＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３を含有する軽鎖可変（ＶＬ）領域を含有し、この場合において、

（ａ）ＨＣＤＲ１は、アミノ酸配列Ｇ－Ｆ－X_1－X_2－X_3－Ｓ－Ｙ－X_4－X_5－X_6を含み、式中、X_1はＴまたはＴの保存的置換（例えばＳ）であり、X_2はＦまたはＦの保存的置換（例えばＬ）であり、X_3はＳまたはＳの保存的置換（例えばＴ）であり、X_4はＧまたは任意の他のアミノ酸（例えばＷ）であり、X_5はＭまたはＭの保存的置換（例えばＶ）であり、またX_6はＳまたは任意の他のアミノ酸（例えばＨ）であり（配列番号２０）、

（ｂ）ＨＣＤＲ２は、アミノ酸配列X_1－X_2－X_3－Ｉ－X_4－X_5－X_6－Ｇ－Ｓ－X_7－X_8－Ｙ－X_9－Ｄ－Ｓ－Ｖ－Ｋ－Ｇを含み、式中、X_1はＶまたはＶの保存的置換（例えばＬ）であり、X_2はＡまたはＡの保存的置換（例えばＧ）であり、X_3はＶまたはＮであり、X_4はＷまたはＫであり、X_5はＱまたはＡであり、X_6はＤまたはＧであり、X_7はＴまたはＥであり、X_8はＮ、ＫまたはＳであり、またX_9はＮまたはＶであり（配列番号２１）、

（ｃ）ＨＣＤＲ３は、アミノ酸配列X_1－X_2－Ｇ－X_3－X_4－X_5－Ｙ－X_6－X_7－X_8を含み、式中、X_1はＡまたは任意の他のアミノ酸（例えばＤ、Ｅ、Ｇ、Ｈ、Ｉ、Ｋ、Ｌ、Ｈ、Ｑ、Ｓ、ＶまたはＷ）であり、X_2はＹまたはＹの保存的置換（例えばＦ

またはＷ）であり、X_3はＮまたは任意の他のアミノ酸（例えばＡ、Ｅ、Ｆ、Ｇ、Ｈ、Ｉ、Ｑ、Ｒ、Ｓ、Ｔ、Ｖ、ＷまたはＹ）であり、X_4はＹまたはＹの保存的置換（例えばＶまたはＷ）であり、X_5はＷまたは任意の他のアミノ酸（例えばＦ、Ｈ、Ｍ、Ｐ、Ｑ、ＳまたはＶ）であり、X_6はＩまたは任意の他のアミノ酸（例えばＬ、Ｍ、Ｓ、Ｔ、ＶまたはＹ）であり、X_7はＤまたはＤの保存的置換（例えばＥ）であり、またX_8はＶまたは任意の他のアミノ酸（例えばＡ、Ｅ、Ｆ、Ｇ、Ｈ、Ｉ、Ｋ、Ｌ、Ｍ、Ｒ、Ｓ、Ｔ、ＷまたはＹ）であり（配列番号２２）、

（ｄ）ＬＣＤＲ１は、アミノ酸配列Ｋ－Ｓ－Ｓ－X_1－Ｓ－Ｖ－X_2－Ｎ－Ｄ－X_3－Ａを含み、式中、X_1はＱまたはＥであり、X_2はＳまたはＳの保存的置換（例えばＧまたはＴ）であり、またX_3はＬまたはＬの保存的置換（例えばＶ）であり（配列番号２６）、

（ｅ）ＬＣＤＲ２は、アミノ酸配列Ｙ－Ａ－X_1－X_2－Ｒ－Ｆ－X_3を含み、式中、X_1はＦまたは任意の他のアミノ酸（例えばＳ）であり、X_2はＨまたは任意の他のアミノ酸（例えばＰまたはＴ）であり、またX_3はＳまたはＳの保存的置換（例えばＡまたはＴ）であり（配列番号２７）、

（ｆ）ＬＣＤＲ３は、アミノ酸配列X_1－Ｑ－X_2－Ｙ－Ｓ－X_3－Ｐ－X_4－Ｔを含み、式中、X_1はＱまたは任意の他のアミノ酸（例えばＨ）であり、X_2はＡまたは任意の他のアミノ酸（例えばＳ）であり、X_3はＴまたは任意の他のアミノ酸（例えばＮまたはＳ）であり、またX_4はＹまたは任意のアミノ酸（例えばＷ）である（配列番号２８）。

【００４５】

一部の態様において、本明細書は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、この場合において当該抗体は、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって、ＦＲ１－ＨＣＤＲ１－ＦＲ２－ＨＣＤＲ２－ＦＲ３－ＨＣＤＲ３－ＦＲ４を含有する重鎖可変（ＶＨ）領域、およびアミノ末端からカルボキシ末端に向かって、ＦＲ１－ＬＣＤＲ１－ＦＲ２－ＬＣＤＲ２－ＦＲ３－ＬＣＤＲ３－ＦＲ４を含有する軽鎖可変（ＶＬ）領域を含有し、この場合において、ＨＣＤＲ１は、配列番号２０であり、ＨＣＤＲ２は、配列番号３２であり、ＨＣＤＲ３は、配列番号３３であり、ＬＣＤＲ１は、配列番号２６であり、ＬＣＤＲ２は、配列番号２７であり、そしてＬＣＤＲ３は、配列番号２８であり、この場合において当該重鎖のＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３およびＦＲ４のアミノ酸配列は、配列番号１１６（表２を参照のこと）内の重鎖のＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３およびＦＲ４のアミノ酸配列であり、またこの場合において当該軽鎖のＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３およびＦＲ４のアミノ酸配列は、配列番号１１９（表２を参照のこと）内の軽鎖のＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３およびＦＲ４のアミノ酸配列である。

【００４６】

本明細書に詳述されるように、本発明者らは、国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号、米国特許出願公開第２０１５／０７９１０９Ａ１号に開示されるマウス抗ＰＤ１抗体Ｍｕ３１７から誘導されたＣＤＲ配列を使用し、多数の最適化された抗ＰＤ１抗体分子を作製することに初めて成功した。本明細書に記載される最適化抗体分子に改善を行うことによって、ＰＤ１アンタゴニズムアッセイにおける、ヒトＰＤ１およびカニクイザルＰＤ１の両方への結合特異性（最大限に正確な霊長類の毒性試験およびｐｋ試験を容易にするため）と薬理学的効能とを妥協することなく、可変ドメインの安定性の改善、高い発現収率、および／または免疫原性の可能性の低下が提供される。

【００４７】

一部の態様において、本発明の最適化抗ＰＤ１抗体分子は、対応するマウスＣＤＲまたはその他（例えばフレームワーク）のアミノ酸の位置で、必ずしも最大数のヒト生殖細胞系列の置換を有するとは限らない。以下の実施例の項に詳述されるように、本発明者らは、「最大限にヒト化された」抗体分子は、抗ＰＤ１結合特性および／または他の望ましい性質に関して、必ずしも「最大限に最適化」されているとは限らないことを見出した。

【００４８】

本発明は、本明細書に記載される抗体分子またはその抗原結合部分のアミノ酸配列に対する改変を包含する。例えば本発明は、その性質に大きな影響を与えない、機能的に同等の可変領域およびＣＤＲを含有する抗体分子およびその対応する抗原結合部分、ならびに活性および／もしくはアフィニティが強化された、および／または低下したバリアントを包含する。例えばアミノ酸配列は、ＰＤ１に対し所望の結合アフィニティを有する抗体が得られるように変異されてもよい。１残基から数百以上の残基を含有するポリペプチドの長さの範囲のアミノ末端融合および／またはカルボキシル末端融合を含み、ならびに単一アミノ酸残基または複数のアミノ酸残基の配列間挿入を含む挿入が予期される。末端挿入の例としては、Ｎ末端メチオニル残基を有する抗体分子、またはエピトープタグに融合された抗体分子が挙げられる。抗体分子のその他の挿入バリアントとしては、酵素またはポリペプチドの、抗体Ｎ末端または抗体Ｃ末端への融合が挙げられ、それにより血液循環中の抗体の半減期が延長される。

【００４９】

本発明の抗体分子または抗原結合部分は、グリコシル化ポリペプチドおよび非グリコシル化ポリペプチド、ならびに他の翻訳後修飾を有するポリペプチド、例えば異なる糖類でのグリコシル化、アセチル化およびリン酸化を有するポリペプチドを含んでもよい。例えば１つまたは複数のアミノ酸残基を付加、除去または置換させ、グリコシル化部位を形成または除去させることにより、本発明の抗体分子または抗原結合部分を変異させて、当該翻訳後修飾を変化させてもよい。

【００５０】

本発明の抗体分子または抗原結合部分は、例えば抗体中の潜在的なタンパク質分解部位を除去するアミノ酸置換により改変されてもよい。

【００５１】

抗体分子またはその抗原結合部分において、ＨＣＤＲ１は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：Ｇ－Ｆ－Ｔ－Ｆ－Ｓ－Ｓ－Ｙ－Ｇ－Ｍ／Ｖ－Ｓ／Ｈ（配列番号６２）；ＨＣＤＲ２は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：Ｖ－Ａ－Ｖ／Ｎ－Ｉ－Ｗ／Ｋ－Ｑ－Ｄ－Ｇ－Ｓ－Ｅ／Ｔ－Ｎ／Ｋ－Ｙ－Ｖ／Ｎ－Ｄ－Ｓ－Ｖ－Ｋ－Ｇ（配列番号６３）；またＨＣＤＲ３は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：Ａ／Ｄ／Ｅ／Ｇ／Ｈ／Ｉ／Ｋ／Ｌ／Ｈ／Ｑ／Ｓ／Ｖ／Ｗ－Ｙ／Ｆ／Ｗ－Ｇ－Ｎ／Ａ／Ｅ／Ｆ／Ｇ／Ｈ／Ｉ／Ｑ／Ｒ／Ｓ／Ｔ／Ｖ／Ｗ／Ｙ－Ｙ／Ｖ／Ｗ－Ｗ／Ｆ／Ｈ／Ｍ／Ｐ／Ｑ／Ｓ／Ｖ－Ｙ－Ｉ／Ｌ／Ｍ／Ｓ／Ｔ／Ｖ／Ｙ－Ｄ／Ｅ－Ｖ／Ａ／Ｅ／Ｆ／Ｇ／Ｈ／Ｉ／Ｑ／Ｒ／Ｓ／Ｔ／Ｗ／Ｙ（配列番号６４）。

【００５２】

例えば、ＨＣＤＲ１は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：Ｇ－Ｆ－Ｔ－Ｆ－Ｓ－Ｓ－Ｙ－Ｇ－Ｍ－Ｓ／Ｈ（配列番号６５）；ＨＣＤＲ２は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：Ｖ－Ａ－Ｖ／Ｎ－Ｉ－Ｗ－Ｑ－Ｄ－Ｇ－Ｓ－Ｅ／Ｔ－Ｎ／Ｋ－Ｙ－Ｖ－Ｄ－Ｓ－Ｖ－Ｋ－Ｇ（配列番号６６）；またＨＣＤＲ３は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：Ａ／Ｇ－Ｙ－Ｇ－Ｎ－Ｙ－Ｗ／Ｍ－Ｙ－Ｉ－Ｄ－Ｒ／Ｖ（配列番号６７）。

【００５３】

抗体分子またはその抗原結合部分において、ＬＣＤＲ１は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：Ｋ－Ｓ－Ｓ－Ｑ／Ｅ－Ｓ－Ｖ－Ｓ／Ｇ／Ｔ－Ｎ－Ｄ－Ｌ／Ｖ－Ａ（配列番号６８）；ＬＣＤＲ２は、アミノ酸配列Ｙ－Ａ－Ｆ／Ｓ／Ｙ－Ｈ／Ｐ／Ｔ－Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ（配列番号６９）を有してもよい；またＬＣＤＲ３は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：Ｑ／Ｈ－Ｑ－Ａ／Ｓ－Ｙ－Ｓ－Ｔ／Ｎ／Ｓ－Ｐ－Ｙ－Ｔ（配列番号７０）。

【００５４】

例えば、ＬＣＤＲ１は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：Ｋ－Ｓ－Ｓ－Ｑ－Ｓ－Ｖ－Ｓ／Ｇ／Ｔ－Ｎ－Ｄ－Ｌ／Ｖ－Ａ（配列番号７１）；ＬＣＤＲ２は、アミノ酸配列Ｙ－Ａ－Ｓ／Ｙ－Ｈ－Ｒ－Ｆ－Ｓ／Ｔ（配列番号７２）を有してもよい；またＬＣＤＲ３は、以下のアミノ酸配列を有してもよい：Ｑ／Ｈ－Ｑ－Ａ－Ｙ－Ｓ－Ｔ／Ｓ－Ｐ－Ｙ－Ｔ（配列番号７３）。

【００５５】

本発明の特定の実施形態において、抗体分子または抗原結合部分は、以下を含有してもよい：

（ａ）アミノ酸配列
ＧＦＳＦＴＳＹＧＭＳ（配列番号４７；ＨＣＤＲ１）、ＬＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４８；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５；ＬＣＤＲ２）およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６；ＬＣＤＲ３）［クローン２０Ｃ０７］、または

（ｂ）アミノ酸配列
ＧＦＴＦＳＳＹＧＶＨ（配列番号４９；ＨＣＤＲ１）、ＶＧＶＩＷＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５０；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＬＡ（配列番号５１；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５；ＬＣＤＲ２）およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２；ＬＣＤＲ３）［クローン１１Ｃ０８］、

（ｃ）アミノ酸配列
ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４３；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５；ＬＣＤＲ２）およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６；ＬＣＤＲ３）［クローン０９Ｃ０６］、

（ｄ）アミノ酸配列
ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２；ＨＣＤＲ１）、ＬＡＮＩＷＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５３；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５；ＬＣＤＲ２）およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２；ＬＣＤＲ３）［クローン１７Ａ１２］、

（ｅ）アミノ酸配列
ＧＦＴＬＳＳＹＧＭＨ（配列番号５４；ＨＣＤＲ１）、ＬＡＶＩＷＡＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５５；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＭＹＩＤＶ（配列番号５６；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５；ＬＣＤＲ２）およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６；ＬＣＤＲ３）［クローン１７Ｄ０８］、

（ｆ）アミノ酸配列
ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号５７；ＨＣＤＲ１）、ＶＧＶＩＫＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５８；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５；ＬＣＤＲ２）およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６；ＬＣＤＲ３）［クローン１７Ｇ０８］、

（ｇ）アミノ酸配列
ＧＦＳＦＴＳＹＧＭＨ（配列番号５９；ＨＣＤＲ１）、ＶＧＶＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号６０；ＨＣＤＲ２）、ＧＹＧＮＹＷＹＩＤＶ（配列番号６１；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＬＡ（配列番号５１；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５；ＬＣＤＲ２）およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２；ＬＣＤＲ３）［クローン１５Ｄ０７］、

（ｈ）アミノ酸配列
ＧＦＳＬＳＳＹＧＭＳ（配列番号３９；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＶＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４０；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＧＮＤＶＡ（配列番号７４；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５；ＬＣＤＲ２）およびＱＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号７５；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ１］、

（ｉ）アミノ酸配列
ＧＦＳＬＳＳＹＧＭＳ（配列番号３９；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＶＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４０；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＬＡ（配列番号７６；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５；ＬＣＤＲ２）およびＱＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号７５；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ２］、
（ｊ）アミノ酸配列
ＧＦＳＬＳＳＹＧＭＳ（配列番号３９；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＶＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４０；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＧＮＤＬＡ（配列番号７７；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＹＨＲＦＳ（配列番号７８；ＬＣＤＲ２）およびＱＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号７５；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ３］、
（ｋ）アミノ酸配列
ＧＦＳＬＳＳＹＧＭＳ（配列番号３９；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＶＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４０；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７；ＬＣＤＲ２）およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ４］、
（ｌ）アミノ酸配列
ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号３４；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＧＮＤＶＡ（配列番号７４；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５；ＬＣＤＲ２）およびＱＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号７５；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ５］、
（ｍ）アミノ酸配列
ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号３４；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＬＡ（配列番号７６；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５；ＬＣＤＲ２）およびＱＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号７５；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ６］、
（ｎ）アミノ酸配列
ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号３４；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＧＮＤＬＡ（配列番号７７；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＹＨＲＦＳ（配列番号７８；ＬＣＤＲ２）およびＱＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号７５；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ７］、
（ｏ）アミノ酸配列
ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号３４；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７；ＬＣＤＲ２）およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ８］、
（ｐ）アミノ酸配列
ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＥＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４１；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＧＮＤＶＡ（配列番号７４；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５；ＬＣＤＲ２）およびＱＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号７５；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ９］、
（ｑ）アミノ酸配列
ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＥＫＹＶＤＳ

ＶＫＧ（配列番号４１；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＬＡ（配列番号７６；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５；ＬＣＤＲ２）およびＱＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号７５；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ１０］、

（ｒ）アミノ酸配列

ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＥＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４１；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＧＮＤＬＡ（配列番号７７；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＹＨＲＦＳ（配列番号７８；ＬＣＤＲ２）およびＱＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号７５；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ１１］、

（ｓ）アミノ酸配列

ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＥＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４１；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７；ＬＣＤＲ２）およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ１２］、

（ｔ）アミノ酸配列

ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号３４；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＬＡ（配列番号７６；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７；ＬＣＤＲ２）およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ１３］、

（ｕ）アミノ酸配列

ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号３４；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＬＡ（配列番号７６；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＹＨＲＦＳ（配列番号７８；ＬＣＤＲ２）およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ１４］、

（ｖ）アミノ酸配列

ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号３４；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＬＡ（配列番号７６；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＳ（配列番号７９；ＬＣＤＲ２）およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ１５］、

（ｗ）アミノ酸配列

ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＥＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４１；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＬＡ（配列番号７６；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７；ＬＣＤＲ２）およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ１６］、

（ｘ）アミノ酸配列

ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＥＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４１；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＬＡ（配列番号７６；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＹＨＲＦＳ（配列番号７８；ＬＣＤＲ２）およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ１７］、

（ｙ）アミノ酸配列

ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３；ＨＣＤＲ１）、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＥＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４１；ＨＣＤＲ２）、ＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５；ＨＣＤＲ３）、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＬＡ（配列番号７６；ＬＣＤＲ１）、ＹＡＳＨＲＦＳ（配列番

号７９；ＬＣＤＲ２）およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８；ＬＣＤＲ３）［クローンＭＨ１８］。

【００５６】

一部の態様において、本発明は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体は、重鎖可変（ＶＨ）領域および軽鎖可変（ＶＬ）領域を含有し、この場合において、

（ａ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号３４）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６）のＬＣＤＲ１、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｂ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＬＳＳＹＧＭＳ（配列番号３９）のＨＣＤＲ１、ＶＡＶＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４０）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６）のＬＣＤＲ１、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｃ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＥＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４１）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６）のＬＣＤＲ１、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｄ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４３）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｅ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＴＳＹＧＭＳ（配列番号４７）のＨＣＤＲ１、ＬＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４８）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｆ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＶＨ（配列番号４９）のＨＣＤＲ１、ＶＧＶＩＷＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５０）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＬＡ（配列番号５１）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｇ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４３）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｈ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２）のＨＣＤＲ１、ＬＡＮＩＷＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５３）のＨＣＤＲ２、およびＡＹ

ＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｉ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＬＳＳＹＧＭＨ（配列番号５４）のＨＣＤＲ１、ＬＡＶＩＷＡＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５５）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＭＹＩＤＶ（配列番号５６）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、

（ｊ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号５７）のＨＣＤＲ１、ＶＧＶＩＫＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５８）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、または、

（ｋ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＴＳＹＧＭＨ（配列番号５９）のＨＣＤＲ１、ＶＧＶＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号６０）のＨＣＤＲ２、およびＧＹＧＮＹＷＹＩＤＶ（配列番号６１）のＨＣＤＲ３を含み、ならびにＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＬＡ（配列番号５１）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２）のＬＣＤＲ３を含む。

【００５７】

一部の態様において、本明細書は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、この場合において当該抗体は、重鎖可変（ＶＨ）領域および軽鎖可変（ＶＬ）領域を含有し、この場合において当該ＶＨ領域は、表９のＶＨ領域アミノ酸配列のうちのいずれか１つを含有し、当該ＶＬ領域は、表９のＶＬ領域アミノ酸配列のいずれか１つを含有する。

【００５８】

一部の態様において、本発明は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を提供するものであり、当該抗体は、重鎖可変（ＶＨ）領域および軽鎖可変（ＶＬ）領域を含有し、この場合において、

（ａ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号１を含み、かつ、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号２を含み、

（ｂ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号３を含み、かつ、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号４を含み、

（ｃ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号５を含み、かつ、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号６を含み、または

（ｄ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号７を含み、かつ、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号８を含む。

【００５９】

一部の態様において、本明細書は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変（ＶＨ）領域および軽鎖可変（ＶＬ）領域を含有し、この場合において、

（ａ）ＶＨ領域アミノ酸配列は、配列番号１に対し、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％同一であり、ＶＬ領域アミノ酸配列は、配列番号２に対し、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約

９８％、または少なくとも約９９％同一である；

（ｂ）ＶＨ領域アミノ酸配列は、配列番号３に対し、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％同一であり、ＶＬ領域アミノ酸配列は、配列番号４に対し、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％同一である；

（ｃ）ＶＨ領域アミノ酸配列は、配列番号５に対し、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％同一であり、ＶＬ領域アミノ酸配列は、配列番号６に対し、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％同一である；または

（ｄ）ＶＨ領域アミノ酸配列は、配列番号７に対し、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％同一であり、ＶＬ領域アミノ酸配列は、配列番号８に対し、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％同一である。一部の態様において、抗ＰＤ１抗体のＣＤＲアミノ酸配列は、列挙される配列中のＣＤＲアミノ酸配列に対して１００％同一であるが、ＦＲアミノ酸配列は、列挙される配列中のＦＲアミノ酸配列に対し、１００％未満の同一性である。

【００６０】

一部の態様において、本明細書に規定される抗体または抗原結合部分は、単離されてもよい。

【００６１】

本明細書に規定される抗体分子または抗原結合部分は、ＰＤ１への結合を、本明細書に開示されるＣＤＲセットを含有する抗体またはその抗原結合部分と交差競合できる。一部の実施形態において、本発明は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を提供するものであって、当該抗体または抗原結合部分は、本明細書に開示するＣＤＲのセットを含む抗体または抗原結合部分と、ＰＤ１との結合に関して交差競合し、また（ａ）完全なヒト生殖細胞系列フレームワークのアミノ酸配列を含み、および／または（ｂ）ヒトＰＤ１およびカニクイザルＰＤ１に特異的に結合し、および／または（ｃ）ＬＣＤＲ２に酸化部位を含まず、および／または（ｄ）ＶＨドメインのＨＣＤＲ２／フレームワーク３領域内に高いＭＨＣクラスＩＩ結合アフィニティをもつヒト生殖細胞系列ペプチド配列を含み（例えばＶＫＧＲＦＴＩＳＲ（配列番号８１））、および／または（ｅ）ＶＨドメインのＨＣＤＲ１／フレームワーク２領域内にヒトＴ細胞エピトープ配列を含まず、および／または（ｆ）ＶＨドメインのＨＣＤＲ３／フレームワーク４領域内にヒトＴ細胞エピトープ配列を含まず、および／または（ｇ）ＩｇＧ１エフェクターヌル抗体形式であるときに、抗体Ｈｕ３１７と比較して低い電荷種の不均一性を示す。一部の実施形態では、抗体または抗原結合部分のＫＤ値は、ビアコア解析により決定できる。一部の実施形態では、抗体または抗原結合部分のＥＣ５０値は、ＰＤ－１発現細胞（例えば、ＣＨＯ細胞）のフローサイトメトリー染色により決定できる。

【００６２】

「交差競合する」、「交差競合」、「交差遮断する」、「交差遮断される」、および「交差遮断すること」という用語は本明細書において相互交換可能に使用され、抗体またはその部分がもつ、標的ＰＤ１（例えば、ヒトＰＤ１）に対する直接結合または本発明の抗

ＰＤ１抗体のアロステリック調節を介した間接的結合を干渉する能力を意味する。抗体またはその部分が、別物質による標的結合に干渉することができる度合、つまり本発明により交差遮断する、または交差競合すると言えるかどうかは、競合結合アッセイを使用して決定され得る。結合競合アッセイの一例は、ＨＴＲＦ法（Ｈｏｍｏｇｅｎｅｏｕｓ Ｔｉｍｅ Ｒｅｓｏｌｖｅｄ Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｃｅ）である。１つの特に適した定量的交差競合アッセイは、ＦＡＣＳ系またはＡｌｐｈａＳｃｒｅｅｎ系の方法を使用して、標識（例えばＨｉｓタグ化、ビオチン化、または放射性標識）された抗体またはその部分と、他の抗体またはその部分の間の、標的への結合に関する競合を測定する。概して、交差競合抗体またはその部分は、例えば、アッセイの間に、および第二の抗体またはその部分の存在下で、本発明の免疫グロブリン単一可変ドメインまたはポリペプチドの記録される変位が、所与の量で存在する潜在的に交差遮断する抗体またはその断片による、（例えばＦＡＣＳ系競合アッセイにおける）理論上の最大変位（例えばコールド（例えば非標識）抗体または交差遮断されるために必要なその断片による変位）の１００％以下となるように、交差競合アッセイにおいて標的に結合することとなるものである。交差競合抗体またはその部分は、１０％～１００％、または５０％～１００％の記録される変位を有することが好ましい。

【００６３】

本明細書に規定される抗体分子または抗原結合部分は、１つまたは複数の置換、欠失および／または挿入を含んでもよく、それらにより例えばグリコシル化部位（Ｎ結合型またはＯ結合型）、脱アミノ部位、リン酸化部位または異性化／断片化部位などの翻訳後修飾（ＰＴＭ：ｐｏｓｔ－ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ）部位が除去される。

【００６４】

３５０を超えるタイプのＰＴＭが公知である。重要なＰＴＭの型としては、リン酸化、グリコシル化（Ｎ結合型およびＯ結合型）、ＳＵＭＯ化、パルミトイル化、アセチル化、硫酸化、ミリストイル化、プレニル化、および（Ｋ残基およびＲ残基の）メチル化が挙げられる。特定のＰＴＭの原因となる推定アミノ酸部位を特定するための統計的手法は、当分野に周知である（Ｚｈｏｕ ｅｔ ａｌ．，２０１６，Ｎａｔｕｒｅ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ １：１３１８－１３２１を参照のこと）。例えば置換、欠失および／または挿入によりそうした部位を除去し、次いで任意で（ａ）結合活性、および／または（ｂ）ＰＴＭの消失を検証（実験的に、および／または理論的に）することが予期される。

【００６５】

例えば、Ｍｕ３１７マウスＬＣＤＲ２（本明細書に規定される、すなわちアミノ酸配列ＹＡＦＨＲＦＴ（配列番号３１））は、３位の残基（Ｆ）で推定酸化部位を有すると特定されている。本発明のＬＣＤＲ２中の同等の位置にあるこの部位を、例えば保存的置換または非保存的置換（例えば、ＳまたはＹへの）により除去することが予期される（例えばクローン０９Ｃ０６、ならびに表３および４の他のクローンと同様に）。

【００６６】

抗体分子またはその抗原結合部分は、ヒト、ヒト化またはキメラであってもよい。

【００６７】

抗体分子またはその抗原結合部分は、１つまたは複数のヒト可変ドメインフレームワークスキャホールドを含有してもよく、その中にはＣＤＲが挿入されている。例えば、ＶＨ領域、ＶＬ領域、またはＶＨ領域およびＶＬ領域の両方が、１つまたは複数のヒトフレームワーク領域のアミノ酸配列を含有してもよい。

【００６８】

抗体分子またはその抗原結合部分は、ＩＧＨＶ３－７ヒト生殖細胞系列スキャホールドを含有してもよく、その中には対応するＨＣＤＲ配列が挿入されている。抗体分子またはその抗原結合部分は、ＩＧＨＶ３－７ヒト生殖細胞系列スキャホールドのアミノ酸配列を含有するＶＨ領域を含有してもよく、その中には対応するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３のアミノ酸配列のセットが挿入されている。

【００６９】
抗体分子またはその抗原結合部分は、ＩＧＫＶ４－１ヒト生殖細胞系列スキャホールドを含有してもよく、その中には対応するＬＣＤＲ配列が挿入されている。抗体分子またはその抗原結合部分は、ＩＧＫＶ４－１ヒト生殖細胞系列スキャホールドのアミノ酸配列を含有するＶＬ領域を含有してもよく、その中には対応するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３のアミノ酸配列のセットが挿入されている。

【００７０】
抗体分子またはその抗原結合部分は、中に対応するＨＣＤＲ配列が挿入されているＩＧＨＶ３－７ヒト生殖細胞系列スキャホールドと、中に対応するＬＣＤＲ配列が挿入されているＩＧＫＶ４－１ヒト生殖細胞系列スキャホールドとを含有してもよい。抗体分子またはその抗原結合部分は、中に対応するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３のアミノ酸配列のセットが挿入されているＩＧＨＶ３－７ヒト生殖細胞系列スキャホールドのアミノ酸配列を含有するＶＨ領域と、中に対応するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３のアミノ酸配列のセットが挿入されているＩＧＫＶ４－１ヒト生殖細胞系列スキャホールドのアミノ酸配列を含有するＶＬ領域とを含有してもよい。ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３のアミノ酸配列は、表４のクローンのいずれか１つのＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３のアミノ酸配列であってもよい（６つすべてのＣＤＲ配列が、同じクローン由来である）。

【００７１】
一部の態様では、抗体分子またはその抗原結合部分は、免疫グロブリン定常領域を含有してもよい。一部の実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１またはＩｇＡ２である。追加的な実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１またはＩｇＡ２である。抗体分子またはその抗原結合部分は、免疫学的に不活性な定常領域を含有してもよい。一部の態様では、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分は、野生型ヒトＩｇＧ１定常領域か、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、およびＧ２３７Ａのアミノ酸置換を含有するヒトＩｇＧ１定常領域か、またはＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｇ２３７ＡおよびＰ３３１Ｓのアミノ酸置換を含有するヒトＩｇＧ１定常領域かを含有する免疫グロブリン定常領域を含有してもよい。一部の態様では、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分は、野生型ヒトＩｇＧ２定常領域または野生型ヒトＩｇＧ４定常領域を含有する、免疫グロブリン定常領域を含有してもよい。一部の態様では、抗ＰＤ１抗体は、表１０のアミノ酸配列のうちのいずれか１つを含有する免疫グロブリン定常領域を含有してもよい。表１０のＦｃ領域配列は、ＣＨ１ドメインから始まる。一部の態様では、抗ＰＤ１抗体は、ヒトＩｇＧ４、ヒトＩｇＧ４（Ｓ２２８Ｐ）、ヒトＩｇＧ２、ヒトＩｇＧ１、ヒトＩｇＧ１－３ＭまたはヒトＩｇＧ１－４ＭのＦｃ領域のアミノ酸配列を含有する免疫グロブリン定常領域を含有してもよい。例えば、ヒトＩｇＧ４（Ｓ２２８Ｐ）のＦｃ領域は、野生型のヒトＩｇＧ４のＦｃ領域と比較して以下の置換を含有する：Ｓ２２８Ｐ。例えば、ヒトＩｇＧ１－３ＭのＦｃ領域は、野生型のヒトＩｇＧ１のＦｃ領域と比較して以下の置換を含有する：Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５ＡおよびＧ２３７Ａ。一方で、ヒトＩｇＧ１－４ＭのＦｃ領域は、野生型のヒトＩｇＧ１のＦｃ領域と比較して以下の置換を含有する：Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｇ２３７ＡおよびＰ３３１Ｓ。一部の態様では、免疫グロブリン分子の定常領域中のアミノ酸残基の位置は、ＥＵの命名法（Ｗａｒｄ　ｅｔ　ａｌ．，１９９５　Ｔｈｅｒａｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２：７７－９４）に従って番号付けされる。一部の態様では、免疫グロブリン定常領域は、ＲＤＥＬＴ（配列番号１８）モチーフ、またはＲＥＥＭ（配列番号１９）モチーフ（表１８の下線部分）を含有してもよい。ＲＥＥＭ（配列番号１９）アロタイプは、ＲＤＥＬＴ（配列番号１８）アロタイプよりも少ないヒト集団に存在する。一部の態様では、抗ＰＤ１抗体は、配列番号９～１５のいずれか１つを含有する免疫グロブリン定常領域を含有してもよい。一部の態様では、抗ＰＤ１抗体は、表４のクローンのいずれか１つの６つのＣＤＲアミノ酸配列、および表１０のＦｃ領域アミノ酸配列のいずれか１つを含

有してもよい。一部の態様では、抗ＰＤ１抗体は、表１０のＦｃ領域アミノ酸配列のいずれか１つを含有する免疫グロブリン重鎖定常領域、およびカッパ軽鎖定常領域またはラムダ軽鎖定常領域である免疫グロブリン軽鎖定常領域を含有してもよい。

【００７２】

一部の態様において、本明細書は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変（ＶＨ）領域、軽鎖可変（ＶＬ）領域、および重鎖定常領域を含有し、この場合において、

（ａ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号３４）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６）のＬＣＤＲ１、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８）のＬＣＤＲ３を含み、ならびに重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含み；

（ｂ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＬＳＳＹＧＭＳ（配列番号３９）のＨＣＤＲ１、ＶＡＶＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４０）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６）のＬＣＤＲ１、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８）のＬＣＤＲ３を含み、ならびに重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含み；

（ｃ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ（配列番号３３）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＥＫＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４１）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＴＮＤＶＡ（配列番号３６）のＬＣＤＲ１、ＹＡＹＨＲＦＴ（配列番号３７）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＳＰＹＴ（配列番号３８）のＬＣＤＲ３を含み、ならびに重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含み；

（ｄ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４３）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、ならびに重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含み；

（ｅ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＴＳＹＧＭＳ（配列番号４７）のＨＣＤＲ１、ＬＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４８）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、ならびに重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含み；

（ｆ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＶＨ（配列番号４９）のＨＣＤＲ１、ＶＧＶＩＷＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５０）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＬＡ（配列番号５１）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２）のＬＣＤＲ３を含み、ならびに重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含み；

（ｇ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２）のＨＣＤＲ１、ＶＡＮＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号４３）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、ならびに重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含み；

（ｈ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号４２）のＨＣＤＲ

１、ＬＡＮＩＷＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５３）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２）のＬＣＤＲ３を含み、ならびに重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含み；

（ｉ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＬＳＳＹＧＭＨ（配列番号５４）のＨＣＤＲ１、ＬＡＶＩＷＡＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５５）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＭＹＩＤＶ（配列番号５６）のＨＣＤＲ３を含み、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、ならびに重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含み；

（ｊ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨ（配列番号５７）のＨＣＤＲ１、ＶＧＶＩＫＱＤＧＳＥＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号５８）のＨＣＤＲ２、およびＡＹＧＮＹＷＹＩＤＲ（配列番号３５）のＨＣＤＲ３を含み、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＶＡ（配列番号４４）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＨＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号４６）のＬＣＤＲ３を含み、ならびに重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含み；または

（ｋ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、ＧＦＳＦＴＳＹＧＭＨ（配列番号５９）のＨＣＤＲ１、ＶＧＶＩＷＱＤＧＳＴＮＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号６０）のＨＣＤＲ２、およびＧＹＧＮＹＷＹＩＤＶ（配列番号６１）のＨＣＤＲ３を含み、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、ＫＳＳＱＳＶＳＮＤＬＡ（配列番号５１）のＬＣＤＲ１、ＹＡＳＨＲＦＴ（配列番号４５）のＬＣＤＲ２、およびＱＱＡＹＳＴＰＹＴ（配列番号５２）のＬＣＤＲ３を含み、ならびに重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含む。

【００７３】

一部の態様において、本明細書は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変（ＶＨ）領域、軽鎖可変（ＶＬ）領域、および重鎖定常領域を含有し、この場合において、

（ａ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号１を含有し、または配列番号１からなり、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号２を含有し、または配列番号２からなり、および重鎖定常領域は、野生型ヒトＩｇＧ４定常領域、Ｓ２２８Ｐのアミノ酸置換を含有するヒトＩｇＧ４定常領域、野生型ヒトＩｇＧ２定常領域、野生型ヒトＩｇＧ１定常領域、またはＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、およびＧ２３７Ａのアミノ酸置換を含有するヒトＩｇＧ１定常領域を含有し、

（ｂ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号３を含有し、または配列番号３からなり、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号４を含有し、または配列番号４からなり、および重鎖定常領域は、野生型ヒトＩｇＧ４定常領域、Ｓ２２８Ｐのアミノ酸置換を含有するヒトＩｇＧ４定常領域、野生型ヒトＩｇＧ２定常領域、野生型ヒトＩｇＧ１定常領域、またはＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、およびＧ２３７Ａのアミノ酸置換を含有するヒトＩｇＧ１定常領域を含有し、

（ｃ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号５を含有し、または配列番号５からなり、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号６を含有し、または配列番号６からなり、および重鎖定常領域は、野生型ヒトＩｇＧ４定常領域、Ｓ２２８Ｐのアミノ酸置換を含有するヒトＩｇＧ４定常領域、野生型ヒトＩｇＧ２定常領域、野生型ヒトＩｇＧ１定常領域、またはＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、およびＧ２３７Ａのアミノ酸置換を含有するヒトＩｇＧ１定常領域を含有し、または

（ｄ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号７を含有し、または配列番号７からなり、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号８を含有し、または配列番号８からなり、および重鎖定常領域は、野生型ヒトＩｇＧ４定常領域、Ｓ２２８Ｐのアミノ酸置換を含有するヒトＩｇＧ４定常領域、野生型ヒトＩｇＧ２定常領域、野生型ヒトＩｇＧ１定常領域、またはＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、およびＧ２３７Ａのアミノ酸置換を含有するヒトＩｇＧ１定常

領域を含有する。

【００７４】

一部の態様において、本明細書は、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を開示するものであり、当該抗体は、重鎖可変（ＶＨ）領域、軽鎖可変（ＶＬ）領域、および重鎖定常領域を含有し、この場合において、

（ａ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号１を含有し、または配列番号１からなり、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号２を含有し、または配列番号２からなり、および重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含有する；

（ｂ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号３を含有し、または配列番号３からなり、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号４を含有し、または配列番号４からなり、および重鎖定常領域は、配列番９～１５のいずれか１つを含有する；

（ｃ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号５を含有し、または配列番号５からなり、ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号６を含有し、または配列番号６からなり、および重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含有する；または

（ｄ）ＶＨ領域のアミノ酸配列は、配列番号７を含有し、または配列番号７からなり、当該ＶＬ領域のアミノ酸配列は、配列番号８を含有し、または配列番号８からなり、および重鎖定常領域は、配列番号９～１５のいずれか１つを含有する。

【００７５】

一部の態様では、抗ＰＤ１抗体は、免疫エフェクターが無効であってもよい。一部の態様では、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分は、免疫エフェクター機能を誘導せず、任意で免疫エフェクター機能を抑制する。一部の態様では、抗ＰＤ１抗体は、ヒトＦｃγＲＩ受容体、ＦｃγＲＩＩａ受容体、ＦｃγＲＩＩＩａ受容体、およびＦｃγＲＩＩＩｂ受容体への測定可能な結合を欠いてもよいが、ヒトＦｃγＲＩＩｂ受容体への結合は維持し、任意で、ヒトＦｃＲｎ受容体への結合も維持する。ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩａ、ＦｃγＲＩＩＩａ、およびＦｃγＲＩＩＩｂは、活性化受容体の例示である。ＦｃγＲＩＩｂは、阻害性受容体の例示である。ＦｃＲｎは、リサイクル受容体の例示である。一部の態様では、抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分のヒトＦｃ受容体への結合アフィニティは、ビアコア（ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標））解析により測定されてもよい。一部の態様では、ＨＴＲＦ法（Ｈｏｍｏｇｅｎｅｏｕｓ Ｔｉｍｅ Ｒｅｓｏｌｖｅｄ Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｃｅ）を使用して、ヒトＦｃ受容体への抗ＰＤ１抗体の結合を試験することができる。ＨＴＲＦ法の１つの例において、ヒトＩｇＧ１（野生型）が標識され、一揃いのＦｃガンマ受容体も同様にされ、次いで組換えＦｃ断片を含む抗体が、力価測定競合に使用される。一部の態様では、ＰＤ１陽性細胞と、ヒト白血球および抗ＰＤ１抗体とが混合されてもよく、そしてＣＤＣ、ＡＤＣＣおよび／またはＡＤＣＰによる細胞殺傷が測定されてもよい。一部の態様では、ヒトＩｇＧ１－３Ｍ（表１０を参照）のＦｃ領域のアミノ酸配列を含有する抗ＰＤ１抗体は、エフェクターが無効である。一部の態様では、ヒトＩｇＧ１－３Ｍ（表１０を参照）のＦｃ領域のアミノ酸配列を含有する抗ＰＤ１抗体は、エフェクターが無効でない。

【００７６】

抗体分子またはその抗原結合部分は、Ｆａｂ断片、Ｆ（ａｂ）$_2$断片、Ｆｖ断片、四量体抗体、四価抗体、多特異性抗体（例えば二価抗体）、ドメイン特異的抗体、単一ドメイン抗体、モノクローナル抗体、または融合タンパク質であってもよい。１つの実施形態では、抗体は、第一の抗原と第二の抗原とに特異的に結合する二特異性抗体であってもよく、この場合において第一の抗原はＰＤ１であり、第二の抗原はＰＤ１ではない。抗体分子、ならびにその構築方法および使用方法は、例えばＨｏｌｌｉｇｅｒ＆Ｈｕｄｓｏｎ（２００５，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２３（９）：１１２６－１１３６）に記載されている。

【００７７】

本発明の別の態様では、治療剤を結合した、本明細書に規定される本発明の抗体分子またはその抗原結合部分を含有する免疫結合体が提供される。

【００７８】
適切な治療剤の例示としては、細胞毒素、放射性同位体、化学療法剤、免疫調節剤、抗血管新生剤、抗増殖剤、アポトーシス促進剤、ならびに細胞増殖抑制酵素および細胞溶解性酵素（例えば、ＲＮＡｓｅ）が挙げられる。さらなる治療剤としては、例えば免疫調節剤、抗血管新生剤、抗増殖剤またはアポトーシス促進剤をコードする遺伝子などの治療用核酸が挙げられる。これらの薬剤の記述子は、相互排他的ではなく、ゆえに治療剤は、上述の用語の１つまたは複数を使用して記載されてもよい。
【００７９】
免疫結合体における使用に適した治療剤の例としては、タキサン、メイタンシン、ＣＣ－１０６５、およびデュオカルマイシン、カリケアミシンおよび他のエンジイン、ならびにオーリスタチン（ａｕｒｉｓｔａｔｉｎ）が挙げられる。他の例としては、抗葉酸剤、ビンアルカロイド、およびアントラサイクリンが挙げられる。植物毒素、他の生物活性タンパク質、酵素（すなわちＡＤＥＰＴ）、放射性同位体、光増感剤が、免疫結合体において使用されてもよい。さらに結合体は、細胞毒性剤として二次的な担体、例えばリポソームまたはポリマーなどを使用して作製され得る。適切な細胞毒素としては、細胞の機能を阻害または妨害し、および／または細胞の破壊をもたらす薬剤が挙げられる。代表的な細胞毒素としては、抗生物質、チューブリン重合の阻害剤、ＤＮＡに結合し、破壊するアルキル化剤、そしてタンパク質合成を破壊する、または例えばタンパク質キナーゼ、ホスファターゼ、トポイソメラーゼ、酵素およびサイクリンなどの必須の細胞タンパク質の機能を破壊する薬剤が挙げられる。
【００８０】
代表的な細胞毒素としては、以下に限定されないが、ドキソルビシン、ダウノルビシン、イダルビシン、アクラルビシン、ゾルビシン、ミトキサントロン、エピルビシン、カルビシン、ノガラマイシン、メノガリル、ピタルビシン（ｐｉｔａｒｕｂｉｃｉｎ）、バルルビシン、シタラビン、ゲムシタビン、トリフルリジン、アンシタビン、エノシタビン、アザシチジン、ドキシフルジン（ｄｏｘｉｆｌｕｈｄｉｎｅ）、ペントスタチン、ブロクスジン（ｂｒｏｘｕｈｄｉｎｅ）、カペシタビン、クラドビン（ｃｌａｄｈｂｉｎｅ）、デシタビン、フロクスジン（ｆｌｏｘｕｈｄｉｎｅ）、フルダラビン、グーゲロチン、ピューロマイシン、テガフール、チアゾフン（ｔｉａｚｏｆｕｈｎ）、アダマイシン（ａｄｈａｍｙｃｉｎ）、シスプラチン、カルボプラチン、シクロフォスファミド、ダカルバジン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ミトキサントロン、ブレオマイシン、メクロレタミン、プレドニゾン、プロカルバジン、メトトレキサート、フルロウラシル（ｆｌｕｒｏｕｒａｃｉｌ）、エトポシド、タキソール、タキソールアナログ、例えばシスプラチンおよびカルボプラチンなどのプラチン類、マイトマイシン、チオテパ、タキサン、ビンクリスチン、ダウノルビシン、エピルビシン、アクチノマイシン、オースラマイシン（ａｕｔｈｒａｍｙｃｉｎ）、アザセリン、ブレオマイシン、タモキシフェン、イダルビシン、ドラスタチン／オーリスタチン（ａｕｒｉｓｔａｔｉｎ）、ヘミアステリン（ｈｅｍｉａｓｔｅｒｌｉｎ）、エスペラミシン、ならびにマイタンシノイドが挙げられる。
【００８１】
適切な免疫調節剤としては、腫瘍に対するホルモンの作用を遮断する抗ホルモン剤、およびサイトカイン産生を抑制する、自己抗原発現を下方制御する、またはＭＨＣ抗原をマスクする免疫抑制剤が挙げられる。
【００８２】
さらに、本明細書に規定される本発明の抗体分子またはその抗原結合部分をコードする核酸分子も提供される。核酸分子は、本明細書に記載される抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分の、（ａ）ＶＨ領域のアミノ酸配列、（ｂ）ＶＬ領域のアミノ酸配列、または（ｃ）ＶＨ領域とＶＬ領域の両方のアミノ酸配列をコードしてもよい。一部の態様では、本明細書に規定される核酸分子が単離されてもよい。
【００８３】
さらに、本明細書に規定される本発明の核酸分子を含有するベクターが提供される。ベ

クターは、発現ベクターであってもよい。

【００８４】

また、本明細書に規定される本発明の核酸分子またはベクターを含有する宿主細胞も提供される。宿主細胞は、組換え宿主細胞であってもよい。

【００８５】

さらなる態様において、抗ＰＤ１抗体および／またはその抗原結合部分を作製する方法も提供され、当該方法は、当該抗体および／もしくはその抗原結合部分の発現ならびに／または産生が生じる条件下で、本発明の宿主細胞を培養することと、当該宿主細胞または培養物から、当該抗体および／またはその抗原結合部分を単離することと、を含む。

【００８６】

本発明の別の態様において、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される本発明の核酸分子、または本明細書に規定される本発明のベクターを含有する医薬組成物が提供される。

【００８７】

さらに、対象において免疫反応を強化する方法が提供され、当該方法は、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される本発明の核酸分子の有効量、または本明細書に規定される本発明のベクターの有効量、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物の有効量を当該対象に投与することを含む。

【００８８】

さらなる態様において、対象において癌を治療または予防する方法が提供され、当該方法は、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分の有効量、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される本発明の核酸分子の有効量、または本明細書に規定される本発明のベクターの有効量、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物の有効量を当該対象に投与することを含む。

【００８９】

例えば、癌は、膵臓癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、気管支癌、結腸直腸癌、前立腺癌、胃癌、卵巣癌、膀胱癌、脳腫瘍または中枢神経系の癌、末梢神経系の癌、食道癌、子宮頸癌、子宮癌または子宮内膜癌、口腔または咽頭の癌、肝癌、腎癌、精巣癌、胆管癌、小腸癌または虫垂癌、唾液腺癌、甲状腺癌、副腎癌、骨肉腫、軟骨肉腫、または血液組織の癌であり得る。

【００９０】

本発明はさらに、癌の治療における使用のための、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体、または本明細書に規定される本発明の核酸分子、または本明細書に規定される本発明のベクター、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物を提供する。

【００９１】

別の態様において、本発明は、例えば抗癌剤などの第二の治療剤と組み合わせた併用において、別個に使用する、連続して使用する、または同時に使用するための、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分、または免疫結合体、または核酸分子、または使用のためのベクター、または治療方法を提供する。

【００９２】

さらなる態様において、癌の治療のための医薬品の製造における、本明細書に規定される本発明の抗体分子もしくはその抗原結合部分の使用、または本明細書に規定される本発明の免疫結合体の使用、または本明細書に規定される本発明の核酸分子の使用、または本明細書に規定される本発明のベクターの使用、または本明細書に規定される本発明の医薬組成物の使用が提供される。

【００９３】

本発明はさらに、対象において感染症もしくは免疫疾患を治療または予防する方法を提供するものであり、当該方法は、本明細書に規定される抗体分子もしくはその抗原結合部

分の有効量、または本明細書に規定される免疫結合体の有効量、または本明細書に規定される核酸分子の有効量、または本明細書に規定されるベクターの有効量、または本明細書に規定される医薬組成物の有効量を当該対象に投与することを含む。

【００９４】

一実施形態において、本発明は、治療における使用のための本明細書に開示されるアミノ酸配列を含有する抗ＰＤ１抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【００９５】

本発明の医薬組成物は、薬学的に許容可能な賦形剤、担体または希釈剤を含有してもよい。薬学的に許容可能な賦形剤は、二次的な反応を引き起こさない医薬組成物に入れられる化合物または化合物の組み合わせであってもよく、例えば、抗ＰＤ１抗体分子の投与の促進、その持続期間の延長、および／もしくは体内におけるその有効性の増加、または溶液中の可溶度の上昇を可能にする。これら薬学的に許容可能なビヒクルは周知であり、抗ＰＤ１抗体分子の投与形態の効果に応じて当業者により適合される。

【００９６】

一部の実施形態では、抗ＰＤ１抗体分子は、凍結乾燥されて提供され、投与前に再構成されてもよい。例えば凍結乾燥された抗体分子は、滅菌水で再構成され、個体への投与前に生理食塩水と混合される。

【００９７】

抗ＰＤ１抗体分子は通常、医薬組成物の形態で投与され、当該医薬組成物は、抗体分子に加えて少なくとも１つの構成要素を含有してもよい。したがって医薬組成物は、抗ＰＤ１抗体分子に加えて、薬学的に許容可能な賦形剤、担体、緩衝剤、安定剤、または当業者に周知の他の物質を含有してもよい。そうした物質は、非毒性でなければならず、そして抗ＰＤ１抗体分子の効能に干渉してはならない。担体または他の物質の正確な性質は、投与経路に依存することとなり、これは、以下に検討されるように、ボーラス、点滴、注射または任意の他の適切な経路によるものであってもよい。

【００９８】

例えば注射などによる皮下投与または静脈内投与などの非経口投与に関しては、抗ＰＤ１抗体分子を含有する医薬組成物は、発熱物質を含まず、そして適切なｐＨ、等張性および安定性の非経口に受容可能な水溶液の形態であってもよい。当業者であれば、例えば塩化ナトリウム注射溶液、リンゲル注射溶液、乳酸リンゲル注射溶液などの等張ビヒクルを使用して適切な溶液を調製することができる。保存剤、安定剤、緩衝剤、抗酸化剤、および／または他の添加剤を必要に応じて採用してもよく、例えばリン酸塩、クエン酸塩および他の有機酸などの緩衝剤；アスコルビン酸およびメチオニンなどの抗酸化剤；保存剤（例えばオクタデシルジメチルベンジル塩化アンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルアルコールまたはベンジルアルコール；例えばメチルパラベンまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レソルシノール；シクロヘキサノール；３’－ペンタノール；およびｍ－クレゾール）；低分子量ポリペプチド；例えば血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリンなどのタンパク質；例えばポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリシンなどのアミノ酸；グルコース、マンノースまたはデキストリンなどの単糖、二糖および他の炭水化物；例えばＥＤＴＡなどのキレート剤；例えばショ糖、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなどの糖類；例えばナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えばＺｎ－タンパク質錯体）；および／または例えばＴＷＥＥＮ（登録商標）、ＰＬＵＲＯＮＩＣＳ（登録商標）、またはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などの非イオン性界面活性剤が挙げられる。

【００９９】

抗ＰＤ１抗体分子を含有する医薬組成物は、治療される状態に応じて、単独で投与されてもよく、または他の治療と併用されて、同時に、または連続のいずれかで投与されてもよい。

【０１００】
本明細書に記載の抗ＰＤ１抗体分子は、ヒトまたは動物の身体の治療方法に使用されてもよく、治療には、予防的または防止的な治療が含まれる（例えば、個体において症状が発生する前に、当該個体において当該症状が発生するリスクを低下させるため、その発生を遅延させるため、または発生後の重症度を低下させるための治療）。治療方法は、抗ＰＤ１抗体分子を、その必要のある個体に投与することを含んでもよい。
【０１０１】
投与は通常、「治療有効量」でされ、これは、患者に対し有益性を示すのに充分な量である。そうした有益性は、少なくとも１つの症状の少なくとも改善であってもよい。投与される実際の量、投与速度、および投与の経時変化は、治療されるものの、特に治療される哺乳動物の、性質および重症度、個々の患者の臨床状態、障害の原因、組成物の送達部位、投与方法、投与スケジュール、および医療従事者がわかっている他の因子に依存することとなる。例えば用量の決定などの治療の指示は、一般開業医および他の医師の責の範囲内にあり、治療される疾患の症状の重症度、および／または治療される疾患の進行に依存し得る。抗体分子の適切な投与量は、当分野に周知である（Ｌｅｄｅｒｍａｎｎ Ｊ．Ａ．ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ ４７：６５９－６６４；Ｂａｇｓｈａｗｅ Ｋ．Ｄ．ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ａｎｔｉｂｏｄｙ，Ｉｍｍｕｎｏｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ ａｎｄ Ｒａｄｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ ４：９１５－９２２）。具体的な用量は、本明細書において、またはＰｈｙｓｉｃｉａｎ’ｓ Ｄｅｓｋ Ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ（２００３）において示され、投与される薬剤のタイプに応じた用量が、使用され得る。抗体分子の治療有効量または適切な用量は、そのインビトロ活性と、動物モデルにおけるインビボ活性とを比較することにより決定され得る。マウスおよび他の被験動物における有効用量を、ヒトに外挿する方法は公知である。正確な投与量は、抗体が予防用であるかまたは治療用であるか、治療される領域の大きさおよび位置、抗体の正確な性質（例えば全抗体、断片）および抗体に付加された任意の検出可能な標識または他の分子の性質をはじめとする多くの因子に依存することとなる。
【０１０２】
典型的な抗体投与量は、全身投与に対しては１００μｇ～１ｇ、局所投与に対しては１μｇ～１ｍｇの範囲である。初回に高い負荷投与量で、その後は１回または複数回の低投与量が投与されてもよい。典型的には、抗体は、例えばＩｇＧ１アイソタイプまたはＩｇＧ４アイソタイプなどの全抗体である。これは成人患者の単回治療用の投与量であり、小児および幼児に対しては相対的に調整され得、そして分子量に比例して他の抗体形式にも調整され得る。治療は、医師の裁量で毎日、週２回、毎週、または毎月の間隔で繰り返され得る。個々の治療スケジュールは、抗体組成物の薬物動態および薬力学的性質、投与経路、ならびに治療される状態の性質に依存し得る。
【０１０３】
治療は定期的であってもよく、投与の間の期間は、約２週間またはそれ以上であってもよく、例えば約３週間以上、約４週間以上、約１カ月に１回以上、約５週間以上、または約６週間以上であってもよい。例えば、治療は、２週～４週ごと、または４週～８週ごとであってもよい。治療は、外科手術の前、および／もしくは後に行われてもよく、ならびに／または外科的治療もしくは浸潤的手順の解剖学的位置に直接投与または適用されてもよい。適切な製剤および投与経路は、上記に記載される。
【０１０４】
一部の実施形態では、本明細書に記載の抗ＰＤ１抗体分子は、皮下注射として投与されてもよい。皮下注射は、例えば長期間の予防用／治療用の自己注射器を使用して投与されてもよい。
【０１０５】
一部の好ましい実施形態では、抗ＰＤ１抗体分子の治療効果は、いくつかの半減期の間、持続し得、投与量に依存する。例えば抗ＰＤ１抗体分子の単回投与の治療効果は、個体において、１カ月以上、２カ月以上、３カ月以上、４カ月以上、５カ月以上、または６カ

月以上、持続し得る。

【０１０６】

本発明はさらに、ヒトＰＤ１に特異的に結合し、および任意でカニクイザルのＰＤ１にも特異的に結合する抗体分子、またはその抗原結合部分を作製する方法を提供するものであり、当該方法は、

（１）非ヒト源由来の抗ＰＤ１　ＣＤＲをヒトｖ－ドメインフレームワーク内に移植し、ヒト化抗ＰＤ１抗体分子またはその抗原結合部分を作製する工程、

（２）ＣＤＲ中に１つまたは複数の変異を含有する当該ヒト化抗ＰＤ１抗体分子またはその抗原結合部分のクローンのライブラリーを作製する工程、

（３）ヒトＰＤ１への結合について、および任意でカニクイザルのＰＤ１への結合についても当該ライブラリーをスクリーニングする工程、

（４）スクリーニングする工程（３）から、ヒトＰＤ１に特異的に結合する、および任意でカニクイザルＰＤ１にも特異的に結合するクローンを選択する工程、ならびに

（５）ヒトＰＤ１に特異的に結合し、および任意でカニクイザルＰＤ１にも特異的に結合する抗体分子、またはその抗原結合部分を、工程（４）から選択されたクローンから作製する工程、を含む。

【０１０７】

当該方法は、工程（４）で選択されたクローンに基づき、例えば工程（４）で選択されたクローンのＣＤＲ中の特定の位置でのさらなる探索的な突然変異誘導に基づき、追加のクローンを作製して、ヒト化を強化し、および／またはヒトＴ細胞エピトープ含量を最小化し、および／または工程（５）で作製された抗体分子もしくはその抗原結合部分の製造特性を改善するさらなる工程を含んでもよい。

【０１０８】

上述の方法に適用可能な改善は、以下の実施例１に記載されるとおりである。

【０１０９】

本明細書で用いる場合、“ＰＤ１”の語は、ＰＤ１の生物学的活性の少なくとも一部を保持する、プログラム細胞死タンパク質１およびそのバリアントを指す。本明細書において使用される場合、ＰＤ１は、ヒト、ラット、マウスおよびニワトリを含むすべての種の天然配列ＰＤ１を含む。“ＰＤ１”の語は、ヒトＰＤ１のバリアント、アイソフォームおよび種のホモログを含むために使用される。本発明の抗体は、ヒト以外の種に由来するＰＤ１、特にカニクイザル（Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）由来のＰＤ１と交差反応し得る。ヒトおよびカニクイザルのＰＤ１アミノ酸配列の例を、表１１に提供する。ある実施形態では、抗体は、完全にヒトＰＤ１に特異的であってもよく、非ヒトとの交差反応性を呈さなくてもよい。

【０１１０】

本明細書において使用される場合、本発明の抗体の文脈において使用される場合の「アンタゴニスト」、または「抗ＰＤ１アンタゴニスト抗体」（「抗ＰＤ１抗体」と相互交換可能に称される）とは、ＰＤ１に結合することができる、ならびにＰＤ１の生物学的活性を阻害することができる、および／またはＰＤ１シグナル伝達により介在される下流経路を阻害することができる抗体を指す。抗ＰＤ１アンタゴニスト抗体には、例えばＰＤ１に対する受容体結合および／または細胞反応の惹起など、ＰＤ１シグナル伝達により介在される下流経路を含めた、（有意に）ＰＤ１の生物学的活性（を含めた）を遮断する、拮抗する、抑制する、または低下させることができる抗体を包含する。本発明の目的に対し、「抗ＰＤ１アンタゴニスト抗体」という用語は、ＰＤ１それ自体、およびＰＤ１の生物学的活性（限定されないが、Ｔ細胞の抗腫瘍細胞活性の活性化を抑制する能力を含む）、または活性もしくは生物学的活性の結果が、任意の意義のある程度に実質的に無効化される、減少される、または中和されるすべての用語、タイトル、ならびに機能的状態および機能的特性を包含することが明示的に理解されるであろう。

【０１１１】

他の受容体よりも高いアフィニティ、高いアビディティ、より容易に、および／または

より長い期間、ＰＤ１と結合する場合、当該抗体は、ＰＤ１に「特異的に結合する」、「特異的に相互作用する」、「優先的に結合する」、「結合する」または「相互作用する」。

【０１１２】

「抗体分子」は、例えば炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、ポリペプチドなどの標的に、免疫グロブリン分子の可変領域中に位置する少なくとも１つの抗原認識部位を介して特異的に結合することができる免疫グロブリン分子である。本明細書において使用される場合、「抗体分子」という用語は、インタクトなポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体のみならず、任意の抗原結合断片（例えば「抗原結合部分」）またはその一本鎖、抗体を含む融合タンパク質、ならびに例えば限定されないが、ｓｃＦｖ、単一ドメイン抗体（例えばサメ抗体およびラクダ科抗体）、マキシボディ、ミニボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ｖ－ＮＡＲ、およびｂｉｓ－ｓｃＦｖを含む抗原認識部位を含有する免疫グロブリン分子の任意の他の改変構造体も包含する。

【０１１３】

「抗体分子」は、例えばＩｇＧ、ＩｇＡ、またはＩｇＭ（またはそのサブクラス）などの任意のクラスの抗体を包含するが、抗体はいずれか特定のクラスのものである必要はない。その重鎖の定常領域の抗体アミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンは、様々なクラスに割り当てられ得る。免疫グロブリンにはＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧおよびＩｇＭの５種類の主要なクラスがある。これらのうちのいくつかは、さらにサブクラス（アイソタイプ）に分けられる場合があり、例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１およびＩｇＡ２がある。異なるクラスの免疫グロブリンに対応する重鎖定常領域はそれぞれアルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ、およびミューと呼ばれる。このサブユニットの構造、および様々なクラスの免疫グロブリンの三次元構造は周知である。

【０１１４】

抗体分子の「抗原結合部分」という用語は、本明細書において使用される場合、ＰＤ１に特異的に結合する能力を保持する、インタクトな抗体の１つまたは複数の断片を指す。抗体分子の抗原結合機能は、インタクトな抗体の断片により実現され得る。抗体分子の「抗原結合部分」という用語に包含される結合断片の例示としては、Ｆａｂ；Ｆａｂ’；Ｆ（ａｂ’）２；ＶＨドメインとＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片；抗体の１つのアームのＶＬドメインおよびＶＨドメインからなるＦｖ断片；単一ドメイン抗体（ｄＡｂ）断片、および単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）が挙げられる。

【０１１５】

「Ｆｃ領域」という用語は、免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を規定するために使用される。「Ｆｃ領域」は、天然配列のＦｃ領域またはバリアントのＦｃ領域であってもよい。免疫グロブリン重鎖のＦｃ領域の境界は変化し得るが、ヒトＩｇＧ重鎖のＦｃ領域は通常、Ｃｙｓ２２６の位置のアミノ酸残基、またはＰｒｏ２３０の位置のアミノ酸残基から、そのカルボキシル末端に及ぶと規定される。Ｆｃ領域中の残基の番号付けは、ＫａｂａｔにあるＥＵインデックスの番号である。免疫グロブリンのＦｃ領域は通常、ＣＨ２とＣＨ３の２つの定常ドメインを含有する。当分野に知られているように、Ｆｃ領域は、二量体型または単量体型で存在し得る。

【０１１６】

抗体の「可変領域」とは、抗体軽鎖の可変領域または抗体重鎖の可変領域の、いずれか単独または組み合わせを指す。当分野に知られているように、重鎖および軽鎖の可変領域は各々、超可変領域としても知られている３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）に繋がる４つのフレームワーク領域（ＦＲ）からなり、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する。ＣＤＲに隣接するＦＲを選択するとき、例えば抗体のヒト化または最適化を行うとき、同じ基準クラスのＣＤＲ配列を含有する抗体由来のＦＲが好ましい。

【０１１７】

本出願において使用されるＣＤＲの定義は、当分野で創出された多くの異質的な、しばしば矛盾するスキームにおいて使用されるドメインを組み合わせており、免疫グロブリン

レパートリー分析と、遊離状態および抗原との共結晶状態の抗体の構造分析との組み合わせに基づいている（Ｓｗｉｎｄｅｌｌｓ ｅｔ ａｌ．，２０１６，ａｂＹｓｉｓ：Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ－Ｍａｎａｇｅｍｅｎｔ，Ａｎａｌｙｓｉｓ，ａｎｄ Ｐｒｅｄｉｃｔｉｏｎ．Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ．［ＰＭＩＤ：２７５６１７０７；Ｅｐｕｂ ２２ Ａｕｇｕｓｔ ２０１６］によるレビューを参照のこと）。本明細書において使用されるＣＤＲの定義（「統合（Ｕｎｉｆｉｅｄ）」定義）は、そうしたすべての過去の洞察の教示を組み込んでおり、潜在的に標的－結合の相補性を介在する完全な残基の状況を抽出するために必要なすべての適切なループ位置を含む。

【０１１８】

表１は、本明細書に規定されるＭｕ３１７マウス抗ＰＤ１抗体のＣＤＲのアミノ酸配列（「統合」スキーム）を、同じＣＤＲを規定する周知の代替的な系と比較して示している。

【０１１９】

本明細書において使用される場合、「保存的置換」という用語は、アミノ酸を、機能活性を大きく有害には変化させない別のアミノ酸で置換することを指す。「保存的置換」の好ましい例は、１つのアミノ酸を、以下のＢＬＯＳＵＭ ６２置換マトリクス（Ｈｅｎｉｋｏｆｆ＆Ｈｅｎｉｋｏｆｆ，１９９２，ＰＮＡＳ ８９：１０９１５－１０９１９を参照のこと）において０以上の値（≧０）を有する別のアミノ酸で置換することである。

【０１２０】

【化１】

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	4	-1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	1	0	-3	-2	0
R	-1	5	0	-2	-3	1	0	-2	0	-3	-2	2	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	-3
N	-2	0	6	1	-3	0	0	0	1	-3	-3	0	-2	-3	-2	1	0	-4	-2	-3
D	-2	-2	1	6	-3	0	2	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	-1	-4	-3	-3
C	0	-3	-3	-3	9	-3	-4	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-2	-3	-1	-1	-2	-2	-1
Q	-1	1	0	0	-3	5	2	-2	0	-3	-2	1	0	-3	-1	0	-1	-2	-1	-2
E	-1	0	0	2	-4	2	5	-2	0	-3	-3	1	-2	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
G	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	6	-2	-4	-4	-2	-3	-3	-2	0	-2	-2	-3	-3
H	-2	0	1	-1	-3	0	0	-2	8	-3	-3	-1	-2	-1	-2	-1	-2	-2	2	-3
I	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	4	2	-3	1	0	-3	-2	-1	-3	-1	3
L	-1	-2	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	2	4	-2	2	0	-3	-2	-1	-2	-1	1
K	-1	2	0	-1	-3	1	1	-2	-1	-3	-2	5	-1	-3	-1	0	-1	-3	-2	-2
M	-1	-1	-2	-3	-1	0	-2	-3	-2	1	2	-1	5	0	-2	-1	-1	-1	-1	1
F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	6	-4	-2	-2	1	3	-1
P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7	-1	-1	-4	-3	-2
S	1	-1	1	0	-1	0	0	0	-1	-2	-2	0	-1	-2	-1	4	1	-3	-2	-2
T	0	-1	0	-1	-1	-1	-1	-2	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	1	5	-2	-2	0
W	-3	-3	-4	-4	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-1	1	-4	-3	-2	11	2	-3
Y	-2	-2	-2	-3	-2	-1	-2	-3	2	-1	-1	-2	-1	3	-3	-2	-2	2	7	-1
V	0	-3	-3	-3	-1	-2	-2	-3	-3	3	1	-2	1	-1	-2	-2	0	-3	-1	4。

【０１２１】

「モノクローナル抗体」（Ｍａｂ）という用語は、例えば任意の真核細胞クローン、原核細胞クローンもしくはファージクローンなどの１つのコピーまたはクローンから誘導された抗体またはその抗原結合部分を指し、それが作製された方法ではない。本発明のモノクローナル抗体は、均質、または実質的に均質な集団で存在することが好ましい。

【０１２２】

「ヒト化」抗体分子とは、非ヒト免疫グロブリンに由来する配列を最小限に含有するキメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、またはその断片（例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、または他の抗原結合性の抗体下位配列）である、非ヒト（例えばマウス）抗体分子またはその抗原結合部分の形態を指す。ヒト化抗体は、レシピエントのＣＤＲ由来の残基が、所望の特異性、アフィニティおよび能力を有する例えばマウス、ラットまたはウサギなどの非ヒト種（ドナー抗体）のＣＤＲ由来の残基で置き換えられているヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）であってもよい。

【０１２３】

「ヒト抗体または完全ヒト抗体」とは、ヒト抗体遺伝子を担持するトランスジェニックマウスから誘導された、またはヒト細胞から誘導された抗体分子またはその抗原結合部分を指す。

【０１２４】

「キメラ抗体」という用語は、可変領域配列が１つの種に由来し、定常領域配列は別の種に由来する抗体分子またはその抗原結合部分を指すことが意図され、例えば、可変領域配列はマウス抗体に由来し、定常領域配列はヒト抗体に由来する抗体分子などである。

【０１２５】

「抗体－薬剤結合体」および「免疫結合体」とは、ＰＤ１に結合し、ならびに細胞傷害剤、細胞増殖抑制剤、および／または治療剤と結合される抗体分子またはその抗原結合部分を指し、抗体誘導体を含む。

【０１２６】

本発明の抗体分子、またはその抗原結合部分は、例えば組換え技術、ファージディスプレイ技術、合成技術、またはそうした技術もしくは当分野に既に公知である他の技術との組み合わせなどの当分野に周知の技術を使用して作製され得る。

【０１２７】

「単離された分子」（分子が、例えばポリペプチド、ポリヌクレオチドまたは抗体である場合）という用語は、その起源または誘導の源によって、（１）自然状態では付随する天然の関連構成要素と関連していない分子、（２）同じ種由来の他の分子を実質的に含まない分子、（３）異なる種由来の細胞により発現された分子、または（４）自然に発生しない分子である。したがって、化学的に合成された分子、または天然での起源である細胞とは異なる細胞系で発現された分子は、その天然の関連構成要素から「単離される」。さらに分子は、当分野に周知の精製技術を使用した単離によって、天然の関連構成要素を実質的に含まない状態となり得る。分子純度または均質性は、当分野に周知の多くの手段により解析され得る。例えばポリペプチドサンプルの純度は、当分野に周知の技術を使用してポリアクリルアミドゲル電気泳動を使用し、ゲルを染色してポリペプチドを可視化して解析されてもよい。ある目的に対し、ＨＰＬＣ、または精製分野で周知の他の手段を使用することにより、さらに高い分解能が提供される場合がある。

【０１２８】

「エピトープ」という用語は、抗体分子の抗原結合領域のうちの１つまたは複数で抗体分子に認識され、結合されることができる分子の部分、またはその抗原結合部分を指す。エピトープは、一次、二次または三次のタンパク質構造の規定領域からなる場合があり、抗体またはその抗原結合部分の抗原結合領域に認識される標的の二次構造単位または二次構造ドメインの組み合わせを含む。同じくエピトープは、例えばアミノ酸または糖側鎖などの規定の化学的に活性な分子の表面群からなる場合があり、特定の三次元構造特性ならびに特定の電荷特性を有する場合がある。本明細書において使用される場合、「抗原性エピトープ」という用語は、当分野に周知の任意の方法、例えば従来的な免疫アッセイ法、抗体競合結合アッセイ、またはｘ線結晶法もしくは関連する構造決定法（例えばＮＭＲ）により決定されたときに、抗体分子が特異的に結合することができるポリペプチドの部分と規定される。

【０１２９】

「結合アフィニティ」または「ＫＤ」という用語は、特定の抗原－抗体の相互作用の解離速度を指す。ＫＤは、「ｏｆｆ－ｒａｔｅ（k_{off}）」とも呼ばれる解離速度の、「ｏｎ－ｒａｔｅ（k_{on}）」、すなわち会合速度に対する比率である。ゆえにK_Dは、k_{off}／k_{on}に等しく、モル濃度（Ｍ）として表される。従って、K_Dが小さくなると、結合アフィニティは強くなる。ゆえにK_Dが１μＭであれば、K_Dが１ｎＭの場合と比較して結合アフィニティが弱いことを示す。抗体のＫＤ値は、当分野に確立された方法を使用して決定され得る。抗体のＫＤの決定方法の１つは、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）を使用するものであり、典型的には、例えばビアコア（Ｂｉａｃｏｒｅ（登録商標））システムなどのバイオセンサーシステムを使用する。

【０１３０】
「有効性」という用語は、生物活性の測定値であり、本明細書に記載のＰＤ１活性アッセイにおいて測定される活性の５０％を阻害する、抗原ＰＤ１に対する抗体または抗体薬剤結合体のＩＣ$_{50}$すなわち有効濃度として表す場合もある。
【０１３１】
本明細書において使用される場合、「有効量」または「治療有効量」という文言は、所望の治療結果を実現するために必要な（用量での、および期間に対する、および投与手段に対する）量を指す。有効量は、活性剤の、対象に治療上有益な影響を与えるために必要な少なくとも最小量であるが、対象に毒性のある量よりは少ない量である。
【０１３２】
本発明の抗体分子の生物活性に関して本明細書において使用される場合、「阻害する」または「中和する」という用語は、限定されないが、ＰＤ１に対する抗体分子の生物活性、または抗体分子とＰＤ１の結合相互作用を含む、阻害されるものの例えば進行または重症度を実質的に拮抗する、妨げる、予防する、抑える、減速させる、破壊する、除去する、停止させる、低下させる、または反転させる抗体の能力を意味する。
【０１３３】
「宿主細胞」には、ポリヌクレオチド挿入物の組み込みのためのベクターに対するレシピエントであってもよく、またはレシピエントである個々の細胞または細胞培養物を含む。宿主細胞は、単一宿主細胞の子孫物を含み、当該子孫物は、自然の、偶発的な、または意図的な変異により、元の親細胞と完全に同一（形態において、またはゲノムＤＮＡの相補体において）であるとは限らない場合がある。宿主細胞には、本発明のポリヌクレオチドをインビボでトランスフェクトされた細胞が含まれる。
【０１３４】
本明細書において使用される場合、「ベクター」とは、宿主細胞において、関心の１つまたは複数の遺伝子または配列を送達することができる、そして好ましくは発現することができる構築物を意味する。ベクターの例としては限定されないが、ウイルスベクター、ネイキッドＤＮＡまたはＲＮＡの発現ベクター、プラスミド、コスミドまたはファージベクター、カチオン縮合剤と会合したＤＮＡまたはＲＮＡの発現ベクター、リポソーム中に封入されたＤＮＡまたはＲＮＡの発現ベクター、および例えば産生細胞などの特定の真核細胞が挙げられる。
【０１３５】
本明細書において使用される場合、別段が示唆されない限り、「治療すること」という用語は、そうした用語が適用される障害もしくは症状、またはそうした障害もしくは症状の１つまたは複数症状を反転させる、改善させる、進行を阻害する、進行を遅延させる、発症を遅延させる、または予防することを意味する。本明細書において使用される場合、別段の示唆が無い限り、「治療」という用語は、上述に規定される治療の行為を指す。「治療すること」という用語は、対象のアジュバント療法およびネオアジュバント療法も含む。誤解を避けるために、本明細書において「治療」という言及は、治癒的、緩和的、および予防的な治療に対する言及を含む。誤解を避けるために、本明細書において「治療」という言及は、治癒的、緩和的、および予防的な治療に対する言及もさらに含む。
【０１３６】
本明細書において、実施形態は、「含む、含有する」という文言で記載されているか、さもなければ「～からなる」および／または「本質的に～からなる」として記載される類似した実施形態も提供されることを理解されたい。
【０１３７】
本発明の態様または実施形態が、マーカッシュ群または他の択一的な群で記載されている場合、本発明は、概して列挙される群全体のみならず、当該群の各メンバーを個々に、および当該主要群のうちの可能性のあるすべての亜群、そして当該群メンバーの１つまたは複数を欠いた主要群も包含する。本発明はさらに、請求される本発明の群メンバーのいずれかの１つまたは複数の明白な除外を予期するものである。

【０１３８】
別段の規定がない限り、本明細書において使用される全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する分野の当業者によって普遍的に理解される意味と同じ意味を有する。矛盾が生じる場合、本明細書が定義を含めて主導をとるものとする。本明細書および特許請求の範囲の全体を通じて、「含む、含有する」という文言、または例えば「含む、含有する」または「含むこと、含有すること」といった変化形は、記述される整数値の含有、または整数値の群の含有を示唆するが、任意の他の整数値または整数値の群の除外は示唆しないと理解される。文脈により別段であることを要しない限り、単数形の用語は複数を含むものとし、複数形は単数を含むものとする。「例えば」という用語の後に続くあらゆる例示は、包括的または限定であることは意味しない。

【０１３９】
本発明の実施は、別段の示唆が無い限り、分子生物学（組換え技術を含む）、微生物学、細胞生物学、生化学、および免疫学の従来的な技術を採用し、それら技術は当分野の技術範囲内にある。

【０１４０】
本発明の特定の非限定的な実施形態を、添付の図面を参照しながら記載することとする。

【実施例】

【０１４１】
実施例１．最適化抗ＰＤ１治療用抗体の作製

イントロダクション
本実施例において、本発明者らは、アゴニスト性の最適化抗ＰＤ１抗体のパネルの作製に成功した。これら抗ＰＤ１抗体は良好に発現され、生物物理的に安定であり、溶解度が高く、そして好ましいヒト生殖細胞系列に対し最大の同一性を有している。

【０１４２】
材料及び方法

ＰＤ１ライブラリーの作製および選択
ＰＤ１　Ｆａｂライブラリーは、大量オリゴ合成およびＰＣＲにより組み立てられた。次いで増幅されたＦａｂレパートリーを制限酵素－ライゲーションを介してファージミドベクター内にクローニングし、大腸菌ＴＧ－１細胞内に形質転換した。ファージレパートリーは、原則として過去に詳述されるようにレスキューされた（Ｆｉｎｌａｙ　ｅｔ　ａｌ．，２０１１，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　６８１：３８３－４０１）。

【０１４３】
ファージ選択は、ストレプトアビジン磁気マイクロビーズをビオチン化ＰＤ１標的タンパク質（ヒトまたはカニクイザルのいずれか）でコーティングし、ビーズをＰＢＳで３回洗浄して、５％スキムミルクタンパク質を加えたＰＢＳ　ｐＨ７．４中に再懸濁させることにより実施された。これらビーズは、選択のラウンド１では１００ｎＭの標的タンパク質でコーティングされており、その後の３回の連続ラウンドでは抗原濃度は減少した。各ラウンドにおいて、ファージはトリプシンを使用して溶出され、その後、ＴＧ１細胞内に再感染された。

【０１４４】
ペリプラズム抽出物の作製（小スケール）
個々の大腸菌クローンにおいて、可溶性Ｆａｂの産生が行われた。対数増殖期の大腸菌ＴＧ１細胞は、１－チオ－β－Ｄ－ガラクトピラノシドイソプロピルを用いて誘導された。可溶性Ｆａｂを含有するペリプラズム抽出物は、以下の凍結／融解サイクルにより作製された：細菌細胞沈殿物を一晩、－２０℃で凍結させ、その後室温で融解させ、ＰＢＳ　ｐＨ７．４中に再懸濁させた。室温で振とうし、遠心分離を行った後に、可溶性Ｆａｂを含有する上清を収集した。

【０１４５】
ＩｇＧの発現および精製

Ｍｕ３１７およびｈｕ３１７を合わせたリードパネル抗ＰＤ１抗体の重鎖ならびに軽鎖の可変ドメインをコードする哺乳動物コドン最適化合成遺伝子を、エフェクター機能を無効化したヒトＩｇＧ１（「ＩｇＧ１ヌル（ＩｇＧ１ｎｕｌｌ）」；正常免疫グロブリンＦｃγＲ相互作用を無効にする、下方ヒンジ内にＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｇ２３７Ａ変異を含有するヒトＩｇＧ１）およびヒトＣκドメインをそれぞれ含有する、哺乳動物発現ベクターにクローン化した。哺乳動物発現系において、重鎖および軽鎖を含有するベクターの共トランスフェクションを実施し、次いでプロテインＡ系のＩｇＧ精製、定量、ならびに変性ＳＤＳ－ＰＡＧＥおよび非変性ＳＤＳ－ＰＡＧＥ上でＱＣを行った。

【０１４６】

ＦａｂおよびＩｇＧに対する直接結合ＥＬＩＳＡ

組換えタンパク質に対するリードパネルの結合および交差反応性は、最初に結合ＥＬＩＳＡにより評価された。ヒトＰＤ１のヒトＦｃタグ化組換えタンパク質、およびカニクイザルＰＤ１のヒトＦｃタグ化組換えタンパク質で、ＭａｘｉＳｏｒｐ（商標）平底９６ウェルプレートの表面上を１μｇ／ｍｌでコーティングした。Ｆａｂサンプルは、１％スキムミルク／１×ＰＢＳ中で１：５希釈で、室温で１時間、１００μｌ／ウェルで加えた。ＩｇＧは、５００ｎＭから始まり０．９８ｎＭまでの２倍連続希釈で漸増して、コーティングされた抗原に結合できるようにした。Ｆａｂは、マウス抗ｃ－ｍｙｃ抗体、次いで西洋ワサビペルオキシダーゼに結合したロバ抗マウスＩｇＧを使用して検出された。ＩｇＧは、西洋ワサビペルオキシダーゼに結合したマウス抗ヒトＩｇＧを使用して検出した。結合シグナルは、３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン基質溶液（ＴＭＢ）を用いて可視化され、吸光度は４５０ｎｍで測定した。

【０１４７】

ＩｇＧ１ヌル抗体に対する、Ａｌｐｈａｓｃｒｅｅｎエピトープ競合アッセイ

ＡｌｐｈａＳｃｒｅｅｎアッセイ（パーキンエルマー社）は、３８４ウェルの白色マイクロタイタープレート（グライナー社）において２５μｌの最終量で実施した。反応緩衝液は、１ｘＰＢＳ　ｐＨ７．３（Ｏｘｏｉｄ社、カタログ番号ＢＲ００１４Ｇ）および０．０５％（ｖ／ｖ）のＴｗｅｅｎ（登録商標）２０（シグマ社、カタログ番号Ｐ９４１６）を含有した。精製したＩｇＧサンプルは、５００ｎＭの最終濃度で始まる３倍連続希釈で漸増され、室温で２０分間、０．６ｎＭの最終濃度でビオチン化ヒトＰＤ１－Ｈｉｓ／Ａｖｉタグとともにインキュベートした。０．３ｎＭでの親ＩｇＧおよび２０μｇ／ｍｌ（最終濃度）での抗ヒトＩｇＧ１アクセプタービーズを添加し、混合物を室温で１時間インキュベートした。次いで、ストレプトアビジンドナービーズを２０μｇ／ｍｌ（最終濃度）で添加し、室温で３０分間インキュベートした。発光は、ＥｎＶｉｓｉｏｎマルチラベルプレートリーダー（パーキンエルマー社）において測定され、ＥｎＶｉｓｉｏｎマネージャーソフトウェアを使用して解析した。値は、１秒当たりのカウント数（ＣＰＳ：Ｃｏｕｎｔｓ　Ｐｅｒ　Ｓｅｃｏｎｄ）として報告され、クロストークに対して補正された。

【０１４８】

ＩｇＧのフローサイトメトリー

精製したＩｇＧを、ヒト（Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ社、カタログ番号Ｍ００５２９）およびカニクイザル（Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ社、カタログ番号Ｍ００５７２）の　ＰＤ１を発現するＣＨＯ－Ｋ１安定発現株およびＣＨＯ－Ｋ１野生型細胞に対する結合に関して、ＦＡＣにおいて試験した。ＩｇＧサンプルは、５００ｎＭに始まり０．９８ｎＭまでの３倍連続希釈で漸増した。ＩｇＧの結合は、ＦＩＴＣに結合したマウス抗ヒトＩｇＧを用いて検出された。結果は、フローサイトメーターのＢＬ－１チャンネル検出器（Ａｔｔｕｎｅ（商標）　ＮｘＴ　Ａｃｏｕｓｔｉｃ　Ｆｏｃｕｓｉｎｇ　Ｃｙｔｏｍｅｔｅｒ、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ／ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ社）において、１サンプル当たり１００００個の細胞の平均蛍光強度（ＭＦＩ）を検証することにより解析した。ＥＣ５０値は、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェア（ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ社、カリフォルニア州ラホヤ）においてＭＦＩ値と、４つのパラメータとを使

用して算出した。

【０１４９】

ＰＤ１／ＰＤ－Ｌ１細胞に基づくアンタゴニズムアッセイ

ＰＤ１／ＰＤ－Ｌ１遮断細胞系バイオアッセイ（プロメガ社）を用いて、抗体のＰＤ１／ＰＤ－Ｌ１相互作用遮断能を測定した。アッセイ前日に、ＰＤ－Ｌ１　ａＡＰＣ／ＣＨＯ－Ｋ１細胞を融解して、細胞回復培地（９０％のハムＦ１２／１０％のＦＢＳ）に移した。９６ウェル白色平底アッセイプレート２枚の６０個の内側ウェルそれぞれに、１ウェル当たり１００μｌで、細胞懸濁液を注入した。外側ウェルとアッセイプレートとのそれぞれに細胞回復培地を加えて、３７℃／５％のＣＯ２で一晩インキュベートした。アッセイの当日、サンプルＩｇＧを、アッセイ緩衝液（９９％のＲＰＭＩ　１６４０／１％のＦＢＳ）中で３００ｎＭから０．０４ｎＭに４倍希釈し、希釈当たり４０μｌを、ＰＤ－Ｌ１　ａＡＰＣ／ＣＨＯ－Ｋ１細胞を含有するアッセイプレートに添加した。陽性阻害対照には、ヒトＰＤ１抗体ＡＦ１０８６（Ｒ＆Ｄシステムズ社）、ＩｇＧ１ヌル形式でのｍｕ３１７およびＩｇＧ１ヌル形式でのペムブロリズマブｍａｂアナログを含めた。陰性阻害対照としては、無関係のＩｇＧを含めた。次いでアッセイ緩衝液（９９％のＲＰＭＩ　１６４０／１％のＦＢＳ）中で、ＰＤ１エフェクター細胞を融解して、細胞懸濁液を、ＰＤ－Ｌ１　ａＡＰＣ／ＣＨＯ－Ｋ１細胞およびＩｇＧ用量設定サンプルを含有するアッセイプレートのウェルに添加した。アッセイプレートを、３７℃／５％ＣＯ２のインキュベーター内で６時間インキュベートし、５～１０分間周囲温度と平衡にし、次いで８０μｌのＢｉｏ－Ｇｌｏ（商標）試薬（プロメガ社）を添加した。アッセイプレートを、さらに５～３０分間周囲温度でインキュベートし、次いで１０分、２０分、および３０分において発光シグナルを測定した。

【０１５０】

同種異系混合白血球反応（ＭＬＲ）アッセイ

健常なドナーよりのヒトＰＢＭＣを、バフィーコートから調製した。未発達単核球由来の樹状細胞（Ｍｏ－ＤＣ）を、磁気活性化細胞選別（ＭＡＣ、Ｓｔｅｍｃｅｌｌ社）を用いたＣＤ１４＋細胞の単離により調製し、７日間、分化培地（ミルテニー社（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ））で培養した。この７日間の期間の終了後、Ｍｏ－ＤＣを、「未成熟（ｉｍｍａｔｕｒｅ）」として分類し、未成熟ＭＬＲで使用できる状態にした。レスポンダーＴ細胞（低温保存したＰＢＭＣを用いることによる）を、Ｔ細胞単離キット（Ｓｔｅｍｃｅｌｌ社）を用いて、Ｍｏ－ＤＣに用いられるのと異なるドナーから、必要な日に調製した。それぞれの実験条件下で（未成熟およびＭｏＤＣ）、６つの別個のＭＬＲを、生物学的変化を与えるように実施し、全ての条件を、技術的に３つ組で調製した。細胞を以下のとおり共培養した：１ウェル当たり、１ｘ１０^{4}個のＭｏ－ＤＣおよび１ｘ１０^{5}個のＣＤ４＋　Ｔ細胞＋／－試験ＩｇＧ抗体で、４日間。単一の細胞型（Ｔ細胞／Ｍｏ－ＤＣ）コントロールを、各アッセイに含めた。培養期間終了後、上清を回収し、ＥＬＩＳＡでＩＦＮ－γを評価した。

【０１５１】

電荷バリアント解析

被験物の電荷バリアントのプロファイリングは、ＬａｂＣｈｉｐ　ＧＸＩＩ　Ｔｏｕｃｈ　ＨＴ（パーキンエルマー社、英国ベコンズフィールド）において、製造元のプロトコルに従って、タンパク質電荷バリアントアッセイにより決定した。

【０１５２】

ＤＳＣ解析

被験物質のＴｍは、ＭｉｃｒｏＣａｌ　ＰＥＡＱ－ＤＳＣ（Ｍａｌｖｅｒｎ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ社、英国モルバーン）ランニングバージョン１．２２ソフトウェアを使用して解析した。２０～１１０℃の範囲にわたり２００℃／時（ｈｏｕｒ）の速さでサンプルを加熱した。温度データは、タンパク質濃度に基づき正規化された。タンパク質のＴｍは、加熱スキャンデータから決定された。

【０１５３】

強制酸化解析

強制酸化解析のために、ＰＢＳ中の被験物を、以下に詳述するとおり、室温で２時間、０．５％のＨ２Ｏ２で処理し、次いでＤｉｏｎｅｘ Ｕｌｔｉｍａｔｅ ３０００ＲＳ ＨＰＬＣシステム（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ社、英国ヘメルヘムステッド）でのＳＥＣ、ＨＩＣおよびＲＰ解析（インタクトな抗体およびサブユニット）前に－８０℃で保存した。インタクトな抗体の還元に関して、ＤＴＴを最終濃度０．３３Ｍまで添加して、サンプルを室温で１時間インキュベートし、ＲＰで直ちに解析した。

【０１５４】

インタクトな抗体およびサブユニットのＲＰ解析－クロマトグラフィー分離は、Ｄｉｏｎｅｘ Ｕｌｔｉｍａｔｅ ３０００ＲＳ ＨＰＬＣシステム（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ社、英国ヘメルヘムステッド）に接続されたＰＬＲＰ－Ｓ １０００、５μｍ、２．１ｍｍ×５０ｍｍのカラム（Ａｇｉｌｅｎｔ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ社、英国ストックポート）を使用して実施した。この方法は、２４分間にわたる、７５％緩衝液Ａ（０．０７５％のＴＦＡ、７．５％のアセトニトリルの水溶液）から、ｍＡＢ１～４については５０％緩衝液Ｂ（０．０７５％のＴＦＡ、７．５％のＨ２Ｏのアセトニトリル溶液）またはｍＡｂ５については９０％緩衝液Ｂまでの直線勾配で構成された。流速は、０．５ｍＬ／分、温度は解析中、７０℃で維持された。検出は、２８０ｎｍのＵＶ吸収により実施された。

【０１５５】

ＳＥＣ解析－クロマトグラフィーによる分離は、Ｄｉｏｎｅｘ Ｕｌｔｉｍａｔｅ ３０００ＲＳ ＨＰＬＣシステム（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ社、英国ヘメルヘムステッド）に接続された、Ａｃｑｕｉｔｙ ＵＰＬＣ Ｐｒｏｔｅｉｎ ＢＥＨ ＳＥＣカラム、２００Å、１．７μｍ、４．６ｍｍ×１５０ｍｍ（Ｗａｔｅｒｓ社、英国エルスツリー）およびＡｃｑｕｉｔｙ ＵＰＬＣ Ｐｒｏｔｅｉｎ ＢＥＨ ＳＥＣガードカラム３０×４．６ｍｍ、１．７μｍ、２００Å（Ｗａｔｅｒｓ社、英国エルスツリー）を使用して実施した。この方法は、１５分にわたる定組成溶離から構成され、移動相は、０．２Ｍリン酸カリウム、ｐＨ６．８、０．２Ｍ塩化カリウムとした。流速は、０．２５ｍＬ／分であった。検出は、２８０ｎｍのＵＶ吸収により実施された。

ＨＩＣ解析－クロマトグラフィーによる分離は、Ｄｉｏｎｅｘ Ｕｌｔｉｍａｔｅ ３０００ＲＳ ＨＰＬＣシステム（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ社、英国ヘメルヘムステッド）に接続されたＴＳＫｇｅｌ Ｂｕｔｙｌ－ＮＰＲ ４．６ｍｍ×３５ｍｍ ＨＩＣカラム（ＴＯＳＯＨ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ Ｌｔｄ．社、英国レディング）を使用して実施した。この方法は、９分間にわたる６０％緩衝液Ａ（１００ｍＭのリン酸ナトリウム、ｐＨ７．０、２Ｍ硫酸アンモニウム）から９０％緩衝液Ｂ（１００ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ７．０）までの直線勾配で構成された。流速は、１．２ｍＬ／分であった。検出は、２８０ｎｍのＵＶ吸収により実施された。

【０１５６】

抗体ｖ－ドメインの特異性検証：ヒト受容体アレイ解析

ヒト細胞膜受容体プロテオームアレイを、Ｒｅｔｒｏｇｅｎｉｘ社（Ｒｅｔｒｏｇｅｎｉｘ Ｌｔｄ．）で実施した。プライマリスクリーン：２μｇ／ｍｌの各抗体を、５５２８個のヒト原形質膜タンパク質およびテザー分泌型タンパク質（ｔｅｔｈｅｒｅｄ ｓｅｃｒｅｔｅｄ ｐｒｏｔｅｉｎ）を個々に発現する、１スライド当たりの固定ＨＥＫ２９３細胞に対する結合についてスクリーニングした。すべてのトランスフェクション効率が、最小閾値を超えていた。抗体結合は、ＡＦ６４７蛍光二次抗ヒトＩｇＧ１抗体を使用して検出した。プライマリーヒット（デュプリケートスポット）は、ＩｍａｇｅＱｕａｎｔ上で蛍光（ＡＦ６４７およびＺｓＧｒｅｅｎ１）を解析することにより特定した。確認／特異性スクリーニング：ＺｓＧｒｅｅｎ１のみをコードする発現ベクター、またはＺｓＧｒｅｅｎ１と、ＣＤ２０、ＰＤ１、ＢＴＮ２Ａ１またはＬＳＡＭＰとを、ヒトＨＥＫ２９３細胞にトランスフェクトした。各生存形質移入体を、被験抗体および陽性対照抗体リツキシマブまたは一次抗体なしのそれぞれを２μｇ／ｍｌと共にインキュベートした。細胞

を洗浄し、細胞マイクロアレイスクリーニングで用いられるのと同じＡＦ６４７抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ検出抗体と共にインキュベートした。細胞を再び洗浄し、Ａｃｃｕｒｉフローサイトメーター（ＢＤ社）を用いてフローサイトメトリーで解析した。７ＡＡＤのＬＩＶＥ／ＤＥＡＤ染色を用いて、死細胞を除外して、ＺｓＧｒｅｅｎ１－陽性細胞（すなわち、トランスフェクト細胞）を解析のために選択した。

【０１５７】

結果および考察

好ましいヒト生殖細胞系列ｖ－遺伝子へのＣＤＲ移植

アゴニストマウス抗ＰＤ１　ＩｇＧ　Ｍｕ３１７のＣＤＲ（国際公開第２０１５／０３５６０６Ａ１号および表２）を、ＣＤＲ移植法を使用して、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリンのｖ－ドメインフレームワーク配列スキャホールドに最初に導入した。最適な薬剤様性能を有する最終リード治療用ＩｇＧ化合物に向けて、遺伝子操作の努力を傾けるために、親抗体のＣＤＲを、「好ましい」生殖細胞系列スキャホールドのＩＧＨＶ３－７およびＩＧＫＶ４－１に移植することを選択した。それらスキャホールドは、良好な溶解性および薬剤開発クオリティを有することが知られており、発現されたヒト抗体レパートリーにおいて高頻度に使用されている。

【０１５８】

これらスキャホールドおよび移植されたＣＤＲの定義は、表２に概要を掲載した。ｈｕ３１７抗ＰＤ１抗体の重鎖配列と軽鎖配列とについても表２に示す。このＣＤＲ移植のプロセスは周知であるが、ヒトｖ－ドメイン配列の所与のセットが非ヒトＣＤＲ移植にとって適切なアクセプターフレームワークとして機能するかどうかを予測するのは未だ困難である。不適切なフレームワークの使用は、標的結合機能の消失、タンパク質安定性の問題、さらには最終ＩｇＧの発現の低下につながり得る。そこでＣＤＲ突然変異誘導の鋳型としてＩＧＨＶ３－７／ＩＧＫＶ４－１移植が採用され、改善クローンの選択が行われた。

【０１５９】

ライブラリー作製およびスクリーニング

ＣＤＲが移植されたＩＧＨＶ３－７／ＩＧＫＶ４－１のｖ－ドメイン配列を、Ｆａｂファージディスプレイ形式に組み込み、突然変異誘導ライブラリーカセットは、オリゴ合成およびアセンブリにより作製した。２つの別個のＦａｂライブラリーが最初に構築されたことを意味しており、それぞれ、重鎖または軽鎖のｖ－ドメイン配列のいずれかにおいて、同系の対形成移植ｖ－ドメインと組み合わされて変異多様性をサンプリングした。ＶＨライブラリーとＶＬライブラリーの両方を別個にファージディスプレイベクター内にライゲートし、エレクトロポレーション法を介して大腸菌に形質転換して、それぞれ３．１５×１０^{9}および２．２７×１０^{9}個の独立したクローンを生成した。ライブラリーの構造品質は、１ライブラリー当たり９６個のクローンを配列解析することにより検証された。この配列解析データにより、マウスまたはヒトいずれかの生殖細胞系列の各相違位置の残基をコードする位置が、効率的におよそ５０％の頻度でサンプリングされて、その位置は、意図するアミノ酸のくだんの位置でサンプリングされた非バイナリーのアミノ酸含量とともにサンプリングしたことが示された。ライブラリーは、ヘルパーファージＭ１３を使用してレスキューされ、選択はビオチン化されたヒトおよびカニクイザルのＰＤ１－Ｆｃタンパク質に対して実施された。選択の初回ラウンド後、変異したＶＨドメインおよびＶＬドメインの２つのプールを第二のライブラリー内に再度組み込み、さらに３ラウンドの標準的な選択を、２回の「ハンマーーハグ」ラウンドを加えて実施した。

【０１６０】

選択後スクリーニング（図１Ａ、１Ｂ）およびＤＮＡシーケンシングにより、ＥＬＩＳＡにおいてヒトおよびカニクイザルＰＤ１に強い結合と、ＡｌｐｈａｓｃｒｅｅｎアッセイにおいてヒトおよびカニクイザルＰＤ１へのＭｕ３１７　ＩｇＧ１の結合の＞５０％の阻害とを示した、７１２個のＦａｂクローンの存在が明らかになった。これら７１２個のクローンで、すべてのＣＤＲ中における生殖細胞系列化変異が観察された（表３）。リードクローンは、ヒトおよびカニクイザルのＰＤ１－Ｆｃの両方への結合に対するＥＬＩＳ

Ａシグナルと比較したＣＤＲ生殖細胞系列化のレベルに基づき格付けされた。次いでこの格付けの上位７個のクローンのｖ－ドメインをＩｇＧ発現ベクターにサブクローニングし、以下のさらなる検証を行った（表４）。

【０１６１】

生殖細胞系列化変異は、ライブラリー選択から直接誘導されたリードクローンのすべてのＣＤＲにおいて観察されたが、配列解析を行うことで、ヒト化が最大となるようクローンをさらに設計することが可能となる可能性がある。ヒトおよびカニクイザルのタンパク質に対する結合シグナルを有する７１２個の配列－固有ヒットを使用して、この機能的に特徴解析された集団のＣＤＲにおけるマウスアミノ酸の保持頻度を解析した。位置的なアミノ酸保持頻度は、V_HドメインおよびV_Lドメインでの百分率として表されている（図２Ａ、２Ｂ）。ＲＦ＜７５％を有するマウス残基は、一連のコンビナトリアルデザインにおいて、標的－結合パラトープに必須ではない可能性がある位置とみなされ、生殖細胞系列化に対し開かれている可能性がある（表４）。V_Hドメイン（ＣＤＲ－Ｈ３を除く）において、ＣＤＲ－Ｈ１およびＨ２中の１５個のマウス残基のうちの５個のみが、７５％を超える保持頻度を呈した（図２Ｂ）。V_Lドメインにおいて、Ｍｕ３１７配列由来の１２個のマウスＣＤＲ残基のうち６個のみが、＞７５％の頻度で保持されていた（図２Ａ）。この解析は、ＬＣＤＲ１およびＬＣＤＲ３配列が、ＩＧＫＶ４－１に対して生殖系列同一性に近接させる可能性があることを強く示唆した。

【０１６２】

ＲＦ＞７５％のそれらマウス残基の組合せを含有するデザインには、「ＭＨ」という接頭辞（ＭＨ＝最大限にヒト化（Ｍａｘｉｍａｌｌｙ　Ｈｕｍａｎｉｚｅｄ））をつけた。トータルで、以下の１２個の初回デザインV_HドメインおよびV_Lドメインの組合せが生成された：ＭＨ１－ＭＨ１２（表４）。ＭＨクローンは、遺伝子合成により生成され、（上述の７個のライブラリー由来クローン、ならびに陽性対照のＭｕ３１７およびｈｕ３１７とともに）ヒト発現ベクターにクローニングされ、ＩｇＧ１ヌル形式で作製された。すべてのＩｇＧが、哺乳動物細胞の一過性トランスフェクションから容易に発現され、精製された。

【０１６３】

リードＩｇＧの特異性および有効性の特徴解析

次いで上述の精製ＩｇＧを、直接力価測定ＥＬＩＳＡ形式において、ヒトおよびカニクイザルのＰＤ１－Ｆｃへの結合に関して試験した。この解析により、全てのライブラリー由来クローンと、デザインクローンの選択サブセット（ＭＨ４、ＭＨ８、ＭＨ１２）とが、Ｍｕ３１７と類似したまたはＭｕ３１７よりも改善した、ヒトおよびカニクイザルのＰＤ１結合プロファイルを有することを示した（図３Ａ、３Ｂ）。デザインクローンの大部分（ＭＨ１、ＭＨ２、ＭＨ３、ＭＨ５、ＭＨ６、ＭＨ７、ＭＨ９、ＭＨ１９、ＭＨ１１）が、一方または両方のＰＤ１オルソログへの結合の減少を示して、これらクローンに存在する変異は、組み合わせて用いた場合に結合が崩壊することを示した。この知見は、図２Ａおよび２Ｂに概要を示した変異マップを所有していたとしても、どの変異の組合せが最適な結果につながるかということを正確に予測することはできないということを強調した。

【０１６４】

ビオチン化単量体型ヒトＰＤ１に対するｍｕ３１７　ＩｇＧ結合との、ＰＤ１結合アフィニティおよびエピトープ競合に関するデザインＩｇＧの試験が可能であるＡｌｐｈａｓｃｒｅｅｎアッセイを確立した。このアッセイにおいて、３つのクローン全てがＭｕ３１７との完全なエピトープ競合を示し、クローンＭＨ８がｍｕ３１７（ｍｕ３１７－０．３７ｎＭ、ＭＨ８－０．３９ｎＭ、ＭＨ１２　０．６２４ｎＭ、ＭＨ４、０．６３０ｎＭ）に最も近いＩＣ５０値を示した。

【０１６５】

細胞膜でのリードＩｇＧ結合特異性のフローサイトメトリー解析

ＰＤ１に対する抗体を、フローサイトメトリーを介して、細胞表面での濃度依存性結合

に関して分析した。最初の解析は、ヒトまたはカニクイザルＰＤ１で安定的にトランスフェクトしたＣＨＯ細胞で行った。これら解析では、リードライブラリー由来のクローンおよびデザインクローンが、ｈｕ３１７と類似のまたはｈｕ３１７よりも改善された有効性で、膜に存在するヒトまたはカニクイザルＰＤ１（図４Ａ、４Ｂ）に対する濃度依存性結合を呈することが示された。非トランスフェクトＣＨＯ細胞においては、最も高い濃度であっても、いずれのクローンでも結合シグナルは観察されなかった。

【０１６６】

ＰＤ１－ＰＤＬ１遮断アッセイにおけるリードＩｇＧ解析

細胞系ＰＤ１／ＰＤ－Ｌ１遮断レポーターアッセイでは、全ての被験クローンが、ＰＤ１の濃度依存性アンタゴニズムを呈した。リードクローンＭＨ４、ＭＨ８、ＭＨ１２、０９Ｃ０６、１７Ａ１２および２０Ｃ０７は、ｆｏｌｄ　ｉｎｄｕｃｔｉｏｎ（誘導倍率）曲線と、ｍｕ３１７に高度に類似した最大シグナル値とを示した（図５）。次いで最大限にヒト化されたクローンＭＨ４、ＭＨ８およびＭＨ１２（それぞれ図６Ａ、６Ｂ、６Ｃ）を、このアッセイで再度検証し、ｍｕ３１７およびｈｕ３１７　ＩｇＧ１の両方と並行して実施した。これら解析により、これら３つのクローンが、重複する濃度依存性のｆｏｌｄ　ｉｎｄｕｃｔｉｏｎ（誘導倍率）曲線をもってｍｕ３１７およびｈｕ３１７の両方の有効性を完全に維持したことを示した。

【０１６７】

抗体ｖ－ドメインＴ細胞エピトープ解析

インシリコ技術（Ａｂｚｅｎａ，Ｌｔｄ．社）は、治療用抗体および治療用タンパク質中のＴ細胞エピトープの位置の特定に基づいており、Ｈｕ３１７およびリード抗体のｖ－ドメインの両方の免疫原性の評価に使用した。ｖ－ドメイン配列の解析は、重複する９ｍｅｒペプチド（各々が最後のペプチドと８残基重複する）を用いて実施され、３４種のＭＨＣクラスＩＩアロタイプの各々に対して試験した。各９ｍｅｒを、ＭＨＣクラスＩＩ分子との潜在的な「適合」および相互作用に基づいてスコア化した。ソフトウェアにより算出されるペプチドスコアは、０～１の間である。高い平均結合スコアを出したペプチド（ｉＴｏｐｅ（商標）スコアリング機能において＞０．５５）が強調された。ＭＨＣクラスＩＩ結合ペプチドの＞５０％（すなわち３４種のアレルのうちの１７種）が高い結合アフィニティ（スコア＞０．６）を有する場合、そうしたペプチドは、「高アフィニティ」ＭＨＣクラスＩＩ結合ペプチドとして規定され、ＣＤ４＋Ｔ細胞エピトープを含有するリスクが高いとみなされる。低アフィニティＭＨＣクラスＩＩ結合ペプチドは、多くのアレル（＞５０％）に、＞０．５５の結合スコア（しかし大部分は＞０．６ではない）で結合する。配列のさらなる解析は、ＴＣＥＤ（商標）を使用して実施された。この配列を使用して、ＢＬＡＳＴサーチによりＴＣＥＤ（商標）をデータ検索し、過去にＡｂｚｅｎａ　Ｌｔｄ．社で実施されたインビトロＴ細胞エピトープマッピング研究でＴ細胞反応を刺激した非関連タンパク質／抗体由来のペプチド（Ｔ細胞エピトープ）間で任意の高い配列相同性を特定した。

【０１６８】

ペプチドを、以下の４つのクラスに分類した：高アフィニティ外来物（「ＨＡＦ」－高免疫原性リスク）、低アフィニティ外来物（「ＬＡＦ」－低免疫原性リスク）、ＴＣＥＤ＋（過去にＴＣＥＤデータベースにおいて特定されたエピトープ）、および生殖細胞系列エピトープ（「ＧＥ」－高いＭＨＣクラスＩＩ結合アフィニティを有するヒト生殖細胞系列ペプチド配列）。生殖細胞系列エピトープの９ｍｅｒペプチドは、広範な生殖細胞系列ペプチドを用いた過去の研究により立証されたように、Ｔ細胞寛容によって免疫原性である可能性は低い。重要なことは、そうした生殖細胞系列のｖ－ドメインエピトープ（ヒト抗体定常領域中の類似配列によりさらに補助される）は、抗原提示細胞の細胞膜でのＭＨＣクラスＩＩ占有に関しても競合するため、Ｔ細胞刺激に必要とされる「活性化閾値」を達成するのに充分な外来性ペプチド提示のリスクを低下させることである。ゆえにＧＥ含量が高いことは、抗体治療剤の臨床開発において有益な性質である。

【０１６９】

図７および表５に示されるように、重要なリードｖ－ドメインは、Ｈｕ３１７と比較してペプチドエピトープ含量において有意に有益な変化を示した。本明細書において採用したｖ－ドメインの操作プロセスは、Ｈｕ３１７のＣＤＲ中に含有される相当数のマウス残基（表２）をヒト化しつつ、抗ＰＤ１の有効性を維持した抗体の選択に成功した。そのため、Ｈｕ３１７のｖ－ドメインにある複数のＨＡＦおよびＬＡＦのエピトープ（図７Ａ）は、ライブラリー由来リードおよびデザインリードにおいて存在しなかった（表５）。予期せずに、ＧＥエピトープ含量が、特にリードクローン（図７Ｂ～Ｈ）のＶＨ領域内で有意に増加しており（全てのリードにおいて５から≧１４）、またＴＣＥＤ＋エピトープは、全てのリードにおいて減少した（表５）。ＶＨドメインにおける免疫原性リスクの顕著な改善は、特にＩＧＨＶ３－７生殖細胞系列に合わせるようにＨｕ３１７のＣＤＲを適合することによって介在されたが、これは本発明者らが、そのフレームワーク内に、ＩＧＨＶ４－４　ＶＨを移植したＨｕ３１７フレームワーク内に存在したよりも多くのＧＥエピトープを含有していることが、ここで（はじめて）示すことである。例えば、ＨＣＤＲ２配列の最後の７残基をＩＧＨＶ３－７（全てのリードクローン内のＹＶＤＳＶＫＧ（配列番号８０）、表４）に適合するように生殖細胞系列化することにより、ＧＥが、Ｃ末端のＨＣＤＲ２とＮ末端のフレームワークの３領域（ＶＫＧＲＦＴＩＳＲ（配列番号８１））とにわたるものとなるように保持することが可能になる。さらに、ＨＣＤＲ１配列の「ＧＦＳＬＴＳＹＧＶＨ」（配列番号８２）から配列「ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＨ」（配列番号５７）への変異（クローン０９Ｃ０６、１７Ａ１２、１７Ｄ０８、１７Ｇ０８および１５Ｄ０７に存在する）が、ＨＣＤＲ１とＨｕ３１７のフレームワーク２領域とにわたるＬＡＦ配列「ＬＴＳＹＧＶＨＷＩ」（配列番号８３）を除去するだけでなく、このＣＤＲの完全な生殖細胞系列のヒトｖ－遺伝子ＩＧＨＶ３－３３およびＩＧＨＶ３－３０－５に対する同一性も与える。ＨＣＤＲ１配列「ＧＦＴＦＳＳＹＧＭＳ」（配列番号３３）（クローン２０Ｃ０７および全てのデザインクローンＭＨ１－ＭＨ１８に存在、表４）がまた、ＬＡＦ配列「ＬＴＳＹＧＶＨＷＩ」（配列番号８３）を除去する。両ヒト化ＣＤＲ１配列が、Ｈｕ３１７またはライブラリー由来クローン１１Ｃ０８のいずれにも存在しないＧＥペプチド配列「ＹＧＭ（Ｈ／Ｓ）ＷＶＲＱＡ」（配列番号８４）をコードしたが、これは９位におけるそれらのＨＣＤＲ１におけるバリン残基（例えばＧＦＳＬＴＳＹＧＶＨ（配列番号８２））の存在に起因する。

【０１７０】

重要なことは、複数の外来性エピトープも、リードクローンの他のＣＤＲ中に存在する生殖細胞系列化変異によって除去された。例えば、ＨＣＤＲ３とＨｕ３１７のフレームワーク４とにわたる、ＴＣＥＤ＋とＬＡＦのペプチド「ＹＷＹＩＤＶＷＧＱ」（配列番号８５）が、６位のＶからＲへの変異により、大部分のリードクローンにおいて除去された（表４）。同様に、クローンＭＨ１－ＭＨ１８および０９Ｃ０６において、ＨＡＦペプチド「ＬＥＷＩＧＶＩＹＡ」（配列番号８６）およびＬＡＦペプチド「ＩＧＶＩＹＡＤＧＳ」（配列番号８７）であっていずれもＨｕ３１７に存在するこれらペプチドが、残基「ＩＧＶ」から「ＶＡＮ」への変異によって同時に除去された（表４、表５）。ＨＡＦペプチド「ＬＥＷＶＧＶＩＷＱ」（配列番号８８）は、Ｈｕ３１７からの「ＬＥＷＩＧＶＩＹＡ」（配列番号８６）ＨＡＦと重複する、クローン１１Ｃ０８のＶＨドメインに存在したが、一方でＬＡＦペプチドは、「ＩＧＶＩＹＡＤＧＳ」（配列番号８７）は除去された。クローン１７Ａ１２では、Ｈｕ３１７よりの「ＬＥＷＩＧＶＩＹＡ」（配列番号８６）ＨＡＦは、ＬＡＦペプチド「ＬＥＷＬＡＮＩＷＱ」への変異によって一部除去された。

【０１７１】

Ｈｕ３１７のＶＬ領域および全てのリードにおいて、上記で概説した、ＬＣＤＲ２の３位のＦの変異（ＹＡＦＨＲＦＴ（配列番号３１））によってＬＣＤＲ２における酸化リスクを除去する変異を導入したにもかかわらず、外来性エピトープに対するＧＥの全体的なバランスは増加しなかった（図７、表５）。総合して、上記に概説した免疫原性についての知見は、ＶＨドメイン内の複数のＣＤＲ位置の広範囲のいまだ予測できない生殖細胞系列化（特に、ＩＧＨＶ３－７フレームワーク内への）を通じて、リード抗体がいくつかの

有意な高リスクなヒトＴ細胞エピトープペプチド配列を達成し、またいくつかの免疫原性を減少させる可能性のあるＧＥを獲得し、これにより外来性エピトープに対するＧＥの割合を大きく向上させるということを示した。

【０１７２】

ＭＬＲアッセイにおけるリードＩｇＧ有効性

この試験では、培養液の上清中のＩＦＮ－γを測定することによって、ヒト同種異系ＭＬＲにおけるリードＰＤ－１標的抗体の有効性を特徴決定することを目指した。コントロール条件下で（図８Ａ）、サイトカイン濃度より、ニボルマブアナログが、アイソタイプコントロールヒトＩｇＧ４と比較してＩＦＮ－γ濃度を有意に増大させることが示された。アイソタイプは、細胞のみと比較して何も差異を示さなかったが、単一細胞条件では、測定可能でないサイトカインとほとんど差がなかった。

【０１７３】

全てのコントロールが、予測されたシグナルを示したため、アッセイにおいてクローン０９Ｃ０６、ＭＨ４、ＭＨ８およびＭＨ１２の活性について検証した。４つの被験抗体を、３つの濃度（０．１、１および１０μｇ／ｍＬ）で用いて、適切なアイソタイプコントロール、ヒトＩｇＧ１と比較した。全ての４つの被験抗体で、細胞培養液上清内でのＩＦＮ－γ産生が、用量依存的に、有意に増加した（図８Ｂ）。このデータは、与えられた全ての４つの被験抗体が、ｈＩｇＧ１と比較したときに、同種異系ＭＬＲにおいてＩＦＮ－γ産生を促進することが可能であることを示している。最後に、クローンＨｕ３１７、ＭＨ４およびＭＨ８を、幅広い濃度範囲にわたってアッセイで試験した（図８Ｃ）。この解析により、クローンＭＨ４およびＭＨ８の両方が、関連するヒト生体外有効性アッセイにおいて、Ｈｕ３１７と完全に重複する濃度依存性活性を保持することが示された。

【０１７４】

電荷バリアント解析

電荷の不均一性解析は、産物の品質および均一性についての重要な情報を提供するということから、モノクローナル抗体の特徴解析で広く用いられる。不均一性は、例えばグリコシル化、リジン切断、酸化または脱アミド化等である酵素的な翻訳後修飾により生じる可能性がある。ＩｇＧにおける不均一性は、製造上のリスクであり、またバイオプロセスプロトコルにおいて複雑さを増大させる可能性がある。

【０１７５】

タンパク質電荷バリアントアッセイは、優勢な産物のピークと比較して塩基性および酸性のタンパク質バリアントの特徴解析を可能にする。このマイクロ流体チップ技術は、蛍光標識後のタンパク質電荷バリアントを分離する。０９Ｃ０６、ＭＨ４、ＭＨ８　ＭＨ１２およびｈｕ３１７のＩｇＧの電荷バリアントプロファイルを、図９に示す。０９Ｃ０６、ＭＨ４、ＭＨ８およびＭＨ１２の全てのｍＡｂが、高度に均一なプロファイルを示し、主要なアイソフォームは、タンパク質全体に対して７７．４～８２．８％を含有している（表６）。しかしながら対照的に、Ｈｕ３１７では、予期せずに、４つの別個のピークをもつより複雑なプロファイルを示し、塩基性アイソフォームはより高い割合（２３．１％）であり、また主要なアイソフォームは全体に対して＜６９％を示した。クローン０９Ｃ０６、ＭＨ４、ＭＨ８およびＭＨ１２の電荷均一性の、Ｈｕ３１７に対するこれら有意な改善は、ＣＤＲ中のあらゆる可能性のあるｏ－結合グリコシル化、脱アミド化または異性化部位は維持され、かつｎ－結合グリコシル化部位は何も導入されていないことから、リードＩｇＧのＣＤＲにおける可能性のある翻訳後修飾部位の除去によって即座に説明されるものではない（表２および４）。このように改善された均一性は、熱安定性の改善、または酸化に対する抵抗性の改善により引き起こされている可能性もあるため、そうした特性を調べた。

【０１７６】

ＤＳＣを用いた熱安定性評価

タンパク質のＤＳＣプロファイルは、その熱安定性を介した、その全体的な構造安定性についての情報を与えるが、構造的な改変を評価するための構造的な「フィンガープリン

ト」を表すことも可能である。インタクトな抗体のサーモグラムは、２または３のピークを呈し得るが、最大のピークはＦａｂフラグメントからの寄与を含有している。通常、最初の遷移は、ＣＨ２ドメインの変性（ｕｎｆｏｌｄｉｎｇ）をカバーしており、一方で最後の遷移はＣＨ３ドメインの変性を含むことがある。Ｆａｂの変性は、ＣＨ２およびＣＨ３ドメインの変性と比較して別の温度で発生し得るが、Ｆａｂフラグメントの変性がＣＨ２またはＣＨ３ドメインのいずれの変性を「埋め込み」、ピークの重なりを招く可能性もある。定常ドメインは、同一のサブクラスの抗体に対して事実上同一であるため、ＣＨ２およびＣＨ３ドメインは、匹敵するＴｍを有するはずであるが、ＦａｂのＴｍは、抗体ごとに変動することとなる。

【０１７７】

試験された５つのＩｇＧすべて（０９Ｃ０６、ＭＨ４、ＭＨ８、ＭＨ１２およびＨｕ３１７）が、ＤＳＣ解析に完全に匹敵し、そして良好な解析データ（図１０）を与え、匹敵するサンプル均一性および協同性を示した。図１０Ａにおいて（０９Ｃ０６　ＩｇＧ）、最初の遷移は、ＣＨ２ドメインの変性を表し、第二の遷移はＦａｂフラグメントの変性を表し、そして第三の遷移はＣＨ３ドメインの変性を表す。クローンＭＨ４、ＭＨ８およびＭＨ１２に関しては、主要なＦａｂ遷移はより低く、ＣＨ２ドメインと重なっている（図１０Ｂ～Ｄ）。クローンＨｕ３１７に関しては、Ｆａｂドメインの遷移は、実際により高いが、ＣＨ３と重なっている（図１０Ｅ）。全体として、Ｆａｂ変性のＴｍ値は、リードクローン０９Ｃ０６、ＭＨ４、ＭＨ８およびＭＨ１２のｖ－ドメインが、比較的安定したままで、Ｈｕ３１７のそれと比較して全体的な安定性が実際に低いということを示した（表７）。

【０１７８】

強制酸化解析

例えばトリプトファンおよびメチオニン等の露出アミノ酸残基の酸化は、ｍＡｂにとってのよくある分解経路であり、それらの生物学的活性および不均一性に影響を及ぼす可能性があることにより、それらの構造的完全性を変えるものである。この実験において、０．５％のＨ２Ｏ２を用いて、２時間、室温での強制酸化を、０９Ｃ０６、ＭＨ４、ＭＨ８、ＭＨ１２およびＨｕ３１７であるＩｇＧに行った。酸化は、酸化型の極性を上昇させることかまたはコンホメーション変化を通じてかのいずれかでの、抗体全体の疎水性を変化させる場合があるため、強制酸化により誘導された潜在的な変化を、分子ふるい（ＳＥＣ）、逆相（ＲＰ）および疎水性相互作用（ＨＩＣ）のクロマトグラフィー法により解析した。

ＳＥＣ解析－強制酸化により誘導される、ＳＥＣプロファイルにおける有意な変化は、５つのＩｇＧのいずれにおいても観察されず、より高分子量のアイソフォームでは、タンパク質全体のうちの０．６％未満のままであった（表８）。

ＲＰ解析－Ｈ２Ｏ２処理により、インタクトなｍＡｂ（非還元および還元）の保持時間の有意な変化は観察されなかったが、露出アミノ酸の最小限の酸化が示唆された（表８）。

ＨＩＣ解析－Ｈ２Ｏ２での処理により、５つ全ての被験体に関して、ＨＩＣにおける保持時間がわずかな分（０．４～０．６分）での減少のみが誘導されたが、露出アミノ酸の限定的な酸化が示唆された（表８）。

【０１７９】

まとめると、これらデータにより、リードＩｇＧの０９Ｃ０６、ＭＨ４、ＭＨ８およびＭＨ１２は、Ｈｕ３１７と比較して、安定性の改善または可能性のある酸化分解の軽減を示さないこと、および安定性変化も翻訳後のＣＤＲ改変モチーフの変化もいずれも、観察される電荷均一性の改善の原因とならないことが確認された。

【０１８０】

抗体結合特異性解析

Ｈｕ３１７およびクローンＭＨ４、ＭＨ８およびＭＨ１２のプロテオーム選択性を調べるために、５５２８個の固有のヒト細胞膜受容体およびテザー分泌型タンパク質を発現する細胞の高密度アレイを用いることに基づくインビトロ技術（Ｒｅｔｒｏｇｅｎｉｘ，Ｌ

ｔｄ．社）を用いて、精製したＩｇＧ形式での非特異的（ｏｆｆ－ｔａｒｇｅｔ）な結合特異性をスクリーニングした。この受容体アレイ結合スクリーニングにより、Ｈｕ３１７が、その他のタンパク質への測定可能な結合をせずに、独占的に膜発現ＰＤ１への強い結合を示すことが特定された（表１２）。対照的に、クローンＭＨ４、ＭＨ８およびＭＨ１２はまた、ＰＤ１に関しては最も強いシグナルを示した状態で、非常に限定的なシグナルを示したが、以下の可能性のある新規の２つの結合特異性も有していた：ＢＮＴ２Ａ１（寄託番号ＮＭ＿００７０４９）およびＬＳＡＭＰ（ＢＣ０３３８０３）。ＭＨ１２は、ＢＮＴ２Ａ１に対する任意の結合シグナルを見せる唯一のクローンであった。直交性の、高感度アッセイによりこの知見を調べるために、ＣＤ２０、ＰＤ１、ＢＴＮ２Ａ１、ＬＳＡＭＰおよびＺＳグリーンのみ（陰性対照）をコードするプラスミドを用いて、ヒト細胞株ＨＥＫ２９３の一過性トランスフェクションを実行した。次いで、トランスフェクト細胞は、Ｈｕ３１７、ＭＨ４、ＭＨ８、ＭＨ１２およびリツキシマブのＩｇＧを用いて染色した。ＰＤ１トランスフェクト細胞の２μｇ／ｍｌでの染色において、リツキシマブおよび二次のみのコントロール以外の全ての被験抗体が、ＰＤ１トランスフェクト細胞で予測された強力で特異的な染色を示したが、ＺＳグリーントランスフェクト細胞では示さなかった（図１１）。Ｈｕ３１７　ＩｇＧは、ＰＤ１トランスフェクト細胞以外のいずれの細胞に対しても結合を示さなかったが、このＩｇＧは完全にＰＤ１選択的であるというチップ解析の知見が確認された。リツキシマブ陽性対照では、ＣＤ２０トランスフェクト細胞の強力で特異的な染色が示され、また陰性対照（二次標識抗体のみ）では、いずれの細胞に対しても結合を示さなかった（図１１）。対照的に、クローンＭＨ８およびＭＨ１２のみは、ＰＤ１およびＬＳＡＭＰの両方に対して明確な結合シグナルを示したが、ＢＴＮ２Ａ１に対しての結合は示さず、これはヒストグラム解析（図１１）においても、ＺＳグリーンのみでトランスフェクトした細胞に対する平均経口測定の中央値のｆｏｌｄ－ｃｈａｎｇｅ（変化倍率）（表１３）においてもいずれでもであった。クローンＭＨ８およびＭＨ１２に関するヒト受容体プロテオームにおける、この予期せぬ、新規に得られた、単一の新規タンパク質に対する反応性は、治療に有益である可能性があるものであり得、これはＬＳＡＭＰが、細胞表面受容体であってその発現が例えば急性骨髄性白血病等の特定の腫瘍の種類において発現上昇することが示されているような細胞表面受容体であり（Ｃｏｃｃａｒｏ，Ｎ．ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　２０１５，２０８（１０）：５１７－５２２）、そのためにＰＤ１に加えて共に標的とする際に重要なものであるからである。

【０１８１】

本発明は好ましい実施形態または例示的実施形態を参照して記載されているが、当業者であれば、本発明の主旨および範囲を逸脱することなくそれらに対する様々な改変および変動を行うことが可能であること、およびそうした改変は本明細書において予期されることが明白であると認識するであろう。本明細書に開示される、および添付の特許請求の範囲に記載される特定の実施形態に関し、限定は意図されておらず、何らの示唆もないものとする。

【０１８２】

限定されないが特許、特許出願、記事、書誌、および論文を含む本明細書に引用されるすべての書面、または書面の一部は、その全体ですべての目的に対し、参照により明示的に本明細書に組み込まれる。組み込まれた書面、または書面の一部の１つまたは複数が、本出願の用語定義と矛盾する用語を定義する場合、本出願にある定義が優先される。しかしながら、本明細書に引用されるすべての参照文献、記事、公表文献、特許、公表特許、および特許出願に関する言及は、それらが正当な先行技術を構成する、または世界の任意の国における普遍的で一般的な知識の一部を形成するという承認、または任意の形態の示唆として見なされず、または見なされるべきではない。

【表１】

表１． 本明細書に規定されるマウス抗ＰＤ１　ＣＤＲのアミノ酸配列（「統合」スキーム）の代替的定義との比較。

スキーム	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
統合	GFSLTSYGVH (配列番号 89)	LGVIWAGGSTNYNSALMS (配列番号 94)	AYGNYWYIDV (配列番号 101)	KASQSVSNDVA (配列番号 105)	YAFHRFT (配列番号 109)	HQAYSSPYT (配列番号 111)
Kabat	SYGVH (配列番号 90)	VIWAGGSTNYNSALMS (配列番号 95)	AYGNYWYIDV (配列番号 101)	KASQSVSNDVA (配列番号 105)	YAFHRFT (配列番号 109)	HQAYSSPYT (配列番号 111)
Chotia	GFSLTSY (配列番号 91)	WAGGST (配列番号 96)	AYGNYWYIDV (配列番号 101)	KASQSVSNDVA (配列番号 105)	YAFHRFT (配列番号 109)	HQAYSSPYT (配列番号 111)
IMGT	GFSLTSYG (配列番号 92)	IWAGGSTN (配列番号 97)	ARAYGNYWYIDV (配列番号 102)	QSVSND (配列番号 106)	YAF	HQAYSSPYT (配列番号 111)
AHo	GFSLTSYGVH (配列番号 89)	IWAGGSTNYNSALMS (配列番号 98)	AYGNYWYID (配列番号 103)	ASQSVSND (配列番号 107)	YAFHRFT (配列番号 109)	AYSSPY (配列番号 112)
AbM	GFSLTSYGVH (配列番号 89)	VIWAGGSTNY (配列番号 99)	AYGNYWYIDV (配列番号 101)	KASQSVSNDVA (配列番号 105)	YAFHRFT (配列番号 109)	HQAYSSPYT (配列番号 111)
Contact	TSYGVH (配列番号 93)	LGVIWAGGSTNY (配列番号 100)	ARAYGNYWYID (配列番号 104)	SNDVAWY (配列番号 108)	LLIYYAFHRF (配列番号 110)	HQAYSSPY (配列番号 113)

【表２】

表２． MU317マウス抗PD1 v-ドメイン（mVH/mVL）およびヒト生殖細胞系列CDR移植（VH1/VL1）のアミノ酸配列

Vドメイン	ヒト生殖細胞系列[1]	アミノ酸配列[2]
Mu317 VH	n/a	QVQLKESGPGLVAPSKNLSITCTVS**GFSLTSYGVH**WIRQPPGKGLEW**LGVIWAGGSTNYNSALMS**RLSISKDNSRSQVFLRMNSLQTDDTAMYYCAR**AYGNYWYIDV**WGAGTTVTVSS （配列番号114）
Hu317 VH	IGHV4-4	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**GFSLTSYGVH**WIRQPPGKGLEW**IGVIYADGSTNYNPSLKS**RVTISKDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR**AYGNYWYIDV**WGQGTTVTVSS （配列番号115）
VH移植	IGHV3-7[3]	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFSLTSYGVH**WVRQAPGKGLEW**LGVIWAGGSTNYNDSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**AYGNYWYIDV**WGQGTTVTVSS （配列番号116）
Mu317 VL	n/a	DIVMTQTPKFLLVSAGDRVTITC**KASQSVSNDVA**WYQQKPGQSPKLLIN**YAFHRFT**GVPDRFTGSGYGTDFIFTISTVQAEDLAVYFC**HQAYSSPYT**FGGGTKLEMK （配列番号117）
Hu317 VL	IGKV4-1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSESVSNDVA**WYQQKPGQPPKLLIN**YAFHRFT**GVPDRFSGSGYGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**HQAYSSPYT**FGQGTKLEIK （配列番号118）
VL移植	IGKV4-1[3]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC**KSSQSVSNDVA**WYQQKPGQPPKLLIN**YAFHRFT**GVPDRFSGSGYGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC**HQAYSSPYT**FGQGTKLEIK （配列番号119）

[1]IMGTシステムに基づく、移植に使用されたヒト生殖細胞系列の定義。[2]CDR残基は、太字および下線を施して示されている。上述のように、本明細書で使用される「統合」CDR定義は、古典的なKabat定義と比較すると拡張された定義である。上述の各配列は、以下の順序でフレームワーク領域（FR）およびCDRを示している：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。[3]ライブラリー構成に用いた移植

【表３－１】

表３． ヒトおよびカニクイザルのPD1タンパク質への結合を示したFabクローンの固有CDR。

HCDR1	HCDR2	HCDR2 contd	HCDR2 contd	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
GFNFSSYGMH (配列番号120)	LANIKADGSEKYVDSVKG (配列番号147)	LGNIKQGGSENYNDSVKG (配列番号210)	VANIWQDGSTNYNDSVKG (配列番号233)	AFGNYWYIDV (配列番号337)	KSSESVGNDLA (配列番号397)	YAFHRES (配列番号400)	HQAYSNPYT (配列番号407)
GFSFSSYGMH (配列番号42)	LANIKADGSENYNDSVKG (配列番号148)	LGNIKQGGSTKYVDSVKG (配列番号211)	VANIWQGGSEKYNDSVKG (配列番号275)	AWGNYWYIDV (配列番号338)	KSSESVGNDVA (配列番号398)	YAFHRET (配列番号401)	HQAYSTPYT (配列番号46)
GFSFSSYGMS (配列番号121)	LANIKADGSTKYVDSVKG (配列番号149)	LGNIKQGGSTNYNDSVKG (配列番号212)	VANIWQGGSTKYNDSVKG (配列番号276)	AYGAYWYIDV (配列番号339)	KSSESVSNDLA (配列番号399)	YAFHRFA (配列番号402)	QQAYSSPYT (配列番号75)
GFSFSSYGVH (配列番号122)	LANIKADGSTNYVDSVKG (配列番号150)	LGNIWADGSEKYNDSVKG (配列番号213)	VAVIKADGSTNYNDSVKG (配列番号277)	AYGEYWYIDV (配列番号340)	KSSQSVGNDLA (配列番号77)	YAFHRFS (配列番号403)	QQAYSTPYT (配列番号52)
GFSFSSYGVS (配列番号123)	LANIKAGGSEKYNDSVKG (配列番号151)	LGNIWADGSEKYVDSVKG (配列番号214)	VAVIKQDGSENYVDSVKG (配列番号278)	AYGFYWYIDV (配列番号341)	KSSQSVGNDVA (配列番号74)	YAFPRFT (配列番号404)	QQSYSTPYT (配列番号408)
GFSFSSYWMH (配列番号124)	LANIKAGGSEKYVDSVKG (配列番号152)	LGNIWADGSENYNDSVKG (配列番号215)	VAVIKQDGSTKYNDSVKG (配列番号279)	AYGGYWYIDV (配列番号342)	KSSQSVSNDLA (配列番号51)	YAFTRFS (配列番号405)	
GFSFTSYGMH (配列番号59)	LANIKAGGSENYNDSVKG (配列番号153)	LGNIWADGSENYVDSVKG (配列番号216)	VAVIKQDGSTNYNDSVKG (配列番号280)	AYGHYWYIDV (配列番号343)	KSSQSVSNDVA (配列番号44)	YAFTRFT (配列番号406)	
GFSFTSYGMS (配列番号47)	LANIKQDGSEKYVDSVKG (配列番号154)	LGNIWADGSTKYNDSVKG (配列番号217)	VAVIKQDGSTNYVDSVKG (配列番号281)	AYGIYWYIDN (配列番号344)	KSSQSVTNDVA (配列番号36)	YASHRFS (配列番号79)	
GFSFTSYGVH (配列番号125)	LANIKQDGSENYVDSVKG (配列番号155)	LGNIWADGSTKYVDSVKG (配列番号218)	VAVIWADGSEKYVDSVKG (配列番号282)	AYGNVWYIDV (配列番号396)		YASHRFT (配列番号45)	
GFSFTSYGVS (配列番号126)	LANIKQDGSTKYNDSVKG (配列番号156)	LGNIWADGSTNYNDSVKG (配列番号219)	VAVIWADGSENYNDSVKG (配列番号283)	AYGNWWYIDV (配列番号345)		YAYHRFT (配列番号37)	
GFSFTSYWMH (配列番号127)	LANIKQDGSTKYVDSVKG (配列番号157)	LGNIWADGSTNYVDSVKG (配列番号220)	VAVIWADGSTKYNDSVKG (配列番号284)	AYGNYFYIDV (配列番号346)		YAYHRFS (配列番号78)	

【表３－２】

GFSLSSYGIS (配列番号128)	LANIWADGSEKYNDSVKG (配列番号158)	LGNIWAGGSENYVDSVKG (配列番号221)	VAVIWADGSTKYVDSVKG (配列番号285)	AYGNYFYIDW (配列番号347)			
GFSLSSYGMH (配列番号129)	LANIWADGSEKYVDSVKG (配列番号159)	LGNIWQDGSEKYNDSVKG (配列番号222)	VAVIWADGSTNYNDSVKG (配列番号286)	AYGNYHYIDV (配列番号348)			
GFSLSSYGMS (配列番号39)	LANIWADGSENYNDSVKG (配列番号160)	LGNIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号223)	VAVIWQDGSEKYNDSVKG (配列番号287)	AYGNYMYIDV (配列番号56)			
GFSLSSYGVH (配列番号130)	LANIWADGSENYVDSVKG (配列番号161)	LGNIWQDGSENYNDSVKG (配列番号224)	VAVIWQDGSENYNDSVKG (配列番号288)	AYGNYPYIDV (配列番号349)			
GFSLSSYGVS (配列番号131)	LANIWADGSTKYNDSVKG (配列番号162)	LGNIWQDGSENYVDSVKG (配列番号225)	VAVIWQDGSENYVDSVKG (配列番号289)	AYGNYQYIDV (配列番号350)			
GFSLSSYWMH (配列番号132)	LANIWADGSTKYVDSVKG (配列番号163)	LGNIWQDGSTKYNDSVKG (配列番号226)	VAVIWQDGSTKYNDSVKG (配列番号290)	AYGNYSYIDV (配列番号351)			
GFSLTSYWMH (配列番号133)	LANIWADGSTNYNDSVKG (配列番号164)	LGNIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号227)	VAVIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号291)	AYGNYVYIDV (配列番号352)			
GFTFSSYGMH (配列番号57)	LANIWADGSTNYVDSVKG (配列番号165)	LGNIWQDGSTNYNDSVKG (配列番号228)	VAVIWQDGSTNYNDSVKG (配列番号292)	AYGNYWYADV (配列番号353)			
GFTFSSYGMS (配列番号33)	LANIWAGGSTNYNDSVKG (配列番号166)	LGNIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号229)	VAVIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号40)	AYGNYWYGDV (配列番号354)			
GFTFSSYGVH (配列番号49)	LANIWQDGSEKYNDSVKG (配列番号167)	LGNIWQGGSTNYNDSVKG (配列番号230)	VAVIWQGGSTKYNDSVKG (配列番号293)	AYGNYWYIDA (配列番号355)			
GFTFSSYGVS (配列番号134)	LANIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号168)	LGVIKADGSENYNDSVKG (配列番号231)	VGNIKADGSENYNDSVKG (配列番号294)	AYGNYWYIDE (配列番号356)			
GFTFTSYGMH (配列番号135)	LANIWQDGSENYNDSVKG (配列番号169)	LGVIKADGSTKYNDSVKG (配列番号232)	VGNIKADGSTKYNDSVKG (配列番号295)	AYGNYWYIDF (配列番号357)			
GFTFTSYGMS (配列番号136)	LANIWQDGSENYVDSVKG (配列番号53)	LGVIKADGSTNYNDSVKG (配列番号234)	VGNIKADGSTNYNDSVKG (配列番号296)	AYGNYWYIDG (配列番号358)			

【表３－３】

GFTFTSYGVH (配列番号137)	LANIWQDGSTKYNDSVKG (配列番号170)	LGVIKQDGSENYNDSVKG (配列番号235)	VGNIKAGGSTNYVDSVKG (配列番号297)	AYGNYWYIDH (配列番号359)			
GFTFTSYGVS (配列番号138)	LANIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号171)	LGVIKQDGSTKYNDSVKG (配列番号236)	VGNIKQDGSENYNDSVKG (配列番号298)	AYGNYWYIDI (配列番号360)			
GFTLSSYGMH (配列番号54)	LANIWQDGSTNYNDSVKG (配列番号172)	LGVIKQDGSTKYVDSVKG (配列番号237)	VGNIKQDGSENYVDSVKG (配列番号299)	AYGNYWYIDK (配列番号361)			
GFTLSSYGMS (配列番号139)	LANIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号48)	LGVIKQDGSTNYNDSVKG (配列番号238)	VGNIKQDGSTKYNDSVKG (配列番号300)	AYGNYWYIDL (配列番号362)			
GFTLSSYGVH (配列番号140)	LANIWQGGSENYVDSVKG (配列番号173)	LGVIKQGGSENYNDSVKG (配列番号239)	VGNIKQDGSTNYNDSVKG (配列番号301)	AYGNYWYIDM (配列番号363)			
GFTLSSYGVS (配列番号141)	LAVIKADGSEKYNDSVKG (配列番号174)	LGVIWADGSEKYNDSVKG (配列番号240)	VGNIKQDGSTNYVDSVKG (配列番号302)	AYGNYWYIDR (配列番号35)			
GFTLSSYWMH (配列番号142)	LAVIKADGSENYNDSVKG (配列番号175)	LGVIWADGSENYNDSVKG (配列番号241)	VGNIKQGGSTKYNDSVKG (配列番号303)	AYGNYWYIDS (配列番号364)			
GFTLTSYGMH (配列番号143)	LAVIKADGSTKYVDSVKG (配列番号176)	LGVIWADGSTKYNDSVKG (配列番号242)	VGNIWADGSENYNDSVKG (配列番号304)	AYGNYWYIDT (配列番号365)			
GFTLTSYGMS (配列番号144)	LAVIKADGSTNYNDSVKG (配列番号177)	LGVIWADGSTKYVDSVKG (配列番号243)	VGNIWADGSTKYVDSVKG (配列番号305)	AYGNYWYIDW (配列番号366)			
GFTLTSYGVH (配列番号145)	LAVIKAGGSTNYVDSVKG (配列番号178)	LGVIWADGSTNYNDSVKG (配列番号244)	VGNIWADGSTNYNDSVKG (配列番号306)	AYGNYWYIDY (配列番号367)			
GFTLTSYGVS (配列番号146)	LAVIKQDGSEKYNDSVKG (配列番号179)	LGVIWADGSTNYVDSVKG (配列番号245)	VGNIWADGSTNYVDSVKG (配列番号307)	AYGNYWYIEV (配列番号368)			
	LAVIKQDGSTNYNDSVKG (配列番号180)	LGVIWADGSTSYNDSVKG (配列番号246)	VGNIWQDGSEKYNDSVKG (配列番号308)	AYGNYWYLDV (配列番号369)			
	LAVIKQDGSTNYVDSVKG (配列番号181)	LGVIWAGGSTNYNDSVKG (配列番号247)	VGNIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号309)	AYGNYWYMDV (配列番号370)			

【表３－４】

	LAVIWADGSEKYNDSVKG (配列番号 182)	LGVIWPDGSTNYNDSVKG (配列番号 248)	VGNIWQDGSENYVDSVKG (配列番号 310)	AYGNYWYSDV (配列番号 371)			
	LAVIWADGSENYNDSVKG (配列番号 183)	LGVIWQDGSEKYNDSVKG (配列番号 249)	VGNIWQDGSTKYNDSVKG (配列番号 311)	AYGNYWYTDV (配列番号 372)			
	LAVIWADGSENYVDSVKG (配列番号 184)	LGVIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号 250)	VGNIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号 312)	AYGNYWYVDV (配列番号 373)			
	LAVIWADGSTKYNDSVKG (配列番号 185)	LGVIWQDGSENYNDSVKG (配列番号 251)	VGNIWQDGSTNYNDSVKG (配列番号 313)	AYGNYWYYDV (配列番号 374)			
	LAVIWADGSTKYVDSVKG (配列番号 186)	LGVIWQDGSENYVDSVKG (配列番号 252)	VGNIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号 314)	AYGQYWYIDV (配列番号 375)			
	LAVIWADGSTNYNDSVKG (配列番号 187)	LGVIWQDGSTKYNDSVKG (配列番号 253)	VGNIWQGGSEKYNDSVKG (配列番号 315)	AYGRYWYIDV (配列番号 376)			
	LAVIWADGSTNYVDSVKG (配列番号 55)	LGVIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号 254)	VGVIKADGSTKYNDSVKG (配列番号 316)	AYGSYWYIDV (配列番号 377)			
	LAVIWAGGSEKYNDSVKG (配列番号 188)	LGVIWQDGSTNYNDSVKG (配列番号 255)	VGVIKADGSTNYNDSVKG (配列番号 317)	AYGTYWYIDV (配列番号 378)			
	LAVIWAGGSENYNDSVKG (配列番号 189)	LGVIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号 256)	VGVIKADGSTNYVDSVKG (配列番号 318)	AYGVYWYIDR (配列番号 379)			
	LAVIWAGGSTKYNDSVKG (配列番号 190)	LGVIWQGGSTKYNDSVKG (配列番号 257)	VGVIKQDGSENYNDSVKG (配列番号 319)	AYGVYWYIDV (配列番号 380)			
	LAVIWQDGSEKYNDSVKG (配列番号 191)	LGVIWQGGSTNYNDSVKG (配列番号 258)	VGVIKQDGSTKYNDSVKG (配列番号 320)	AYGWYWYIDV (配列番号 381)			
	LAVIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号 192)	VANIKADGSEKYVDSVKG (配列番号 259)	VGVIKQDGSTNYNDSVKG (配列番号 321)	AYGYYWYIDV (配列番号 382)			
	LAVIWQDGSENYNDSVKG (配列番号 193)	VANIKADGSENYVDSVKG (配列番号 260)	VGVIWADGSEKYNDSVKG (配列番号 322)	DYGNYWYIDV (配列番号 383)			

【表３－５】

	LAVIWQDGSENYVDSVKG (配列番号194)	VANIKADGSTKYVDSVKG (配列番号261)	VGVIWADGSENYNDSVKG (配列番号323)	EYGNYWYIDR (配列番号384)			
	LAVIWQDGSTKYNDSVKG (配列番号195)	VANIKQDGSEKYNDSVKG (配列番号262)	VGVIWADGSENYVDSVKG (配列番号324)	EYGNYWYIDV (配列番号385)			
	LAVIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号196)	VANIKQDGSEKYVDSVKG (配列番号263)	VGVIWADGSTKYNDSVKG (配列番号325)	GYGNYWYIDV (配列番号61)			
	LAVIWQDGSTNYNDSVKG (配列番号197)	VANIKQDGSTKYNDSVKG (配列番号264)	VGVIWADGSTKYVDSVKG (配列番号326)	HYGNYWYIDV (配列番号386)			
	LAVIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号198)	VANIKQDGSTNYNDSVKG (配列番号265)	VGVIWADGSTNYNDSVKG (配列番号327)	IYGNYWYIDR (配列番号387)			
	LAVIWQGGSEKYNDSVKG (配列番号199)	VANIWADGSEKYNDSVKG (配列番号266)	VGVIWADGSTNYVDSVKG (配列番号328)	IYGNYWYIDV (配列番号388)			
	LAVIWQGGSENYNDSVKG (配列番号200)	VANIWADGSTKYNDSVKG (配列番号267)	VGVIWQDGSEKYNDSVKG (配列番号329)	LYGNYWYIDV (配列番号389)			
	LGNIKADGSENYNDSVKG (配列番号201)	VANIWADGSTNYNDSVKG (配列番号268)	VGVIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号330)	MYGNYWYIDV (配列番号390)			
	LGNIKADGSTKYNDSVKG (配列番号202)	VANIWADGSTNYVDSVKG (配列番号269)	VGVIWQDGSENYNDSVKG (配列番号331)	QYGNYWYIDR (配列番号391)			
	LGNIKADGSTKYVDSVKG (配列番号203)	VANIWAGGSENYNDSVKG (配列番号270)	VGVIWQDGSENYVDSVKG (配列番号50)	QYGNYWYIDV (配列番号392)			
	LGNIKADGSTNYNDSVKG (配列番号204)	VANIWQDGSEKYNDSVKG (配列番号271)	VGVIWQDGSTKYNDSVKG (配列番号332)	SYGNYWYIDV (配列番号393)			
	LGNIKAGGSTNYNDSVKG (配列番号205)	VANIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号41)	VGVIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号333)	VYGNYWYIDV (配列番号394)			
	LGNIKAGGSTNYVDSVKG (配列番号206)	VANIWQDGSENYNDSVKG (配列番号272)	VGVIWQDGSTNYNDSVKG (配列番号334)	WYGNYWYIDV (配列番号395)			

【表３－６】

	LGNIKQDGSENYNDSVKG (配列番号 207)	VANIWQDGSENYVDSVKG (配列番号 273)	VGVIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号 60)				
	LGNIKQDGSTKYNDSVKG (配列番号 208)	VANIWQDGSTKYNDSVKG (配列番号 274)	VGVIWQGGSEKYVDSVKG (配列番号 335)				
	LGNIKQDGSTNYNDSVKG (配列番号 209)		VGVIWQGGSTNYNDSVKG (配列番号 336)				

【表４－１】

表４． 固有のライブラリー由来PD1アンタゴニスト性IgG、およびデザインPD1アンタゴニスト性IgGのCDR配列。

クローンの名称	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
20C07	KSSQSVSNDVA (配列番号 44)	YASHRFT (配列番号 45)	HQAYSTPYT (配列番号 46)	GFSFTSYGMS (配列番号 47)	LANIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号 48)	AYGNYWYIDR (配列番号 35)
11C08	KSSQSVSNDLA (配列番号 51)	YASHRFT (配列番号 45)	QQAYSTPYT (配列番号 52)	GFTFSSYGVH (配列番号 49)	VGVIWQDGSENYVDSVKG (配列番号 50)	AYGNYWYIDR (配列番号 35)
09C06	KSSQSVSNDVA (配列番号 44)	YASHRFT (配列番号 45)	HQAYSTPYT (配列番号 46)	GFSFSSYGMH (配列番号 42)	VANIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号 43)	AYGNYWYIDR (配列番号 35)
17A12	KSSQSVSNDVA (配列番号 44)	YASHRFT (配列番号 45)	QQAYSTPYT (配列番号 52)	GFSFSSYGMH (配列番号 42)	LANIWQDGSENYVDSVKG (配列番号 53)	AYGNYWYIDR (配列番号 35)
17D08	KSSQSVSNDVA (配列番号 44)	YASHRFT (配列番号 45)	HQAYSTPYT (配列番号 46)	GFTLSSYGMH (配列番号 54)	LAVIWADGSTNYVDSVKG (配列番号 55)	AYGNYMYIDV (配列番号 56)
17G08	KSSQSVSNDVA (配列番号 44)	YASHRFT (配列番号 45)	HQAYSTPYT (配列番号 46)	GFTFSSYGMH (配列番号 57)	VGVIKQDGSENYVDSVKG (配列番号 58)	AYGNYWYIDR (配列番号 35)
15D07	KSSQSVSNDLA (配列番号 51)	YASHRFT (配列番号 45)	QQAYSTPYT (配列番号 52)	GFSFTSYGMH (配列番号 59)	VGVIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号 60)	GYGNYWYIDV (配列番号 61)
MH1	KSSQSVGNDVA (配列番号 74)	YASHRFT (配列番号 45)	QQAYSSPYT (配列番号 75)	GFSLSSYGMS (配列番号 39)	VAVIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号 40)	AYGNYWYIDR (配列番号 35)
MH2	KSSQSVTNDLA (配列番号 76)	YASHRFT (配列番号 45)	QQAYSTPYT (配列番号 52)	GFSLSSYGMS (配列番号 39)	VAVIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号 40)	AYGNYWYIDR (配列番号 35)
MH3	KSSQSVGNDLA (配列番号 77)	YAYHRFS (配列番号 78)	QQAYSTPYT (配列番号 52)	GFSLSSYGMS (配列番号 39)	VAVIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号 40)	AYGNYWYIDR (配列番号 35)
MH4	KSSQSVTNDVA (配列番号 36)	YAYHRFT (配列番号 37)	HQAYSTPYT (配列番号 46)	GFSLSSYGMS (配列番号 39)	VAVIWQDGSTNYVDSVKG (配列番号 40)	AYGNYWYIDR (配列番号 35)
MH5	KSSQSVGNDVA (配列番号 74)	YASHRFT (配列番号 45)	QQAYSSPYT (配列番号 75)	GFTFSSYGMS (配列番号 33)	VANIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号 34)	AYGNYWYIDR (配列番号 35)
MH6	KSSQSVTNDLA (配列番号 76)	YASHRFT (配列番号 45)	QQAYSTPYT (配列番号 52)	GFTFSSYGMS (配列番号 33)	VANIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号 34)	AYGNYWYIDR (配列番号 35)
MH7	KSSQSVGNDLA (配列番号 77)	YAYHRFS (配列番号 78)	QQAYSTPYT (配列番号 52)	GFTFSSYGMS (配列番号 33)	VANIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号 34)	AYGNYWYIDR (配列番号 35)

【表４－２】

MH8	KSSQSVTNDVA (配列番号36)	YAYHRFT (配列番号37)	HQAYSTPYT (配列番号46)	GFTFSSYGMS (配列番号33)	VANIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号34)	AYGNYWYIDR (配列番号35)
MH9	KSSQSVGNDVA (配列番号74)	YASHRFT (配列番号45)	QQAYSSPYT (配列番号75)	GFTFSSYGMS (配列番号33)	VANIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号41)	AYGNYWYIDR (配列番号35)
MH10	KSSQSVTNDLA (配列番号76)	YASHRFT (配列番号45)	QQAYSTPYT (配列番号52)	GFTFSSYGMS (配列番号33)	VANIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号41)	AYGNYWYIDR (配列番号35)
MH11	KSSQSVGNDLA (配列番号77)	YAYHRFS (配列番号78)	QQAYSTPYT (配列番号52)	GFTFSSYGMS (配列番号33)	VANIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号41)	AYGNYWYIDR (配列番号35)
MH12	KSSQSVTNDVA (配列番号36)	YAYHRFT (配列番号37)	HQAYSTPYT (配列番号46)	GFTFSSYGMS (配列番号33)	VANIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号41)	AYGNYWYIDR (配列番号35)
MH13	KSSQSVTNDLA (配列番号76)	YAYHRFT (配列番号37)	HQAYSTPYT (配列番号46)	GFTFSSYGMS (配列番号33)	VANIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号34)	AYGNYWYIDR (配列番号35)
MH14	KSSQSVTNDLA (配列番号76)	YAYHRFS (配列番号78)	HQAYSTPYT (配列番号46)	GFTFSSYGMS (配列番号33)	VANIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号34)	AYGNYWYIDR (配列番号35)
MH15	KSSQSVTNDLA (配列番号76)	YASHRFS (配列番号79)	HQAYSTPYT (配列番号46)	GFTFSSYGMS (配列番号33)	VANIWQDGSTKYVDSVKG (配列番号34)	AYGNYWYIDR (配列番号35)
MH16	KSSQSVTNDLA (配列番号76)	YAYHRFT (配列番号37)	HQAYSTPYT (配列番号46)	GFTFSSYGMS (配列番号33)	VANIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号41)	AYGNYWYIDR (配列番号35)
MH17	KSSQSVTNDLA (配列番号76)	YAYHRFS (配列番号78)	HQAYSTPYT (配列番号46)	GFTFSSYGMS (配列番号33)	VANIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号41)	AYGNYWYIDR (配列番号35)
MH18	KSSQSVTNDLA (配列番号76)	YASHRFS (配列番号79)	HQAYSTPYT (配列番号46)	GFTFSSYGMS (配列番号33)	VANIWQDGSEKYVDSVKG (配列番号41)	AYGNYWYIDR (配列番号35)

【表５】

表５． Hu317 および例示のリードクローンに関する予測されたＴ細胞エピトープ含量スコア

クローンの名称	GE	HAF	LAF	TCED+
Hu317	9	4	7	2
09C06	15	4	2	1
20C07	15	4	3	1
11C08	14	4	5	1
17A12	15	4	3	1
MH4	15	4	3	1
MH8	15	3	3	1
MH12	15	3	3	1

【表６】

表６． Hu317 および例示のリードクローンに関する電荷アイソフォーム分布

クローンの名称	塩基性アイソフォーム　%	主要ピーク　%	酸性アイソフォーム　%
Hu317	23.1	68.9	8
09C06	3.5	82.8	13.7
MH4	7	81.6	11.4
MH8	6	77.4	16.6
MH12	7.4	80.4	12.2

【表７】

表７． Hu317 および例示のリードクローンに関する温度遷移中点

クローン	Tm1 ℃	Tm2 ℃	Tm3 ℃
Hu317	72.3	79.4*	86.1
09C06		76.6*	86.5
MH4		75.3*	86.2
MH8		74.2*	86.2
MH12	71.9		86.5*

* Fab Tm

【表８】

表８． IgGは、0.5%のH2O2での強制酸化の前後で高い完全性を示し、これは分子ふるい（SEC）、逆相（RP）および疎水性相互作用（HIC）のクロマトグラフィー法で測定された。

	SECによるHMW%		RP保持（mins(分)）		RP重鎖（mins(分)）		RP軽鎖（mins(分)）		HIC保持（Mins(分)）	
	0分	120分	0分	120分	0分	120分	0分	120分	0分	120分
クローン	H2O2	H2O2	H2O2	H2O2	H2O2	H2O2	H2O2	H2O2	H2O2	H2O2
Hu317	0.13	0.17	8.3	8.2	7.7	7.7	6.5	6.5	7.2	6.9
09C06	0.27	0.27	12.8	12.7	11.7	11.6	8.6	8.6	6.3	5.7
MH4	0.28	0.41	13.7	13.7	12.8	12.5	8.9	8.8	7.2	6.8
MH8	0.3	0.25	13.2	13.1	12	11.9	8.8	8.8	6.9	6.5
MH12	0.52	0.31	13.2	13.2	12	12	8.9	8.8	7	6.9

【表９】

表９． 抗体可変領域アミノ酸配列の例。

抗体 MH8 重鎖可変（VH）領域
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVANIWQDGSTKYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM
NSLRAEDTAVYYCARAYGNYWYIDRWGQGTTVTVSS（配列番号 1）
抗体 MH8 軽鎖可変（VL）領域
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVTNDVAWYQQKPGQPPKLLINYAYHRFTGVPDRFSGSGYGTDFTLTISSLQAED
VAVYYCHQAYSTPYTFGQGTKLEIK （配列番号 2）
抗体 MH4 重鎖可変（VH）領域
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLSSYGMSWVRQAPGKGLEWVAVIWQDGSTNYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM
NSLRAEDTAVYYCARAYGNYWYIDRWGQGTTVTVSS（配列番号 3）
抗体 MH4 軽鎖可変（VL）領域
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVTNDVAWYQQKPGQPPKLLINYAYHRFTGVPDRFSGSGYGTDFTLTISSLQAED
VAVYYCHQAYSTPYTFGQGTKLEIK （配列番号 4）
抗体 MH12 重鎖可変（VH）領域
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVANIWQDGSEKYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM
NSLRAEDTAVYYCARAYGNYWYIDRWGQGTTVTVSS（配列番号 5）
抗体 MH12 軽鎖可変（VL）領域
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVTNDVAWYQQKPGQPPKLLINYAYHRFTGVPDRFSGSGYGTDFTLTISSLQAED
VAVYYCHQAYSTPYTFGQGTKLEIK （配列番号 6）
抗体 09C06 重鎖可変（VH）領域
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVANIWQDGSTNYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQM
NSLRAEDTAVYYCARAYGNYWYIDRWGQGTTVTVSS（配列番号 7）
抗体 09C06 軽鎖可変（VL）領域
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVSNDVAWYQQKPGQPPKLLINYASHRFTGVPDRFSGSGYGTDFTLTISSLQAED
VAVYYCHQAYSTPYTFGQGTKLEIK（配列番号 8）

【表１０】

表１０． 抗体 Fc 領域アミノ酸配列の例。

ヒト IgG4 野生型

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYT
CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSLGK（配列番号 9）

ヒト IgG4(S228P)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYT
CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSLGK（配列番号 10）

ヒト IgG1 野生型

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK（配列番号 11）

ヒト IgG1-3M

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK（配列番号 12）

ヒト IgG2 野生型

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYT
CNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC
LVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
（配列番号 13）

ヒト IgG1 野生型「REEM」アロタイプ

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK（配列番号 14）

ヒト IgG1-3M「REEM」アロタイプ

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
K（配列番号 15）

【表１１】

表１１． 標的タンパク質アミノ酸配列の例。

ヒトPD1配列

MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPPTFSPALLVVTEGDNATFTCSFSNTSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAF
PEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAG
QFQTLVVGVVGGLLGSLVLLVWVLAVICSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPEPPVPCVPEQT
EYATIVFPSGMGTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL（配列番号16）

カニクイザルPD1配列

MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLESPDRPWNAPTFSPALLLVTEGDNATFTCSFSNASESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAF
PEDRSQPGQDCRFRVTRLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAG
QFQALVVGVVGGLLGSLVLLVWVLAVICSRAAQGTIEARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPEPPAPCVPEQT
EYATIVFPSGLGTSSPARRGSADGPRSPRPLRPEDGHCSWPL（配列番号17）

ヒトLSAMP配列

MVRRVQPDRKQLPLVLLRLLCLLPTGLPVRSVDFNRGTDNITVRQGDTAILRCVVEDKNSKVAWLNRSGIIFAGHDKWSLDP
RVELEKRHSLEYSLRIQKVDVYDEGSYTCSVQTQHEPKTSQVYLIVQVPPKISNISSDVTVNEGSNVTLVCMANGRPEPVIT
WRHLTPTGREFEGEEEYLEILGITREQSGKYECKAANEVSSADVKQVKVTVNYPPTITESKSNEATTGRQASLKCEASAVPA
PDFEWYRDDTRINSANGLEIKSTEGQSSLTVTNVTEEHYGNYTCVAANKLGVTNASLVLFRPGSVRGINGSISLAVPLWLLA
ASLLCLLSKC（配列番号415）

ヒトBTN2A1配列

MESAAALHFSRPASLLLLLLSLCALVSAQFIVVGPTDPILATVGENTTLRCHLSPEKNAEDMEVRWFRSQFSPAVFVYKGGR
ERTEEQMEEYRGRTTFVSKDISRGSVALVIHNITAQENGTYRCYFQEGRSYDEAILHLVVAGLGSKPLISMRGHEDGGIRLE
CISRGWYPKPLTVWRDPYGGVAPALKEVSMPDADGLFMVTTAVIIRDKSVRNMSCSINNTLLGQKKESVIFIPESFMPSVSP
CAVALPIIVVILMIPIAVCIYWINKLQKEKKILSGEKEFERETREIALKELEKERVQKEEELQVKEKLQEELRWRRTFLHAV
DVVLDPDTAHPDLFLSEDRRSVRRCPFRHLGESVPDNPERFDSQPCVLGRESFASGKHYWEVEVENVIEWTVGVCRDSVERK
GEVLLIPQNGFWTLEMHKGQYRAVSSPDRILPLKESLCRVGVFLDYEAGDVSFYNMRDRSHIYTCPRSAFSVPVRPFFRLGC
EDSPIFICPALTGANGVTVPEEGLTLHRVGTHQSL（配列番号416）

【表１２】

表１２． プロテオームアレイのIgGスクリーニングを介して特定された標的タンパク質。

IgGクローン	チップスクリーニングにおけるヒット数	PD1 (PDCD1)	BTN2A1	LSAMP
		NM_005018	NM_007049	BC033803
MH4 (2μg/ml)	2	強		弱
MH8 (2ug/ml)	2	強		弱
MH12 (2ug/ml)	3	強	弱／中	弱
Hu317 (2ug/ml)	1	強		
抗フルオロセイン(4-4-20e)ヒトIgG4カッパ．Ab00102-13.0 陰性対照(2ug/ml)	0			
PBS（二次のみ）	0			

【表１３】

表１３． IgG の非標的タンパク質をトランスフェクトした細胞への結合対擬似細胞（ZS グリーンのみ）への結合についての発光のｆｏｌｄ　Ｃｈａｎｇｅ（変化倍率）

ＩｇＧクローン	BTN2A1	LSAMP	CD20
Hu317	1.2	1.5	1.4
MH4	1.2	1.9	1.1
MH8	1.1	7.1	0.9
MH12	1.3	4.1	1.1
二次のみ	1.1	1.5	0.9

【図１Ａ】

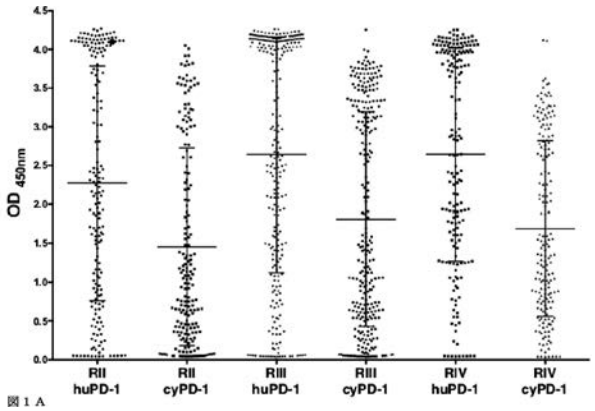


図１Ａ

【図１Ｂ】

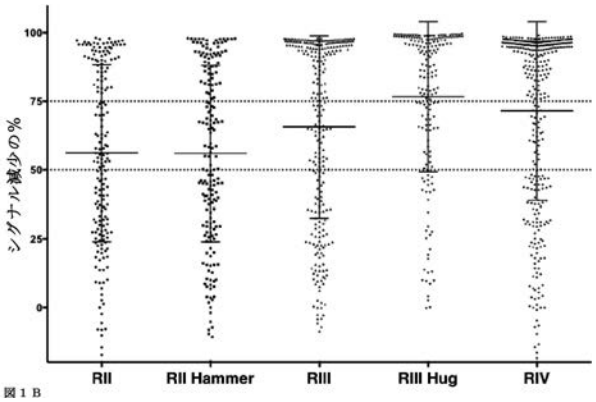


図１Ｂ

【図２Ａ】

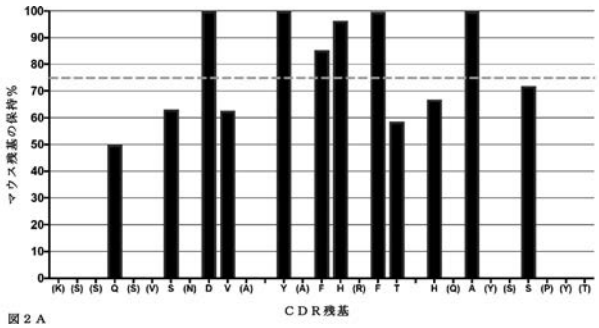


図２Ａ

【図２Ｂ】

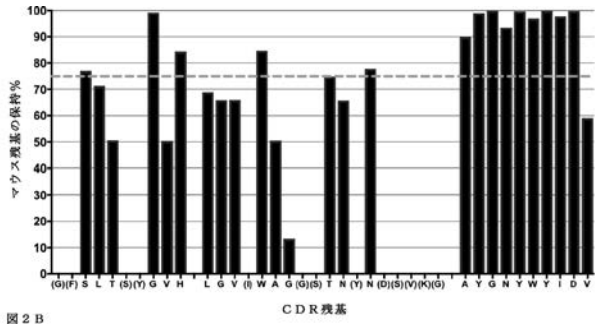


図２Ｂ

【図３Ａ】

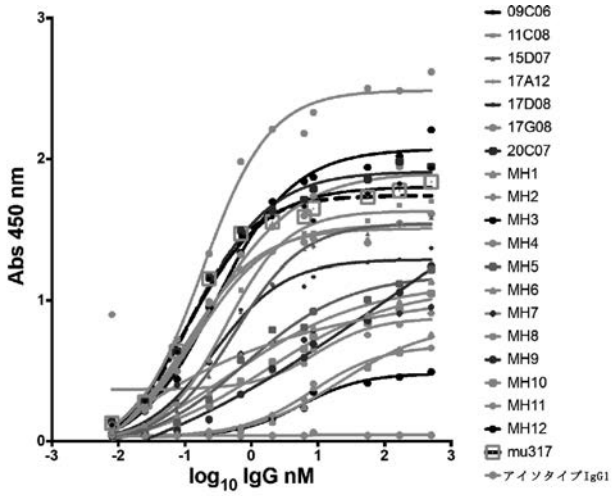


図３Ａ

【図３Ｂ】

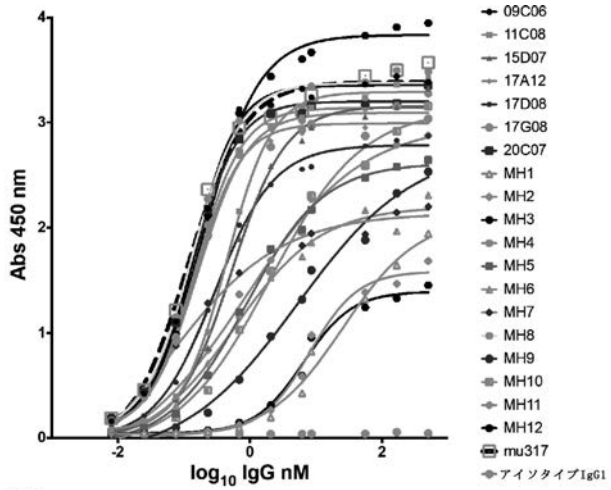


図３Ｂ

【図４】

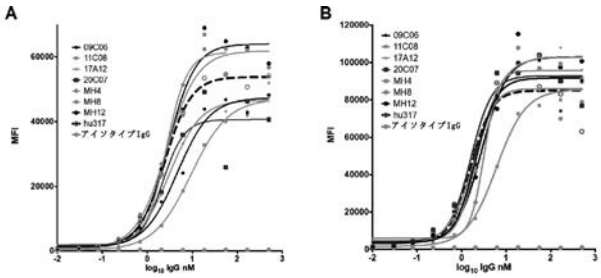


図４

【図５】

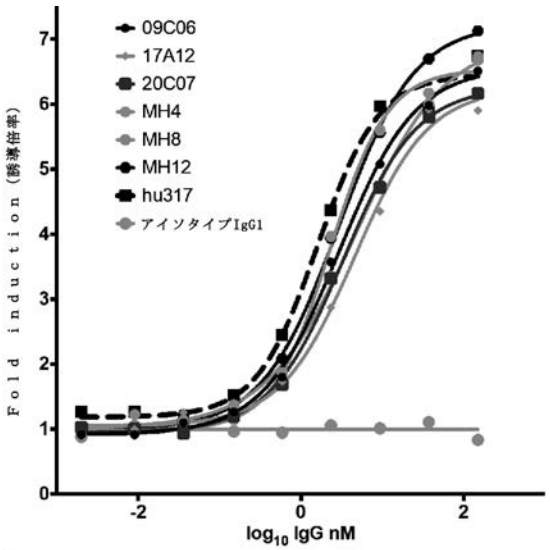


図５

【図６】

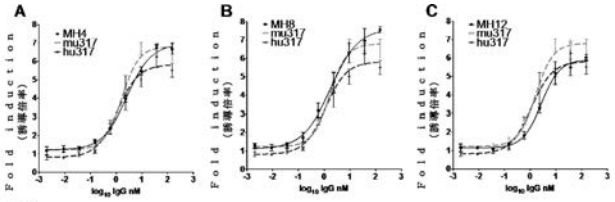


図６

【図７－１】

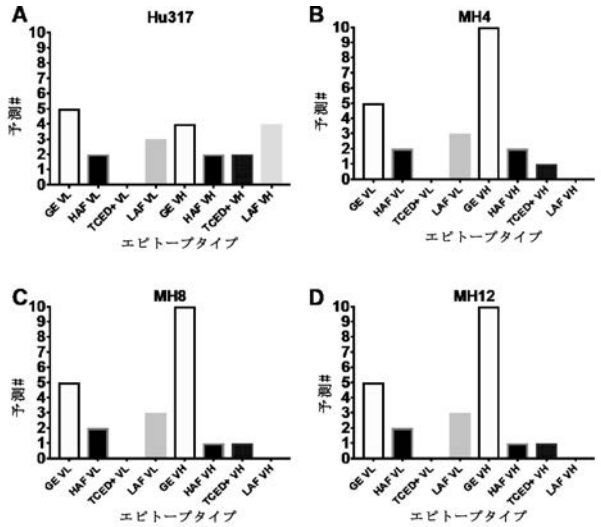


図７Ａ～７Ｄ

【図７－２】

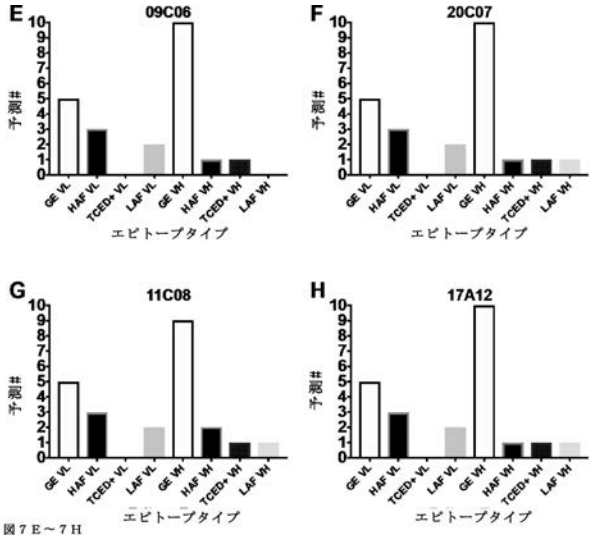


図７Ｅ～７Ｈ

【図８Ａ】

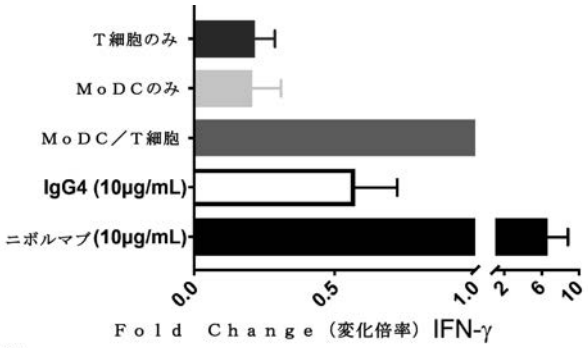


図８Ａ

【図８Ｂ】

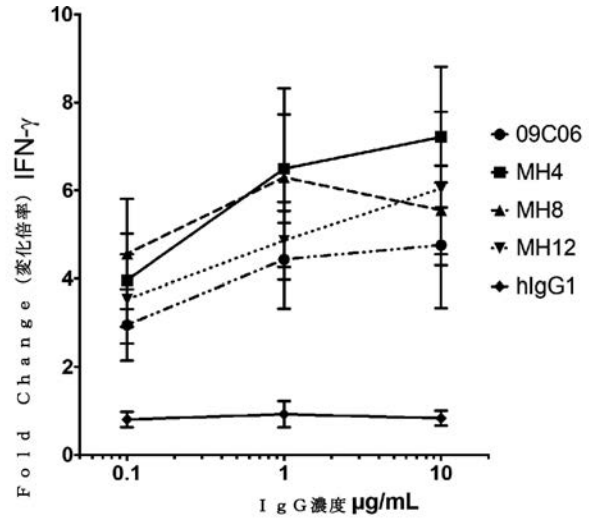


図８Ｂ

【図８Ｃ】

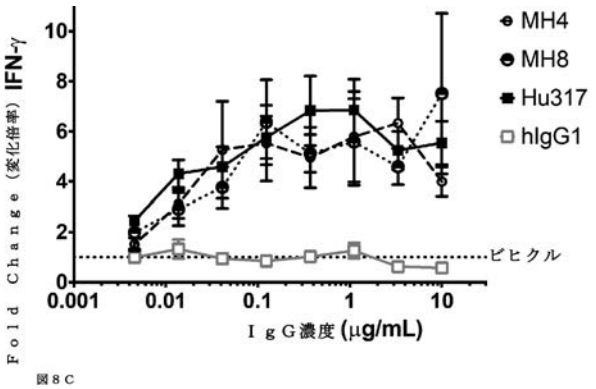


図８Ｃ

【図９】

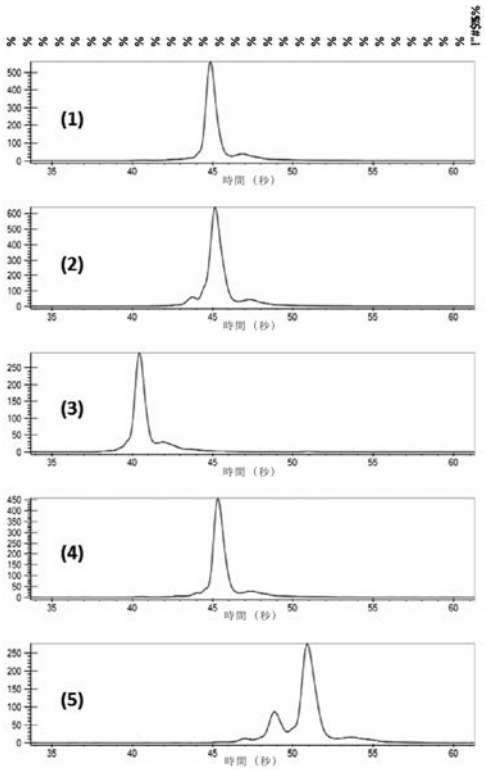


図９

【図１０】

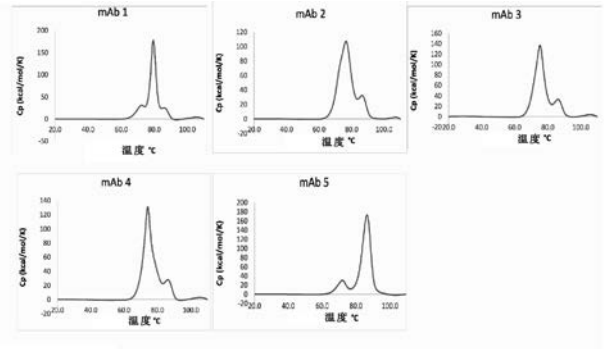


図１０

【図１１】

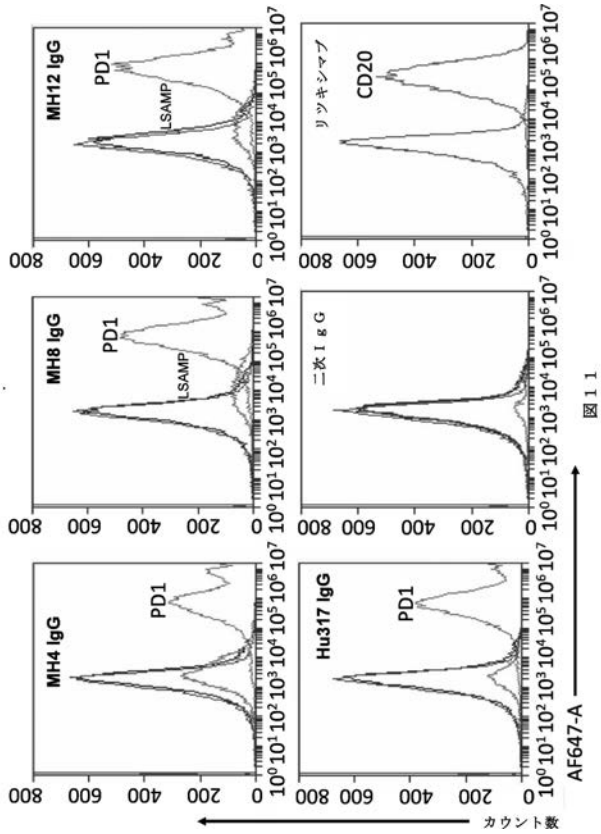


図１１

【配列表】
2021515541000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/055927

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/28 A61P35/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 8 735 553 B1 (LI K; LIU Q; PENG A; PENG H; SONG J; XU L; ZHANG T; ZHNG T) 27 May 2014 (2014-05-27) claims 1-35; examples 1-12	1,3-37
X	WO 2006/121168 A1 (ONO PHARMACEUTICAL CO [JP]; MEDAREX INC [US] ET AL.) 16 November 2006 (2006-11-16) claims 1-105; examples 1-25	1,3-37
A	EP 3 081 576 A1 (SHANGHAI HENGRUI PHARM CO LTD [CN]; JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO [CN]) 19 October 2016 (2016-10-19) claims 1-27; examples 1-11	1-37

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
24 May 2019	11/06/2019
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Le Flao, Katell

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/055927

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2017/055404 A1 (F HOFFMANN-LA ROCHE AG [CH]; HOFFMANN-LA ROCHE INC [US]) 6 April 2017 (2017-04-06) page 1, line 27 - page 3, line 29; claims 1-30 -----	1-37
T	FINLAY WILLIAM J J ET AL: "Anti-PD1 'SHR-1210' aberrantly targets pro-angiogenic receptors and this polyspecificity can be ablated by paratope refinement.", MABS 01 2019, vol. 11, no. 1, January 2019 (2019-01), pages 26-44, XP002791570, ISSN: 1942-0870 the whole document -----	

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2019/055927

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 8735553 B1	27-05-2014	AU 2013400609 A1	05-05-2016
		BR 112016005408 A2	16-01-2018
		CA 2924172 A1	19-03-2015
		CN 105531288 A	27-04-2016
		CN 107011441 A	04-08-2017
		CN 107090041 A	25-08-2017
		CN 108715615 A	30-10-2018
		EA 201690567 A1	31-08-2016
		EP 3044234 A1	20-07-2016
		HK 1217501 A1	13-01-2017
		JP 2016533763 A	04-11-2016
		KR 20160044063 A	22-04-2016
		SG 11201601844T A	28-04-2016
		TW 201538525 A	16-10-2015
		US 8735553 B1	27-05-2014
		US 2015079109 A1	19-03-2015
		US 2015315274 A1	05-11-2015
		US 2018111995 A1	26-04-2018
		US 2018251551 A1	06-09-2018
		WO 2015035606 A1	19-03-2015
		ZA 201601953 B	28-06-2017
WO 2006121168 A1	16-11-2006	AU 2006244885 A1	16-11-2006
		BR PI0610235 A2	08-06-2010
		CA 2607147 A1	16-11-2006
		CA 2970873 A1	16-11-2006
		CN 101213297 A	02-07-2008
		CN 103059138 A	24-04-2013
		CN 105315373 A	10-02-2016
		CN 109485727 A	19-03-2019
		DK 2161336 T3	28-10-2013
		EP 1896582 A1	12-03-2008
		EP 2161336 A1	10-03-2010
		EP 2418278 A2	15-02-2012
		EP 2439272 A2	11-04-2012
		EP 2439273 A2	11-04-2012
		ES 2427646 T3	31-10-2013
		HK 1140793 A1	27-06-2014
		HU S1500067 I1	29-02-2016
		IL 187108 A	30-06-2011
		IL 208642 A	30-08-2012
		JP 4361545 B2	11-11-2009
		JP 5028700 B2	19-09-2012
		JP 5872377 B2	01-03-2016
		JP 6185971 B2	23-08-2017
		JP 2006340714 A	21-12-2006
		JP 2009155338 A	16-07-2009
		JP 2012158605 A	23-08-2012
		JP 2014077015 A	01-05-2014
		JP 2016033135 A	10-03-2016
		JP 2017052784 A	16-03-2017
		KR 20080011428 A	04-02-2008
		KR 20130032908 A	02-04-2013
		KR 20130114226 A	16-10-2013
		LT 2439273 T	10-05-2019
		LU 92904 I2	10-02-2016
		NO 341219 B1	18-09-2017
		NO 2018008 I1	26-02-2018

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2019/055927

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		NZ 563193 A	28-05-2010
		PT 2161336 E	03-10-2013
		RU 2010135087 A	27-02-2012
		RU 2013133714 A	27-01-2015
		SI 2161336 T1	29-11-2013
		TW I379898 B	21-12-2012
		US 2009217401 A1	27-08-2009
		US 2013133091 A1	23-05-2013
		US 2014212422 A1	31-07-2014
		US 2014294852 A1	02-10-2014
		US 2014328833 A1	06-11-2014
		US 2014348743 A1	27-11-2014
		US 2015165025 A1	18-06-2015
		US 2017088615 A1	30-03-2017
		WO 2006121168 A1	16-11-2006
EP 3081576 A1	19-10-2016	AU 2014361473 A1	07-07-2016
		BR 112016013338 A2	26-09-2017
		CA 2932966 A1	18-06-2015
		CL 2016001460 A1	20-01-2017
		CN 105026428 A	04-11-2015
		CR 20160319 A	08-11-2016
		DO P2016000133 A	30-11-2016
		EA 201691225 A1	30-09-2016
		EP 3081576 A1	19-10-2016
		HK 1213910 A1	15-07-2016
		JP 6502959 B2	17-04-2019
		JP 2017500889 A	12-01-2017
		KR 20160113113 A	28-09-2016
		PE 09532016 A1	26-09-2016
		PH 12016501120 A1	15-08-2016
		SG 10201804945W A	30-07-2018
		SG 11201604738T A	28-07-2016
		TW 201605901 A	16-02-2016
		US 2016376367 A1	29-12-2016
		WO 2015085847 A1	18-06-2015
WO 2017055404 A1	06-04-2017	AU 2016329126 A1	15-02-2018
		BR 112018001530 A2	06-11-2018
		CA 2992853 A1	06-04-2017
		CL 2018000502 A1	27-07-2018
		CN 108137699 A	08-06-2018
		CO 2018000886 A2	19-04-2018
		CR 20180161 A	25-05-2018
		EP 3356411 A1	08-08-2018
		JP 2018537950 A	27-12-2018
		KR 20180042417 A	25-04-2018
		PE 7732018 A1	07-05-2018
		PH 12018500635 A1	24-09-2018
		TW 201718660 A	01-06-2017
		US 2017114135 A1	27-04-2017
		WO 2017055404 A1	06-04-2017

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
C12N	*1/19*	*(2006.01)*	C12N	1/19		4H045
C12N	*1/21*	*(2006.01)*	C12N	1/21		
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10		
C12P	*21/08*	*(2006.01)*	C12P	21/08		
A61K	*39/395*	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61K	*45/00*	*(2006.01)*	A61K	45/00		
A61K	*47/68*	*(2017.01)*	A61K	47/68		
A61P	*37/04*	*(2006.01)*	A61P	37/04		
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P	*31/00*	*(2006.01)*	A61P	31/00		
A61P	*37/02*	*(2006.01)*	A61P	37/02		
A61P	*31/12*	*(2006.01)*	A61P	31/12		
A61P	*31/04*	*(2006.01)*	A61P	31/04		
A61P	*31/10*	*(2006.01)*	A61P	31/10		
A61P	*33/00*	*(2006.01)*	A61P	33/00		
A61P	*31/18*	*(2006.01)*	A61P	31/18		
A61P	*35/02*	*(2006.01)*	A61K	39/395	T	
			A61P	35/02		

(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(72)発明者　フィンレー，ウィリアム　ジェームズ　ジョナサン
イギリス国，シーティー１３　９エフエフ　サンドウィッチ，ラムスゲイト　ロード，イノベーション　ハウス，クレストン　リーブス　エルエルピー内

Ｆターム(参考) 4B064 AG27 CA19 CC24 DA01
4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AA94Y AB01 AC14 BA02 CA25 CA44
4C076 AA95 BB11 CC07 CC27 CC31 CC32 CC34 CC35 CC41 EE41 EE59
4C084 AA17 MA65 MA66 NA05 NA14 ZB07 ZB09 ZB26 ZB27 ZB31 ZB32 ZB33 ZB35 ZB37 ZC55
4C085 AA14 AA21 BB31 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 CC23 DD62 EE01 GG01 GG02 GG04
4H045 AA11 AA20 AA30 DA76 EA20 EA22 EA28 FA74