

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7198752号

(P7198752)

(45)発行日 令和5年1月4日(2023.1.4)

(24)登録日 令和4年12月21日(2022.12.21)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

C 0 7 K

16/28

Z N A

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K

39/395

U

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

A 6 1 K

39/395

D

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P

37/02

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P

43/00

1 0 7

請求項の数 21 (全341頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-529699(P2019-529699)

(86)(22)出願日 平成29年8月9日(2017.8.9)

(65)公表番号 特表2019-534892(P2019-534892
A)

(43)公表日 令和1年12月5日(2019.12.5)

(86)国際出願番号 PCT/GB2017/052352

(87)国際公開番号 WO2018/029474

(87)国際公開日 平成30年2月15日(2018.2.15)

審査請求日 令和2年7月2日(2020.7.2)

(31)優先権主張番号 1613683.0

(32)優先日 平成28年8月9日(2016.8.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

(31)優先権主張番号 1615224.1

(32)優先日 平成28年9月7日(2016.9.7)

最終頁に続く

(73)特許権者 512006066

カイマブ・リミテッド

イギリス・C B 2 2・3 A T・ケンブリ

ッジ・パブラハム・リサーチ・キャンパ

ス・ザ・ベネット・ビルディング・(B

9 3 0)

(74)代理人 100065248

弁理士 野河 信太郎

(74)代理人 100159385

弁理士 甲斐 伸二

(74)代理人 100163407

弁理士 金子 裕輔

(74)代理人 100166936

弁理士 稲本 潔

(74)代理人 100174883

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗 I C O S 抗体

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

S T I M 0 0 3 V H ドメイン(配列番号 4 0 8)と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H ドメインと、S T I M 0 0 3 V L ドメイン(配列番号 4 1 5)と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L ドメインとを含む、ヒト及び/又はマウス I C O S の細胞外ドメインに結合する単離された抗体。

【請求項 2】

前記 V H ドメインが 1 セットの重鎖相補性決定領域(H C D R) H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含み、

H C D R 1 が配列番号 4 0 5 のアミノ酸配列を有する S T I M 0 0 3 H C D R 1 であり、

H C D R 2 が配列番号 4 0 6 のアミノ酸配列を有する S T I M 0 0 3 H C D R 2 であり、

H C D R 3 が配列番号 4 0 7 のアミノ酸配列を有する S T I M 0 0 3 H C D R 3 である、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 3】

前記 V L ドメインが 1 セットの軽鎖相補性決定領域(L C D R) L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含み、

L C D R 1 が配列番号 4 1 2 のアミノ酸配列を有する S T I M 0 0 3 L C D R 1 であり、

10

20

L C D R 2 が配列番号 4 1 3 のアミノ酸配列を有する S T I M 0 0 3 L C D R 2 であり、

L C D R 3 が配列番号 4 1 4 のアミノ酸配列を有する S T I M 0 0 3 L C D R 3 である、請求項 1 又は 2 に記載の抗体。

【請求項 4】

前記 V H ドメインが 1 セットの重鎖相補性決定領域(H C D R) H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含み、

H C D R 1 が配列番号 4 0 5 のアミノ酸配列を有する S T I M 0 0 3 H C D R 1 であり、

H C D R 2 が配列番号 4 0 6 のアミノ酸配列を有する S T I M 0 0 3 H C D R 2 であり、

H C D R 3 が配列番号 4 0 7 のアミノ酸配列を有する S T I M 0 0 3 H C D R 3 であり、前記 V L ドメインが 1 セットの軽鎖相補性決定領域(L C D R) L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含み、

L C D R 1 が配列番号 4 1 2 のアミノ酸配列を有する S T I M 0 0 3 L C D R 1 であり、

L C D R 2 が配列番号 4 1 3 のアミノ酸配列を有する S T I M 0 0 3 L C D R 2 であり、

L C D R 3 が配列番号 4 1 4 のアミノ酸配列を有する S T I M 0 0 3 L C D R 3 である、請求項 3 に記載の抗体。

【請求項 5】

前記 V H ドメインのアミノ酸配列が配列番号 4 0 8 であり、前記 V L ドメインのアミノ酸配列が配列番号 4 1 5 である、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 6】

抗体定常領域を含む請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 7】

前記定常領域がヒト重鎖及び/又は軽鎖定常領域を含む、請求項 6 に記載の抗体。

【請求項 8】

前記定常領域が F c エフェクター陽性である、請求項 6 又は 7 に記載の抗体。

【請求項 9】

I g G 1 である請求項 7 又は 8 に記載の抗体。

【請求項 10】

配列番号 4 1 0 の重鎖アミノ酸配列及び配列番号 4 1 7 の軽鎖アミノ酸配列を含む請求項 9 に記載の抗体。

【請求項 11】

多重特異性抗体である請求項 1 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 12】

請求項 1 ～ 11 のいずれか 1 項に記載の単離抗体と薬学的に許容される賦形剤とを含む組成物。

【請求項 13】

請求項 1 ～ 11 のいずれか 1 項に記載の抗体をコードする単離核酸と薬学的に許容される賦形剤とを含む組成物。

【請求項 14】

請求項 1 ～ 11 のいずれか 1 項に記載の抗体をコードする核酸を含んでなるインビトロの宿主細胞。

【請求項 15】

ヒト患者の癌を処置する方法に用いるための請求項 1 ～ 11 のいずれか 1 項に記載の抗体又は請求項 12 に記載の組成物。

【請求項 16】

前記癌が腎細胞癌、頭頸部癌、黒色腫、非小細胞肺癌、食道癌、子宮頸癌又はびまん性大

10

20

30

40

50

細胞型 B 細胞リンパ腫である、請求項 15 に記載の抗体又は組成物。

【請求項 17】

前記癌の処置が前記抗体及び抗 PD - L1 抗体を患者に投与することを含む、請求項 15 又は 16 に記載の抗体又は組成物。

【請求項 18】

抗 PD - L1 抗体がアテゾリズマブである請求項 17 に記載の抗体又は組成物。

【請求項 19】

前記抗 ICOS 抗体及び前記抗 PD - L1 抗体が各々、ADCC、ADCP 及び/又は CDC を媒介することができる、請求項 17 に記載の抗体又は組成物。

【請求項 20】

前記抗 ICOS 抗体がヒト IgG1 抗体であり、前記抗 PD - L1 抗体がヒト IgG1 抗体である、請求項 17 又は 19 に記載の抗体又は組成物。

【請求項 21】

前記抗 ICOS 抗体及び/又は前記抗 PD - L1 抗体が配列番号 340 のアミノ酸配列を含むヒト IgG1 定常領域を含む、請求項 17 又は 19 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体又は組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、哺乳動物免疫応答、特に、T 細胞応答を刺激するための組成物に関する。本発明はまた、患者における抗腫瘍 T 細胞応答の促進による抗腫瘍療法を含む免疫腫瘍学におけるこのような組成物の医学的使用、並びに例えばエフェクター T 細胞の刺激及び/又は制御性 T 細胞の枯渇を介して、エフェクター T 細胞と制御性 T 細胞との間のバランスをエフェクター T 細胞に有利なように調節することが治療上の利点を有する、他の疾患及び状態における組成物の使用に関する。

【背景技術】

【0002】

ICOS (誘導性 T 細胞共刺激因子) は、免疫応答、特に、液性免疫応答の調節に関与する CD28 遺伝子ファミリーのメンバーであり、1999 年に初めて同定された [1]。これは、2 つの異なるグリコシル化サブユニットを有するジスルフィド結合したホモ二量体として存在する、55 kDa の膜貫通タンパク質である。ICOS は、T リンパ球上で独占的に発現され、様々な T 細胞サブセットに見出される。これは、ナイーブ T リンパ球上に低レベルで存在するが、その発現は、免疫活性化により急速に誘導され、TCR の従事及び CD28 との共刺激等の炎症誘発性刺激に応答して上方調節される [2、3]。ICOS は、T 細胞活性化の後期、メモリ T 細胞形成の遅い段階、及び重要なことに T 細胞依存性 B 細胞応答を介した液性応答の調節において役割を果たす [4、5]。細胞内で、ICOS は PI3K に結合し、キナーゼであるホホイノシチド (phosphoinositide) 依存性キナーゼ 1 (PK1) 及びタンパク質キナーゼ B (PKB) を活性化する。ICOS の活性化により、細胞死が防止され、細胞代謝が上方調節される。ICOS の非存在下 (ICOS ノックアウト) 又は抗 ICOS 中和抗体の存在下では、炎症誘発性応答の抑制が存在する。

【0003】

ICOS は、B 細胞及び抗原提示細胞 (APC) 上に発現される ICOS リガンド (ICISL) に結合する [6、7]。これは、共刺激分子として、抗原に対する TCR 媒介性免疫応答及び抗体応答を調節するのに役立つ。この細胞型が癌細胞の免疫監視に負の役割を果たすことが示唆されているため、T 制御性細胞上の ICOS の発現は重要であり、卵巣癌においてこれに関する新たな証拠が存在する [8]。重要なことに、ICOS 発現は、腫瘍微小環境に存在する CD4+ 及び CD8+ エフェクター細胞と比較して、腫瘍内制御性 T 細胞 (Treg) 上でより高いことが報告されている。Fc 媒介細胞エフェクター機能を有する抗体を使用した Treg の枯渇は、前臨床モデルにおいて強い抗腫瘍効果を示した

10

20

30

40

50

[9]。増え続ける証拠により、ICOSが免疫チェックポイント阻害剤で処置された動物モデル及び患者の両方において抗腫瘍効果に關与することが示される。ICOS又はICOSL枯渴マウスでは、抗CTLA4療法の抗腫瘍効果は減少するが[10]、正常マウスでは、ICOSリガンドにより、黒色腫及び前立腺癌における抗CTLA4処置の有効性が増加する[11]。さらに、ヒトでは、進行性黒色腫患者の後ろ向き研究により、イピリムマブ(抗CTLA4)治療後のICOSレベルの上昇が示された[12]。加えて、ICOS発現は、抗CTLA4で処置した膀胱癌患者において上方調節される[13]。抗CTLA4療法による処置を受けた癌患者では、腫瘍特異的IFN 産生CD4 T細胞の大部分がICOS陽性であり、同時に、ICOS陽性CD4 T細胞の持続的上昇が生存率と相關することも觀察されている[12、13、14]。

10

【 0 0 0 4 】

WO2016/120789により、抗ICOS抗体が説明され、T細胞を活性化するため、並びに癌、感染症、及び/又は敗血症を治療するためのそれらの使用が提案された。ある数のネズミ抗ICOS抗体が生成され、そのサブセットはヒトICOS受容体のアゴニストであると報告されている。抗体「422.2」をリード抗ICOS抗体として選択し、ヒト化して「H2L5」と命名されたヒト「IgG4PE」抗体を産生した。H2L5は、ヒトICOSに対して1.34 nM、及びカニクイザルICOSに対して0.95 nMの親和性を有し、T細胞におけるサイトカイン産生を誘導し、CD3刺激と共にT細胞活性化マーカーを上方調節すると報告された。しかし、移植されたヒト黒色腫細胞を保有するマウスは、対照処置群と比較して、H2L5 hIgG4PEで処置した場合、最小限の腫瘍増殖遅延又は生存率増加しか示さないことが報告された。また、この抗体は、イピリムマブ(抗CTLA-4)又はペンブロリズマブ(抗PD-1)との併用実験において、イピリムマブ又はペンブロリズマブ単独療法と比較して、腫瘍増殖のさらなる阻害を有意には生じなかった。最後に、移植された結腸癌細胞(CT26)を保有するマウスにおいて、イピリムマブ又はペンブロリズマブのマウス代用物と組み合わせた低用量のマウス交差反応性のH2L5代用物では、抗CTLA4及び抗PD1療法のみと比較して、全生存が軽度改善されただけであった。移植されたEMT6細胞を保有するマウスにおいて、同様の強い治療効果の欠如が示された。

20

【 0 0 0 5 】

WO2016/154177により、抗ICOS抗体のさらなる例が説明されている。これらの抗体は、エフェクターCD8+ T細胞(TEff)を含むCD4+ T細胞のアゴニストであること、及びT制御性細胞(TReg)を枯渴させることが報告されている。TEff細胞対TReg細胞に対する抗体の選択的効果が説明されており、これらの抗体は、TRegを優先的に枯渴させることができるが、より低いレベルのICOSを発現するTEffに対して最小の効果しか有しない。抗ICOS抗体は、癌の治療に使用するために提案され、抗PD-1抗体又は抗PD-L1抗体との併用療法が説明されている。

30

【 発明の概要 】

【 0 0 0 6 】

エフェクターT細胞活性を増加させるように作用するICOSに対する抗体は、様々な疾患及び状態並びにワクチン接種レジメンを含む、CD8+ T細胞応答が有益である免疫腫瘍学及び他の医学的状況における治療アプローチを表す。免疫成分が關与する多くの疾患及び状態において、CD8+ T細胞免疫応答を発揮するエフェクターT細胞(TEff)と、TEffを下方調節することによってその免疫応答を抑制する制御性T細胞(TReg)との間にはバランスが存在する。本発明は、このTEff/TRegバランスをエフェクターT細胞活性に有利なように調節する抗体に關する。ICOSが高度に陽性である制御性T細胞の枯渴を引き起こす抗体は、TEffの抑制を緩和し、これによりエフェクターT細胞応答を促進する正味の効果を有するであろう。抗ICOS抗体の追加的又は相補的機序は、ICOS受容体レベルでのアゴニスト活性を介して、エフェクターT細胞応答を刺激することである。

40

【 0 0 0 7 】

50

制御性T細胞(TReg)と比較したエフェクターT細胞(TEff)上のICOSの相対的発現及びこれらの細胞集団の相対的活性は、インビボでの抗ICOS抗体の全体的な効果に影響を与えることになる。想定される作用様式は、エフェクターT細胞のアゴニズムとICOS陽性制御性T細胞の枯渇とを組み合わせる。これら2つの異なるT細胞集団に対する差別的効果及びさらには反対の効果は、それらの異なるレベルのICOS発現により達成可能であり得る。抗ICOS抗体の可変領域及び定常領域それぞれの二重操作により、CD8/TReg比に影響を及ぼすことによってエフェクターT細胞応答に正味の正の効果を発揮する分子を提供することができる。ICOS受容体を活性化するアゴニスト抗体の抗原結合ドメインは、抗体が結合する高発現細胞の下方調節及び/又はクリアランスを促進する抗体定常(Fc)領域と組み合わせられ得る。エフェクター陽性定常領域は、標的細胞(TReg)に対する細胞エフェクター機能を動員して、例えば、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)又は抗体依存性細胞貪食(ADCP)を促進するために使用され得る。したがって、抗体は、エフェクターT細胞活性化の促進と、免疫抑制性T制御性細胞の下方調節との両方を行うように作用し得る。ICOSはTEffよりもTReg上でより高度に発現されるので、治療バランスが達成され、それにより、TRegが枯渇すると同時にTEff機能が促進され、T細胞免疫応答(例えば、抗腫瘍応答又は他の治療的に有益なT細胞応答)の正味の増加がもたらされる。

【0008】

いくつかの前臨床及び臨床研究により、腫瘍微小環境(TME)における高いエフェクターT細胞対T-reg細胞の比と、全生存との間に強い正の相関が示された。卵巣癌患者では、CD8:T-reg細胞の比が、良好な臨床転帰の指標であることが報告されている[15]。イピルマブを受けた後の転移性黒色腫患者でも同様の所見が得られた[16]。前臨床試験では、TMEにおける高いエフェクター細胞:T-regの比が抗腫瘍応答と関連していることも示されている[43]。

【0009】

本発明は、ヒトICOSに結合する抗体を提供する。本抗体は、ICOS細胞外ドメインを標的とすることにより、ICOSを発現するT細胞に結合する。IFNの発現及び分泌を増加させる能力によって示されるように、ICOSにアゴニスト作用を有することでエフェクターT細胞の機能を増強するように設計された抗体の例が提供される。上述のように、抗ICOS抗体は、それらが結合する細胞を枯渇させるように操作されてもよく、これは、制御性T細胞を優先的に下方調節して、エフェクターT細胞応答に対するこれらの細胞の抑制効果を高め、それにより全体的なエフェクターT細胞応答を促進するはずである。それらの作用機序にかかわらず、本発明に従う抗ICOS抗体は、実施例に示すように、T細胞応答を刺激し、インビボでの抗腫瘍効果を有することが実験的に実証されている。所望のレベルのFcエフェクター機能を有するか、又は適切な場合にはそのようなエフェクター機能が不在である定常領域を含むもの等の適切な抗体フォーマットを選択することにより、本抗ICOS抗体は、エフェクターT細胞応答が有益であり、及び/又は制御性T細胞の抑制が所望される疾患及び状態の治療を含む様々な医学的状況での使用に合わせて調整され得る。

【0010】

例示的な抗体には、本明細書に記載されている配列であるSTIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、及びSTIM009が含まれる。

【0011】

本発明に従う抗体は、ヒトICOSへの結合についてSTIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、又はSTIM009の重鎖及び軽鎖相補性決定領域(CDR)を含む抗体(例えば、ヒトIgG1、又はscFv)、任意選択でSTIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、又はSTIM009のV

H及びV Lドメインを含む抗体と競合するものであってもよい。

【0012】

本発明に従う抗体は、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、及びSTIM009のいずれかの1つ以上のCDR(例えば、任意のこのような抗体の6つ全てのCDR、又は1セットのHCDR及び/若しくはLCDR)、又は本明細書に記載のそれらの変異型を含んでもよい。

【0013】

本抗体は、CDRであるHCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む抗体VHドメインと、CDRであるLCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む抗体VLドメインとを含んでもよく、HCDR3は、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、及びSTIM009から選択される抗体のHCDR3であるか、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有するそのHCDR3を含む。HCDR2は、選択された抗体のHCDR2であってもよく、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有するそのHCDR2を含んでもよい。HCDR1は、選択された抗体のHCDR1であってもよく、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有するそのHCDR1を含んでもよい。

10

【0014】

本抗体は、CDRであるHCDR1、HCDR2、及びLCDR3を含む抗体VLドメインと、CDRであるLCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む抗体VLドメインとを含んでもよく、LCDR3は、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、及びSTIM009から選択される抗体のLCDR3であるか、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有するそのLCDR3を含む。LCDR2は、選択された抗体のLCDR2であってもよく、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有するそのLCDR2を含んでもよい。LCDR1は、選択された抗体のLCDR1であってもよく、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有するそのLCDR1を含んでもよい。

20

【0015】

抗体は、
相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む抗体VHドメインと、
相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む抗体VLドメインと、を含んでもよく、

30

抗体重鎖CDRは、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のものであるか、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有する、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004若しくはSTIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009重鎖相補性決定領域を含み、及び/又は

40

抗体軽鎖CDRは、抗体STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のものであるか、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有する、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009軽鎖相補性決定領域を含む。

【0016】

抗体は、次の1セットの重鎖相補性決定領域(HCDR) HCDR1、HCDR2及びHCDR3：

HCDR1は、STIM003のHCDR1であり、

50

H C D R 2 は、S T I M 0 0 3 の H C D R 2 であり、
H C D R 3 は、S T I M 0 0 3 の H C D R 3 である
を含むか、又は 1、2、3、4、5 若しくは 6 個のアミノ酸改変を有する前記 H C D R セットを含む V H ドメインを含んでもよい。

【0017】

抗体は、次の 1 セットの軽鎖相補性決定領域 (L C D R) L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 :

L C D R 1 は、S T I M 0 0 3 の L C D R 1 であり、

L C D R 2 は、S T I M 0 0 3 の L C D R 2 であり、

L C D R 3 は、S T I M 0 0 3 の L C D R 3 である、

を含むか、又は 1、2、3 若しくは 4 個のアミノ酸改変を有する前記 L C D R セットを含む V L ドメインを含んでもよい。

10

【0018】

アミノ酸改変(例えば、置換)は、C D R の任意の残基位置にあり得る。アミノ酸改変の例は、抗 I C O S 抗体の変異型配列のアライメントを示す図 3 5、図 3 6、及び図 3 7 に示されるものである。したがって、S T I M 0 0 3 C D R 中のアミノ酸改変は、図 3 6 に示すように、抗体 C L - 7 4 5 7 0 又は抗体 C L - 7 1 6 4 2 中の対応する位置に存在する残基の置換であり得る。

【0019】

S T I M 0 0 3 C D R 中のアミノ酸改変の例は、I M G T に従って定義して、以下の残基位置での置換である :

20

【0020】

H C D R 1 における、I M G T の 2 8 位での置換、任意選択で保存的置換、例えば V 2 8 F。

【0021】

H C D R 2 における、I M G T の 5 9、6 3、及び/又は 6 4 位での置換。任意選択で、5 9 位での置換は N 5 9 I であり、6 3 位での置換は G 6 3 D であり、及び/又は 6 4 位での置換は D 6 4 N 及び/若しくは D 6 4 S である。

【0022】

H C D R 3 における、I M G T の 1 0 6、1 0 8、1 0 9、及び/又は 1 1 2 位での置換。任意選択で、1 0 6 位での置換は R 1 0 6 A であり、1 0 8 位での置換は F 1 0 8 Y であり、1 0 9 位での置換は Y 1 0 9 F であり、及び/又は 1 1 2 位での置換は H 1 1 2 N である。

30

【0023】

L C D R 1 における、3 6 位での置換、例えば、R 3 6 S。

【0024】

L C D R 3 における、1 0 5、1 0 8、及び/又は 1 0 9 位での置換。任意選択で、1 0 5 位での置換は H 1 0 5 Q であり、1 0 8 位での置換は D 1 0 8 G であり、及び/又は 1 0 9 位での置換は M 1 0 9 N 若しくは M 1 0 9 S である。

【0025】

本発明の抗体は、ヒト生殖細胞系遺伝子セグメント配列に対応する V H 及び/又は V L ドメインフレームワーク領域を含み得る。例えば、これは、S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 2、S T I M 0 0 2 - B、S T I M 0 0 3、S T I M 0 0 4、S T I M 0 0 5、S T I M 0 0 6、S T I M 0 0 7、S T I M 0 0 8、又は S T I M 0 0 9 の 1 つ以上のフレームワーク領域を含んでもよい。フレームワーク領域(単数又は複数)は、F R 1、F R 2、F R 3、及び/又は F R 4 であり得る。

40

【0026】

実施例 1 2 に記載されているように、表 E 1 2 - 1 は、組換えによりこれらの抗体の V H ドメインを生成したヒト生殖細胞系 V、D、及び J 遺伝子セグメントを示し、表 E 1 2 - 2 は、組換えによりこれらの抗体の V L ドメインを生成したヒト生殖細胞系 V 及び J 遺

50

伝子セグメントを示す。本発明の抗体VH及びVLドメインは、これらのV(D)Jセグメントに基づいてもよい。

【0027】

本発明の抗体は、

(i) ヒト重鎖V遺伝子セグメント、ヒト重鎖D遺伝子セグメント、及びヒト重鎖J遺伝子セグメントの組換えに由来するVHドメインであって、

Vセグメントが、IGHV1-18(例えば、V1-18^{*}01)、IGHV3-20(例えば、V3-20^{*}d01)、IGHV3-11(例えば、V3-11^{*}01)若しくはIGHVH2-5(例えば、V2-5^{*}10)であり、

D遺伝子セグメントが、IGHD6-19(例えば、IGHD6-19^{*}01)、IGHD3-10(例えば、IGHD3-10^{*}01)若しくはIGHD3-9(例えば、IGHD3-9^{*}01)であり、及び/又は

J遺伝子セグメントが、IGHJ6(例えば、IGHJ6^{*}02)、IGHJ4(例えば、IGHJ4^{*}02)若しくはIGHJ3(例えば、IGHJ3^{*}02)である、VHドメイン、又は

(ii) フレームワーク領域FR1、FR2、FR3、及びFR4を含むVHドメインであって、

FR1が、1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGHV1-18(例えば、V1-18^{*}01)、IGHV3-20(例えば、V3-20^{*}d01)、IGHV3-11(例えば、V3-11^{*}01)若しくはIGHVH2-5(例えば、V2-5^{*}10)と整列し、

FR2が、1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGHV1-18(例えば、V1-18^{*}01)、IGHV3-20(例えば、V3-20^{*}d01)、IGHV3-11(例えば、V3-11^{*}01)若しくはIGHVH2-5(例えば、V2-5^{*}10)と整列し、

FR3が、1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGHV1-18(例えば、V1-18^{*}01)、IGHV3-20(例えば、V3-20^{*}d01)、IGHV3-11(例えば、V3-11^{*}01)若しくはIGHVH2-5(例えば、V2-5^{*}10)と整列し、及び/又は

FR4が、1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGHJH6(例えば、JH6^{*}02)、IGHJH4(例えば、JH4^{*}02)若しくはIGHJH3(例えば、JH3^{*}02)と整列する、VHドメインを含んでもよい。

【0028】

VHドメインのFR1、FR2、及びFR3は、典型的には、同じ生殖細胞系V遺伝子セグメントと整列する。したがって、例えば、本抗体は、ヒト重鎖V遺伝子セグメントIGHV3-20(例えば、VH3-20^{*}d01)、ヒト重鎖D遺伝子セグメント及びヒト重鎖J遺伝子セグメントIGHJH4(例えば、JH4^{*}02)の組換えに由来するVHドメインを含んでもよい。抗体は、VHドメインフレームワーク領域FR1、FR2、FR3、及びFR4を含んでもよく、FR1、FR2、及びFR3は、各々、1、2、3、4、又は5個までのアミノ酸改変を有する、ヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGHV3-20(例えば、IGHV3-20^{*}d01)と整列し、FR4は、1、2、3、4、又は5個までのアミノ酸改変を有する、ヒト生殖細胞系J遺伝子セグメントIGHJH4(例えば、IGHJH4^{*}02)と整列する。アラインメントは正確であることもあるが、場合によっては、生殖細胞系から1つ以上の残基を突然変異させることができるので、アミノ酸置換、又はまれに欠失若しくは挿入が存在してもよい。

【0029】

本発明の抗体は、

(i) ヒト軽鎖V遺伝子セグメント及びヒト軽鎖J遺伝子セグメントの組換えに由来する抗体VLドメインであって、

10

20

30

40

50

Vセグメントが、IGKV2-28(例えば、IGKV2-28*01)、IGKV3-20(例えば、IGKV3-20*01)、IGKV1D-39(例えば、IGKV1D-39*01)若しくはIGKV3-11(例えば、IGKV3-11*01)であり、及び/又はJ遺伝子セグメントが、IGKJ4(例えば、IGKJ4*01)、IGKJ2(例えば、IGKJ2*04)、IGLJ3(例えば、IGKJ3*01)若しくはIGKJ1(例えば、IGKJ1*01)である、抗体VLDメイン、又は(i i)フレームワーク領域FR1、FR2、FR3、及びFR4を含む抗体VLDメインであって、

FR1が、1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGKV2-28(例えば、IGKV2-28*01)、IGKV3-20(例えば、IGKV3-20*01)、IGKV1D-39(例えば、IGKV1D-39*01)若しくはIGKV3-11(例えば、IGKV3-11*01)と整列し、

10

FR2が、1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGKV2-28(例えば、IGKV2-28*01)、IGKV3-20(例えば、IGKV3-20*01)、IGKV1D-39(例えば、IGKV1D-39*01)若しくはIGKV3-11(例えば、IGKV3-11*01)と整列し、

FR3が、1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGKV2-28(例えば、IGKV2-28*01)、IGKV3-20(例えば、IGKV3-20*01)、IGKV1D-39(例えば、IGKV1D-39*01)若しくはIGKV3-11(例えば、IGKV3-11*01)と整列し、及び/又は

20

FR4が、1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGKJ4(例えば、IGKJ4*01)、IGKJ2(例えば、IGKJ2*04)、IGKJ3(例えば、IGKJ3*01)若しくはIGKJ1(例えば、IGKJ1*01)と整列する、抗体VLDメインを含んでもよい。

【0030】

VLDメインのFR1、FR2、及びFR3は、典型的には、同じ生殖細胞系V遺伝子セグメントと整列する。したがって、例えば、本抗体は、ヒト軽鎖V遺伝子セグメントIGKV3-20(例えば、IGKV3-20*01)、ヒト軽鎖J遺伝子セグメントIGKJ3(例えば、IGKJ3*01)の組換えに由来するVHドメインを含んでもよい。抗体は、VLDメインフレームワーク領域FR1、FR2、FR3、及びFR4を含んでもよく、FR1、FR2、及びFR3は、各々、1、2、3、4、又は5個までのアミノ酸改変を有する、ヒト生殖細胞系V遺伝子セグメントIGKV3-20(例えば、IGKV3-20*01)と整列し、FR4は、1、2、3、4、又は5個までのアミノ酸改変を有する、ヒト生殖細胞系J遺伝子セグメントIGKJ3(例えば、IGKJ3*01)と整列する。アラインメントは正確であることもあるが、場合によっては、生殖細胞系から1つ以上の残基を突然変異させることができるので、アミノ酸置換、又はまれに欠失若しくは挿入が存在してもよい。

30

【0031】

本発明に従う抗体は、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004若しくはSTIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のVHドメインであるか、又はSTIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009の抗体VHドメイン配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を有する、抗体VHドメインを含んでもよい。アミノ酸配列同一性は、少なくとも95%であり得る。

40

【0032】

本抗体は、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004若しくはSTIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のVLDメインであるか、又はSTIM001、STIM0

50

02、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009の抗体VLドメイン配列と少なくとも90%同一であるアミノ酸配列を有する、抗体VLドメインを含んでもよい。アミノ酸配列同一性は、少なくとも95%であり得る。

【0033】

STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のHCDRを有するか、又はこれらのCDRの変異型を有する抗体VHドメインは、同じ抗体のLCDRを有するか、又はそれらのCDRの変異型を有する抗体VLドメインと対形成し得る。同様に、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のいずれかのVHドメイン又はそのVHドメインの変異型は、同じ抗体のVLドメイン、又は同じ抗体のVLドメイン変異型と対形成し得る。

10

【0034】

例えば、本抗体は、抗体STIM001 VHドメイン及びSTIM001 VLドメインを含んでもよい。別の例では、本抗体は、抗体STIM002 VHドメイン及びSTIM002 VLドメインを含んでもよい。別の例では、本抗体は、抗体STIM003 VHドメイン及びSTIM003 VLドメインを含んでもよい。

【0035】

抗体は、定常領域、任意選択でヒト重鎖及び/又は軽鎖定常領域を含んでもよい。例示的なアイソタイプは、IgG、例えば、ヒトIgG1である。

20

【0036】

本発明のさらなる態様は、本明細書に記載される抗体の配列をコードする核酸分子、そのような核酸を含む宿主細胞、及び宿主細胞を培養し、抗体を発現させ、任意選択で抗体を単離又は精製することによって抗体を産生する方法を含む。これにより発現された抗体が得られる。本明細書に記載される抗体のVH及びVLドメインも、同様に産生され得、また本発明の態様である。本抗体を含む薬学的組成物も提供される。

【0037】

本発明の他の態様は、ICOSノックアウト非ヒト動物、及びヒトICOSに対する抗体を生成するためのそれらの使用に関する。ICOSノックアウト動物では、例えば、ICOSをコードする遺伝子が動物のゲノムから不活性化又は欠失されているため、ICOSは発現されない。そのような動物は、非ヒト種由来のヒトICOS及びICOSの両方を認識する種交差反応性抗体を生成するために有用である。免疫寛容の正常な過程は、「自己」抗原を認識するリンパ球が、体内での自己免疫反応を防ぐために欠失又は不活性化されることを意味し、一方、非ヒトノックアウト動物における内因性ICOS抗原の不在は、組換えタンパク質として注入される場合、又はICOSを発現する細胞系又は小胞を使用する場合には、動物の免疫系がその抗原に対して寛容化されるべきではないため、ICOSに対する免疫応答を生じさせることができることを意味する。ノックアウト動物の免疫レパートリーは、その動物種からのICOSタンパク質を認識することができるリンパ球を含むべきである。ヒトICOSで免疫付与した非ヒト試験動物(例えば、マウス)は、このようにして、ヒトICOS及び試験動物ICOS(例えば、マウスICOS)の両方に結合する抗体を生成し得る。

30

40

【0038】

これには少なくとも2つの利点がある。第一に、種交差反応性抗体は、非ヒト試験動物における前臨床試験に使用してから、ヒト臨床試験における開発に進めることができる。第二に、ノックアウト動物の免疫系は、ICOS発現動物によって認識されるものと比較して、ヒトICOS分子上でより多数の可能性のあるエピトープを認識することができ、その結果、ノックアウト動物の免疫レパートリーが抗体のより優れた機能的多様性を含むようになり得る。異なる種由来の相同ICOS分子の配列間に類似性があるので、非ヒト

50

動物の免疫系は、通常、非ヒト動物ICOSのタンパク質と一致するヒトICOSタンパク質の領域に対して寛容化され得るが、この寛容化はノックアウト動物では起こらない。

【0039】

ICOSノックアウト動物を使用する能力、及び交差反応性抗体を生成するためのその利点は、実施例に示されている。ICOSノックアウト動物が首尾よく免疫付与されて、抗体応答を生み得ることは特に驚くべきことであり、これは、ICOS自体が、胚中心の形成及び維持等の免疫系生物学に関与し、ICOS陽性細胞であるT濾胞ヘルパー細胞に対するその役割を介して免疫応答の生成に寄与するためである[37]。これを考慮すると、ICOSノックアウト動物は、よくても不良な抗体応答した生まないことが予測され得る。驚くべきことに、ICOSノックアウトマウスにおいて強い力価が得られ、所望の交差反応性抗体を含む、高機能抗体が、抗体レパトリーの中から単離された。

10

【0040】

本発明の例示的な実施形態は、添付の特許請求の範囲に記載されている。

【図面の簡単な説明】

【0041】

これから、本発明のある特定の態様及び実施形態を、添付の図面を参照してより詳細に説明する。

【0042】

【図1】フローサイトメトリーによりCHO細胞上に発現されたヒト及びマウスICOSに対するICOS KO及び野生型Kymouseの血清力価の測定。データは、ヒトICOS発現MEF細胞及びヒトICOSタンパク質で各々免疫付与した、(a)ICOS KOマウス(KO)又は(b)野生型非ICOS KOマウス(HK又はHL)の血清中の免疫グロブリンが、CHO細胞上で発現されるヒトICOS(ヒトICOS結合)又はマウスICOS(マウスICOS結合)に結合する能力を示す。幾何平均は、フローサイトメトリーによって判定した場合の、細胞への免疫グロブリン結合の蛍光強度の尺度である。

20

【図2】ヒトICOS受容体を用いたヒトICOS-リガンド中和HTRF。C398.4A及びそれぞれのアイソタイプ対照と比較したヒトIgG1フォーマットのSTIM001~STIM009抗ICOS mAbの中和プロファイル。データは、4つの実験を代表する。

【図3】マウスICOS受容体を用いたマウスICOS-リガンド中和HTRF。C398.4A及びそれぞれのアイソタイプ対照と比較したヒトIgG1フォーマットのSTIM001~STIM009抗ICOS mAbの中和プロファイル。データは、3つの実験を代表する。

30

【図4】ヒトICOS受容体を用いたヒトICOS-リガンド直接中和HTRF。C398.4A及びそれぞれのアイソタイプ対照と比較したヒトIgG4.PEフォーマットのSTIM001~STIM009抗ICOS mAbの中和プロファイル。データは、4つの実験を代表する。

【図5】マウスICOS受容体を用いたマウスICOS-リガンド中和HTRF。C398.4A及びそれぞれのアイソタイプ対照と比較したヒトIgG4.PEフォーマットのSTIM001~STIM009抗ICOS mAbの中和プロファイル。データは、4つの実験を代表する。

40

【図6】a.新しく単離されたNK細胞をエフェクター細胞として使用することによるMJ細胞におけるSTIM001媒介性ADCCの濃度依存的な研究。エフェクター細胞及び標的細胞(エフェクター:標的比5:1)を抗体とともに2時間インキュベートした。溶解した標的細胞から放出されるBATDAを、製造業者のキット説明書に記載されているように測定した。HCは、ハイブリッドアイソタイプ対照である。b、c、d.新しく単離されたNK細胞をエフェクター細胞としたMJ細胞におけるSTIM001及びSTIM003媒介性ADCCの濃度依存的な研究。エフェクター細胞及び標的細胞(エフェクター:標的比5:1)を抗体とともに2時間インキュベートした。溶解した標的細胞から放出されるBATDAを、製造業者のキット説明書に記載されているように測定した。HCは、ハ

50

イブリッドアイソタイプ対照である。e、f、g、新しく単離されたNK細胞をエフェクター細胞とするICOSトランスフェクトCCR5-CEM細胞におけるSTIM001(hIgG1)及びSTIM003(hIgG1)媒介性ADCCの濃度依存的な研究。エフェクター細胞及び標的細胞(エフェクター：標的比5：1)を抗体とともに4時間インキュベートした。溶解した標的細胞から放出されるBATDAを、製造業者のキット説明書に記載されているように測定した。HCは、ハイブリッドアイソタイプ対照である。

【図7】抗ICOS抗体は、単剤療法として又は抗PDL1と組み合わせて投与した場合、CT26腫瘍成長を阻害し、生存率を改善させた。STIM001 mIgG2aは、mIgG1フォーマットよりも強力である。治癒したか又は不変状態にある動物の数が、各グラフに示される。

10

【図8】抗ICOS抗体は、単剤療法として又は抗PDL1と組み合わせて投与した場合、CT26腫瘍成長を阻害し、生存率を改善させた。STIM001 mIgG2aは、mIgG1フォーマットよりも強力である。治癒したか又は不変状態にある動物の数が、各グラフに示される。

【図9】抗ICOS抗体は、単剤療法として又は抗PDL1と組み合わせて投与した場合、CT26腫瘍成長を阻害し、生存率を改善させた。STIM001 mIgG2aは、mIgG1フォーマットよりも強力である。治癒したか又は不変状態にある動物の数が、各グラフに示される。

【図10】2×2組合せのCT26インビボ有効性試験。各処置群は、個々の動物(群当たりn=10)の腫瘍サイズを示す「スパイダープロット」によって表される。抗PDL1抗体と組み合わせると、STIM001は、腫瘍成長を遅延させ、処置動物の生存率を改善する。STIM001 mIgG2aの存在下で観察された有効性は、STIM001 mIgG1の有効性よりも優れている。最後に、抗PDL1 mIgG2aと組み合わせたSTIM001 mIgG2aは、抗腫瘍応答を引き起こす最も強力な組合せであり、動物の60%が疾患治癒した。各群について、疾患の治癒した動物の数が、それぞれのグラフの右上に示される。投薬は、6、8、10、13、15、及び17日目であった。

20

【図11】抗ICOS又は抗PDL1単独療法又は併用療法で処置した動物の経時的CT26腫瘍体積を示すグラフ。各処置群は、個々の動物(群当たりn=10)の腫瘍サイズを示す「スパイダープロット」によって表される。各群について、腫瘍サイズが100mm³未満(疾患の安定/治癒)の動物の数が、それぞれのグラフの右上に示される。投薬は、6、8、10、13、15、及び17日目に行われた。投与時間は、網掛け部分によって示される。(a)アイソタイプ対照、(b)抗PDL1 mIgG2a AbW、(c)抗ICOS STIM003 mIgG1、(d)抗ICOS STIM003 mIgG2a、(e)抗PDL1 mIgG2a AbW+STIM003 mIgG1、(f)抗PDL1 mIgG2a AbW+STIM003 mIgG2a。STIM003 mIgG2aは、抗PDL1(AbW)mIgG2aと組み合わせた場合、CT26腫瘍成長を有意に阻害する。

30

【図12】M1細胞インビトロ活性化アッセイ-ビーズ結合。抗ICOS C398.4A及びそれぞれのアイソタイプ対照と比較した、ビーズに結合したSTIM001、STIM002、及びSTIM003抗ICOS mAbの刺激プロファイル。データは2回の実験の平均を表す(C398.4Aアイソタイプ対照ビーズの場合、n=1)。

40

【図13】M1細胞インビトロ活性化アッセイ-プレート結合。抗ICOS C398.4A及びそれぞれのアイソタイプ対照と比較した、プレートに結合したSTIM001、STIM002、STIM003、及びSTIM004抗ICOS mAbの刺激プロファイル。データは2回の実験の平均を表す。

【図14】活性化T細胞へのSTIM001及びSTIM003 hIgG1結合のFACS分析。(a)は、活性化T細胞に結合する前標識抗体の用量応答の代表的な実験を示し、(b)は、裸の抗体の用量応答後の結合、続く二次標識抗体による検出を示す。表は、GraphPad Prismを使用して判定した関連EC50(M)を示す。

【図15】STIM001及びSTIM003は、腫瘍部位のT細胞コンパートメントに対するアイソタイプ依存性の効果を示した。合計1×10⁵ CT-26腫瘍細胞をB

50

a l b / c 雌マウスに皮下移植した。移植後 13 日目及び 15 日目に、動物に抗体又は生理食塩水を腹腔内投与した ($n = 10$ / 各群)。移植後 16 日目に、腫瘍を有する動物 ($n = 8$ / 各群) から脾臓及び腫瘍を採取し、FACS 分析のために解離させ染色した。A、CD4 細胞について陽性である CD3 細胞のパーセンテージ。B、CD8 細胞について陽性である CD3 細胞のパーセンテージ。C、Foxp3+ 及び CD25+ である CD4 細胞のパーセンテージ。D、Foxp3+ 及び CD25+ について陽性である脾臓における CD4 細胞のパーセンテージ。E、全 CD4 細胞における CD4 エフェクター細胞のパーセンテージ。F、CD8 エフェクター対 T-Reg 細胞の比。G、CD4 エフェクター対 T-Reg 細胞の比。GraphPad Prism を使用して統計分析を行い、抗体処置群全てを生理食塩水処置群と比較し、P 値を、有意 ($p < 0.05$) である場合に記録した。値は平均 + SD を示す ($n = 8$ マウス / 群)。F について、値は平均 + SEM を示す。

10

【図 16】T 細胞活性化アッセイ 1 における抗 CD3 / 抗 CD28 ダイナビーズで 3 日間共刺激した単離されたヒト T 細胞に対する STIM001 (hIgG1) 及び STIM003 (hIgG1) アゴニスト効果の濃度依存的な研究からのデータ例 (実施例 9b 参照)。IFN- γ 産生をアゴニスト効果の指標として使用した。STIM001 (hIgG1) 及び STIM003 (hIgG1) を、プレート結合、可溶性又は架橋可溶性 (Fc 結合 Ab) フォーマットで試験し、ハイブリッドアイソタイプ対照 (HC hIgG1) と比較した。プレート結合アッセイにおける比較のために、ハムスター抗体 C398.4A 及びそのアイソタイプ対照 (ハムスター IgG) を含めた。上のパネルは、プレート結合抗体からのデータを示す。下のパネルは、可溶性及び架橋フォーマットの IgG1 抗体からのデータを示す。左パネル及び右パネルは、それぞれ、2 人の独立したヒトドナー由来の T 細胞を使用する。

20

【図 17】T 細胞活性化アッセイ 1 における STIM001 のデータセット例 (実施例 9 参照)。データは、8 人の独立したヒトドナー由来の T 細胞について、ある所定の用量で STIM001 (hIgG1) 又はそのハイブリッドアイソタイプ対照 (HC IgG1) によって誘導された IFN- γ のレベルを示す。プレート結合抗体 (図 17a) は $5 \mu\text{g/ml}$ で使用した。可溶性抗体 (図 17b) は $15 \mu\text{g/ml}$ で使用した。各点は、番号 (例えば、D214) で識別される 1 人のドナーを表す。ウィルコクソン統計学的検定を使用して有意性を評価した。* は $p < 0.05$ 、** は $p < 0.01$ である。

【図 18】T 細胞活性化アッセイ 1 における STIM003 のデータセット例 (実施例 9 参照)。データは、8 人の独立した健康なヒトドナー由来の T 細胞について、ある所定の用量で STIM003 (hIgG1) 又はそのハイブリッドアイソタイプ対照 (HC hIgG1) によって誘導された IFN- γ のレベルを示す。可溶性抗体 (図 18a) は $15 \mu\text{g/ml}$ で使用した。プレート結合抗体 (図 18b) は $5 \mu\text{g/ml}$ で使用した。各点は、番号 (例えば、D214) で識別される 1 人のドナーを表す。ウィルコクソン統計学的検定を使用して有意性を評価した。* は $p < 0.05$ 、** は $p < 0.01$ である。

30

【図 19】T 細胞活性化アッセイ 2 からのデータ例 (実施例 9c 参照)。抗 CD3 / 抗 CD28 ダイナビーズで 3 日間刺激した後、培地中で 3 日間静置し、最後にプレートに結合した STIM001、STIM003、又は C398.4A Ab + / - CD3 Ab で再刺激した、単離されたヒト T 細胞に対する、STIM001 (hIgG1) 及び STIM003 (hIgG1) アゴニスト効果の研究。1 つの所定の用量による、及び CD3 Ab と組み合わせた (TCR 従事)、STIM001、STIM003 によって誘導された IFN- γ (A、B)、TNF- α (C、D)、及び IL-2 (E、F) のレベルと、それらのハイブリッド対照 IgG1 (A、C、E) 又は C398.4A のレベルと、そのハムスター IgG 対照 (B、D、F) のレベルとを比較したデータ。各点は、その番号 (例えば、D190) によって識別可能な独立したドナーを表す。Ab とそれらのアイソタイプ対照との間の統計学的有意性を、ウィルコクソン統計学的検定及び示される p 値を使用して評価した。STIM003 の濃度が HC IgG1 の濃度とわずかに異なっていた (5.4 対 $5 \mu\text{g/ml}$) ことに留意されたい。

40

【図 20】CT26 腫瘍、及びその表面上に ICOS を発現する腫瘍保有動物の脾臓における免疫細胞 (CD8 T-エフェクター、CD4 T-エフェクター、及び CD4 / Fox

50

P3 TReg細胞)のパーセンテージを示すグラフ。値は平均±SD(n=8)を示す。ノンパラメトリックのダンの多重比較検定を使用して、P値を計算した。NS = 有意ではない、*** = $p < 0.001$ 、**** = $p < 0.0001$ 。

【図21】平均蛍光強度(MFI)によって判定した、免疫細胞CD8 Tエフェクター、CD4 Tエフェクター、及びCD4/FoxP3 TRegの表面上のICOSの相対的発現。値は平均±SD(n=8)を示す。ノンパラメトリックのダンの多重比較検定を使用して、P値を計算した。**** = $p < 0.0001$ 、** = $p < 0.01$ 。脾臓(低)と腫瘍(高)との蛍光強度の差に留意されたい。

【図22】CT26腫瘍の微小環境における異なる免疫細胞のパーセンテージに対するSTIM001及びSTIM003の効果。* = $p < 0.05$ 。

10

【図23】CT26腫瘍の微小環境における制御性T細胞(CD4+/FoxP3+細胞)のパーセンテージに対する抗体STIM001及びSTIM003の効果。** = $p < 0.05$ 、**** = $p < 0.0001$ 。値は平均±SD(n=8)を示す。ノンパラメトリックのダンの多重比較検定を使用して、P値を計算した。

【図24】STIM001及びSTIM003 mIgG2は、CT26腫瘍におけるCD8エフェクターT細胞対TReg比及びCD4エフェクターT細胞対TReg比を有意に増加させる。比は、腫瘍中のエフェクター細胞のパーセンテージを、腫瘍中の制御性T細胞のパーセンテージで割ることによって判定した。

【図25】CT26腫瘍を有する動物の脾臓における免疫細胞のパーセンテージに対する抗体の効果。

20

【図26】CT26腫瘍を有する動物の脾臓における制御性T細胞(CD4+/FoxP3+細胞)のパーセンテージに対する抗体の効果。

【図27】CT26腫瘍を有する動物の脾臓における、(A)CD8エフェクター:TReg比、及び(B)CD4:TReg比。

【図28】AF647結合STIM001、STIM003及びhIgG1ハイブリッドコントロール(HC IgG1)の活性化モリシャスカニクイザルpan T細胞に対する表面染色。T細胞の異なるドナー源を使用したアッセイからのデータを、それぞれA及びBに示す。EC50値を表に示す。

【図29】CT26 Balb/CモデルのKaplan-Meier曲線。網掛け部は投薬ウィンドウを示す。ログランク $p < 0.0001$ 。

30

【図30】実施例20に記載の研究のためのマウスにおけるA20腫瘍の経時的な体積を示すグラフ。各処置群は、個々の動物(群当たりn=8)における腫瘍サイズを示すスパイダープロットによって表される。各群について、腫瘍の徴候のない(疾患の治癒を示す)動物の数がグラフの左下に示される。投与は、腫瘍細胞移植の8、11、15、18、22、25、及び29日目に行われ、投与時間は灰色の網掛け部分によって示される。対照群(図30)及び抗PD-L1処置群(図31)と比較して、STIM001 mIgG2a(図32)及びSTIM003 mIgG2a(図33)処置群は、A20腫瘍増殖の有意な阻害を示した。

【図31】実施例20に記載の研究のためのマウスにおけるA20腫瘍の経時的な体積を示すグラフ。各処置群は、個々の動物(群当たりn=8)における腫瘍サイズを示すスパイダープロットによって表される。各群について、腫瘍の徴候のない(疾患の治癒を示す)動物の数がグラフの左下に示される。投与は、腫瘍細胞移植の8、11、15、18、22、25、及び29日目に行われ、投与時間は灰色の網掛け部分によって示される。対照群(図30)及び抗PD-L1処置群(図31)と比較して、STIM001 mIgG2a(図32)及びSTIM003 mIgG2a(図33)処置群は、A20腫瘍増殖の有意な阻害を示した。

40

【図32】実施例20に記載の研究のためのマウスにおけるA20腫瘍の経時的な体積を示すグラフ。各処置群は、個々の動物(群当たりn=8)における腫瘍サイズを示すスパイダープロットによって表される。各群について、腫瘍の徴候のない(疾患の治癒を示す)動物の数がグラフの左下に示される。投与は、腫瘍細胞移植の8、11、15、18、22

50

、25、及び29日目に行われ、投与時間は灰色の網掛け部分によって示される。対照群(図30)及び抗PD-L1処置群(図31)と比較して、STIM001 mIgG2a(図32)及びSTIM003 mIgG2a(図33)処置群は、A20腫瘍増殖の有意な阻害を示した。

【図33】実施例20に記載の研究のためのマウスにおけるA20腫瘍の経時的な体積を示すグラフ。各処置群は、個々の動物(群当たりn=8)における腫瘍サイズを示すスパイダープロットによって表される。各群について、腫瘍の徴候のない(疾患の治癒を示す)動物の数がグラフの左下に示される。投与は、腫瘍細胞移植の8、11、15、18、22、25、及び29日目に行われ、投与時間は灰色の網掛け部分によって示される。対照群(図30)及び抗PD-L1処置群(図31)と比較して、STIM001 mIgG2a(図32)及びSTIM003 mIgG2a(図33)処置群は、A20腫瘍増殖の有意な阻害を示した。

10

【図34】抗PD-L1 mIgG2a抗体と単回用量又は複数回用量のSTIM003 mIgG2aとの組合せを使用した実施例11cに記載のCT26インビボ有効性試験からのデータ。各処置群は、個々の動物(群当たりn=8)の腫瘍サイズを示す「スパイダープロット」によって表される。各群について、疾患の治癒した動物の数が、それぞれのグラフの右下に示される。各抗体の投薬日数は、それぞれのグラフの下に矢印によって示される。

【図35】STIM001、STIM002B、並びに関連抗体CL-61091、CL-64536、CL-64837、CL-64841、及びCL-64841の対応する配列、並びに/又はヒト生殖細胞系列が異なる残基を示す、STIM002 VH(上)及びVL(下)ドメインのアミノ酸配列。配列番号はIMGTに従う。

20

【図36】関連抗体CL-71642及びCL-74570の対応する配列並びに/又はヒト生殖細胞系列が異なる残基を示す、STIM003 VH(上)及びVL(下)ドメインのアミノ酸配列。配列番号はIMGTに従う。配列決定から得られた抗体CL-71642のVLドメインが、N末端残基を伴わずにここに示される。この整列から、完全VHドメイン配列はN末端グルタミン酸を含むことが分かる。

【図37】STIM007の対応する配列及び/又はヒト生殖細胞系列が異なる残基を示す、STIM007 VH(上)及びVL(下)ドメインのアミノ酸配列。配列番号はIMGTに従う。

30

【図38】J558同系モデルにおけるSTIM003(抗ICOS)及びAbW(抗PD-L1)mIgG2a抗体の効果。各処置群は、個々の動物(群当たりn=10又はn=8)の腫瘍サイズを示す「スパイダープロット」によって表される。STIM003単独療法は、疾患から治癒した動物8匹のうち3匹でいくらかの有効性を示した。同様に、抗PD-L1は、このモデルにおいて有効であり、37日目までに動物8匹のうち6匹が疾患から治癒した。抗PD-L1抗体と組み合わせると、STIM003 mIgG2aは、腫瘍増殖を完全に阻害し、処置動物の生存率を改善した。各群について、疾患の治癒した動物の数が、それぞれのグラフの右下に示される。投薬日は点線で示される(11、15、18、22、25、及び29日目)。

【図39】腫瘍組織中の異なるTILS細胞サブタイプ上のICOS発現の定量(陽性細胞のパーセンテージ及び相対的発現/dMFI)。生理食塩水又は抗PD-L1若しくは抗PD-1代理抗体で処置した動物の免疫細胞サブタイプの、(A)ICOS発現について陽性である免疫細胞サブタイプの%、(B)ICOS dMFI(ICOS陽性細胞上の相対的ICOS発現)。0日目に100µlの1×10⁶生存細胞/mlをマウスに移植した(n=7又はn=8)。13日目及び15日目に、動物に130µgの抗体を腹腔内投与した。組織試料を単離し、16日目に分析した。CD4+/FOXP3+細胞は、TReg集団(右端側のグラフ)にのみ含まれ、全てFoxp3陰性である「エフェクター」CD4細胞(左端側のグラフ)から除外された。実施例22を参照されたい。

40

【図40】A20インビボ有効性試験のデータ。各処置群は、個々の動物(群当たりn=10)の腫瘍サイズを示す「スパイダープロット」によって表される。各群について、疾患の

50

治癒した動物の数が、それぞれのグラフに示される。複数回用量について、投薬は、点線で示される、8、11、15、18、22、及び25日目に行われた。単回用量については、動物は8日目にのみ腹腔内注射を受けた。(A)生理食塩水、(B)STIM003 mIgG2a複数回用量、(C)STIM003 mIgG2a単回用量。実施例23を参照されたい。

【図41】STIM003 mIgG2aの固定用量60 µgによる実施例23に報告される研究についてのKaplan-Meier曲線。SD = 単回用量、8日目。MD = 8日目からの複数回用量のBIW。

【図42】生理食塩水を投与したCT26腫瘍を有する動物(1時点あたりn = 4)由来の主要なT細胞サブセット(T-reg[CD4+/FoxP3+]、CD4 eff[CD4+/FoxP3-]細胞及びCD8+)上のICOS発現。免疫細胞の表現型決定を、処置後1、2、3、4、及び8日目に行い、全ての時点で全ての組織においてICOS発現について染色した。A~Dは、4つの異なる組織における全ての時点でのICOS陽性細胞のパーセンテージを示す。E~Hは、4つの異なる組織における全て時点でのICOS dMFI(相対的発現)を示す。実施例24を参照されたい。

【図43】STIM003 mIgG2a抗体に应答したTMEのT-reg枯渇を実証するFACS分析。CT-26腫瘍を有する動物を、腫瘍細胞移植後12日目にSTIM003の単回用量(6、60、又は200 µg)で処置した。組織(1時点あたりn = 4)を、処置後1、2、3、4、及び8日目にFACS分析のために採取した。全腫瘍におけるT-reg細胞(CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺)(A)のパーセンテージ及び血液中のT-reg細胞のパーセンテージ(B)を、異なる時点で示す。実施例24を参照されたい。

【図44】STIM003 mIgG2aに应答した、CD8:T-reg及びCD4 eff:T-regの比の増加。CT-26腫瘍を有する動物に、腫瘍細胞移植後12日目にSTIM003 mIgG2aの単回用量(6、60、又は200 µg)を与えた。組織(1時点あたりn = 4)を、処置後1、2、3、4、及び8日目にFACS分析のために採取し、T eff対T-reg比を計算した。(A)及び(B)は腫瘍及び血液中のCD8:T-reg比であり、(C)及び(D)は腫瘍及び血液中のCD4-eff:T-reg比である。実施例24を参照されたい。

【図45】STIM003処置は、TILによる脱顆粒及びTh1サイトカイン産生の増加と相関する。処置後8日目に、TILを単離し、FACS分析を行って、CD4及びCD8 T細胞(A~B)上のCD107a発現を検出した。平行して、解離した腫瘍由来の細胞をBrefeldin-Aの存在下で4時間静置し、細胞をT細胞マーカーについて染色し、細胞内染色のために透過処理して、IFN- 及びTNF- (C~H)を検出した。実施例24を参照されたい。

【発明を実施するための形態】

【0043】

ICOS

本発明に従う抗体は、ヒトICOSの細胞外ドメインに結合する。したがって、抗体は、ICOS発現Tリンパ球に結合する。本明細書で言及される「ICOS」又は「ICOS受容体」は、文脈によって別段の指示がない限り、ヒトICOSであり得る。ヒト、カニクイザル、及びマウスICOSの配列は、添付の配列表に示され、ヒトNCBI ID: NP_036224.1、マウスNCBI ID: NP_059508.2、及びカニクイザルGenBank ID: EHH55098.1として、NCBIから入手可能である。

【0044】

交差反応性

本発明に従う抗体は、好ましくは交差反応性であり、例えば、マウスICOS及びヒトICOSの細胞外ドメインに結合し得る。本抗体は、カニクイザル等の霊長類のICOSを含む他の非ヒトICOSに結合し得る。ヒトにおける治療的使用を意図した抗ICOS抗体はヒトICOSに結合しなければならないが、他の種のICOSに対する結合はヒト

臨床的状況において直接の治療的関連性を有しない。それにもかかわらず、本明細書のデータにより、ヒトICOS及びマウスICOSの両方に結合する抗体が、それらをアゴニスト及び枯渴分子として特に好適にする特性を有することが示される。これは、交差反応性抗体によって標的化される1つ以上の特定のエピトープから生じ得る。しかし、基礎となる理論にかかわらず、交差反応性抗体は高価値であり、前臨床及び臨床試験のための治療分子として優れた候補である。

【0045】

実験実施例で説明するように、マウスICOS(ICOSノックアウト)の発現を欠くようにマウスを操作したKymouse(商標)技術を使用して、本明細書に記載のSTIM抗体を生成した。ICOSノックアウトトランスジェニック動物、及び交差反応性抗体を生成するためのその使用は、本発明のさらなる態様である。

10

【0046】

抗体の種交差反応性の程度を定量する1つの方法は、ある種の抗原に対する、別の種の抗原と比較したその親和性の倍数差、例えば、ヒトICOS対マウスICOSに対する親和性の倍数差としてである。親和性は、本明細書の他箇所に記載されるFabフォーマットの抗体を用いてSPRによって判定される抗体-抗原反応の平衡解離定数を指す K_D として定量されてもよい。種交差反応性抗ICOS抗体は、ヒトICOS及びマウスICOSに結合する親和性の倍数差が、30倍以下、25倍以下、20倍以下、15倍以下、10倍以下、又は5倍以下であり得る。別の言い方をすれば、ヒトICOSの細胞外ドメインに結合する K_D は、マウスICOSの細胞外ドメインに結合する K_D の30倍、25倍、20倍、15倍、10倍、又は5倍以内であり得る。抗体はまた、両種の抗原に結合する K_D が閾値を満たす場合、例えば、ヒトICOSに結合する K_D 及びマウスICOSに結合する K_D が、両方とも、10mM以下、好ましくは5mM以下、より好ましくは1mM以下である場合、交差反応性であるとみなすことができる。 K_D は、10nM以下、5nM以下、2nM以下、又は1nM以下であってもよい。 K_D は、0.9nM以下、0.8nM以下、0.7nM以下、0.6nM以下、0.5nM以下、0.4nM以下、0.3nM以下、0.2nM以下、又は0.1nM以下であってもよい。

20

【0047】

ヒトICOS及びマウスICOSに結合するための交差反応性の別の尺度は、HTRFアッセイ等における、ICOS受容体に対するICOSリガンドの結合を中和する抗体の能力である(実施例8参照)。種交差反応性抗体の例が提供され、これには、各々が、HTRFアッセイにおいて、ヒトICOSに対するヒトB7-H2(ICOSリガンド)の結合を中和し、マウスICOSに対するマウスB7-H2の結合を中和するものとして確認された、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM005、及びSTIM006が含まれる。ヒト及びマウスのICOSに対して交差反応性の抗体が所望される場合に、これらの抗体又はその変異型のいずれかが選択され得る。種交差反応性抗ICOS抗体は、ヒトICOSのヒトICOS受容体に対する結合を阻害するIC50が、HTRFアッセイにおいて判定した場合、マウスICOSのマウスICOS受容体に対する結合を阻害するIC50の25倍、20倍、15倍、10倍、又は5倍以内であり得る。抗体はまた、ヒトICOSのヒトICOS受容体に対する結合を阻害するIC50とマウスICOSのマウスICOS受容体に対する結合を阻害するIC50とが、両方とも、1mM以下、好ましくは0.5mM以下、例えば、30mM以下、20nM以下、10nM以下であるである場合、交差反応性であるとみなすことができる。IC50は、5nM以下、4nM以下、3nM以下、又は2nM以下であってもよい。いくつかの場合には、IC50は、少なくとも0.1nM、少なくとも0.5nM、又は少なくとも1nMとなる。

30

40

【0048】

特異性

本発明に従う抗体は、好ましくはICOSに特異的である。つまり、本抗体は、標的タンパク質であるICOS(ヒトICOS、及び好ましくは上述のようなマウス及び/又はカ

50

ニクイザルICOS)上のそのエピトープに結合するが、CD28遺伝子ファミリー中の他の分子を含む、そのエピトープを提示しない分子には有意な結合を示さない。本発明に従う抗体は、好ましくはヒトCD28に結合しない。本抗体は、好ましくは、マウス又はカニクイザルCD28にも結合しない。

【0049】

CD28は、TCRを介した抗原認識の状況において、専門的な抗原提示細胞上のそのリガンドCD80及びCD86によって従事させられるときに、T細胞応答を共刺激する。本明細書に記載の抗体の様々なインビボでの使用のために、CD28に対する結合の回避は有利であると考えられる。抗ICOS抗体のCD28に対する非結合により、CD28がその天然のリガンドと相互作用し、T細胞活性化のための適切な共刺激シグナルを生成することが可能となるはずである。加えて、抗ICOS抗体のCD28に対する非結合により、スーパーアゴニズムの危険性が回避される。CD28の過剰刺激により、TCRを介した同族抗原の認識のための通常的必要条件なしに休止T細胞における増殖が誘発され得、特にヒト対象において、T細胞の暴走した活性化及びその結果としてのサイトカイン放出症候群が引き起こされる可能性がある。したがって、本発明に従う抗体によるCD28の非認識は、ヒトにおけるそれらの安全な臨床的使用の観点から利点を示す。

【0050】

本明細書の他箇所でも考察するように、本発明は多重特異性抗体(例えば、二重特異性抗体)に及ぶ。多重特異性(例えば、二重特異性)抗体は、(i)ICOSのための抗体抗原結合部位と、(ii)別の抗原(例えば、PD-L1)を認識するさらなる抗原結合部位(任意選択で本明細書に記載の抗体抗原結合部位)とを含んでもよい。個々の抗原結合部位の特異的結合を判定してもよい。したがって、ICOSに特異的に結合する抗体には、ICOSに特異的に結合する抗原結合部位を含む抗体、例えば、ICOS及びPD-L1に結合する二重特異性抗体が含まれ、これらの抗体中では、任意選択で、ICOSの抗原結合部位が、1つ以上の他の抗原の1つ以上の追加の結合部位をさらに含む抗原結合部位内に含まれる。

【0051】

親和性

ICOSに対する抗体の結合親和性が判定され得る。抗体のその抗原に対する親和性は、平衡解離定数 K_D 、抗体-抗原相互作用の会合又はオン速度(K_a)及び解離又はオフ速度(k_d)の比 K_a/k_d の観点から定量され得る。抗体-抗原結合のための K_D 、 K_a 、及び k_d は、表面プラズモン共鳴(SPR)を使用して測定することができる。

【0052】

本発明に従う抗体は、10 mM以下、好ましくは5 mM以下、より好ましくは1 mM以下の K_D でヒトICOSのECDメインに結合し得る。 K_D は、50 nM以下、10 nM以下、5 nM以下、2 nM以下、又は1 nM以下であってもよい。 K_D は、0.9 nM以下、0.8 nM以下、0.7 nM以下、0.6 nM以下、0.5 nM以下、0.4 nM以下、0.3 nM以下、0.2 nM以下、又は0.1 nM以下であってもよい。 K_D は、少なくとも0.001 nM、例えば、少なくとも0.01 nM、又は少なくとも0.1 nMであってもよい。

【0053】

親和性の定量は、Fabフォーマットの抗体によってSPRを使用して行われ得る。好適なプロトコルは以下の通りである。

1. 一級アミン結合等によって、抗ヒト(又は種が一致した他の抗体定常領域)IgGをバイオセンサチップ(例えば、GLMチップ)に結合させる。
2. 抗ヒトIgG(又は他の一致した種の抗体)を、例えばFabフォーマットの試験IgG抗体に曝露して、チップ上で試験抗体を捕捉する。
3. 例えば、5000 nM、1000 nM、200 nM、40 nM、8 nM、及び2 nM、並びに0 nM(すなわち、緩衝液のみ)の濃度の範囲でチップの捕捉表面上に試験抗原を通過させる。

4. 25 で表面プラズモン共鳴を使用して、試験抗原に対する試験抗体の結合の親和性

10

20

30

40

50

を判定する。緩衝液は、pH 7.6、150 mMのNaCl、0.05%界面活性剤(例えば、P20)、及び3 mMのEDTAであり得る。緩衝液は、任意選択で10 mMのHEPESを含有してもよい。HBS-EPを泳動用緩衝液として使用することができる。HBS-EPは、Teknova Inc(California、カタログ番号H8022)から入手可能である。

【0054】

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

10

【0055】

Biacore(商標)、Protein XPR36(商標)(Bio-Rad(登録商標))、及びKinExA(登録商標)(Sapidyne Instruments, Inc)等の様々なSPR装置が知られている。SPRの作業例は、実施例7に見出される。

【0056】

記載されたように、親和性は、Fabフォーマットの抗体を用い、抗原をチップ表面に結合させ、試験抗体を溶液中でFabフォーマットでチップ上に通過させて、モノマー性抗体-抗原相互作用の親和性を判定することによって、判定され得る。親和性はまた、任意の所望のpH、例えば、pH 5.5又はpH 7.6、及び任意の所望の温度、例えば、25 又は37 で判定することができる。実施例7に報告されるように、本発明に従う抗体は、1価(Fab)フォーマットの抗体を用いてSPRによって判定される場合、2 nM未満の見かけの親和性でヒトICOSに結合した。

20

【0057】

抗体のICOSに対する結合を測定する他の方法には、例えば、ICOSの外因性表面発現を伴う細胞(例えば、CHO細胞)又は内因性レベルのICOSを発現する活性化された初代T細胞を使用する蛍光標識細胞分取(FACS)が含まれる。FACSによって測定されるICOS発現細胞への抗体結合により、抗体がICOSの細胞外(EC)ドメインに結合できることが示される。

【0058】

ICOS受容体アゴニズム

30

ICOSリガンド(B7-H2としても知られるICOSL)は、ICOS受容体に結合する細胞表面発現分子である[17]。この細胞間リガンド-受容体相互作用は、T細胞表面上のICOSの多量体化を促進し、受容体を活性化し、T細胞における下流シグナル伝達を刺激する。エフェクターT細胞において、この受容体活性化により、エフェクターT細胞応答が刺激される。

【0059】

抗ICOS抗体は、ICOSのアゴニストとして作用し、受容体に対する天然のICOSリガンドのこの刺激効果を模倣し、さらにはこれを凌ぎ得る。そのようなアゴニズムは、T細胞上のICOSの多量体化を促進する抗体の能力に起因し得る。これに対する1つの機序は、抗体がT細胞表面上のICOSと隣接細胞(例えば、B細胞、抗原提示細胞、又は他の免疫細胞)上の受容体、例えばFc受容体との間の細胞間架橋を形成する場合である。別の機序は、複数(例えば、2つ)の抗原結合部位(例えば、2つのVH-VLドメイン対)を有する抗体が複数のICOS受容体分子を架橋し、それにより多量体化を促進する場合である。これらの機序の組合せが生じてもよい。

40

【0060】

アゴニズムは、架橋剤を含むか又はそれを排除して可溶性形態(例えば、免疫グロブリンフォーマット又は2つの空間的に離間した抗原結合部位、例えば、2つのVH-VL対))の抗体を使用して、又は繋がれた抗原結合部位のアレイを提供するために固体表面に結合した抗体を使用して、インビトロT細胞活性化アッセイにおいて試験され得る。アゴニズムアッセイは、MJ細胞(ATCC CRL-8294)等のヒトICOS陽性Tリンパ球細胞

50

胞株をかけるアッセイにおける活性化のための標的T細胞として使用し得る。試験抗体についてT細胞活性化の1つ以上の尺度を判定することができ、参照分子又は陰性対照と比較して、試験抗体によってもたらされたT細胞活性化に、参照分子又は対照と比較した統計学的に有意な($p < 0.05$)差異が存在するかどうかを判定することができる。T細胞活性化の1つの好適な尺度は、サイトカイン、例えば、IFN、TNF、又はIL-2の産生である。当業者は、適宜、好適な対照を含め、試験抗体と対照との間のアッセイ条件を標準化するであろう。好適な負の対照は、ICOSに結合しない同じフォーマットの抗体(例えば、アイソタイプ対照)、例えば、アッセイ系に存在しない抗原について特異的である抗体である。アッセイのダイナミックレンジ内で同起源のアイソタイプ対照と比較して試験対象について認められる有意差は、そのアッセイにおいて、抗体が、ICOS受容体のアゴニストとして作用することを示す。

10

【0061】

アゴニスト抗体は、T細胞活性化アッセイで試験したときに、
対照抗体と比較して、IFN産生の誘導について有意に低いEC50を有し、
対照抗体と比較して、有意に高い最大IFN産生を誘導し、
ICOSL-Fcと比較して、IFN産生の誘導について有意に低いEC50を有し、
ICOSL-Fcと比較して、有意に高い最大IFN産生を誘導し、
参照抗体C398.4Aと比較して、IFN産生の誘導について有意に低いEC50を有し、及び/又は

参照抗体C398.4Aと比較して、有意に高い最大IFN産生を誘導するものとして定義され得る。

20

【0062】

インビトロT細胞アッセイには、実施例13のビーズ結合アッセイ、実施例14のプレート結合アッセイ、及び実施例15の可溶性形態アッセイが含まれる。

【0063】

有意に低い又は有意に高い値は、例えば、参照又は対照値と比較して、最大で0.5倍異なる、最大で0.75倍異なる、最大で2倍異なる、最大で3倍異なる、最大で4倍異なる、又は最大で5倍異なることであり得る。

【0064】

したがって、一例では、ビーズ結合フォーマットの抗体を使用するM_J細胞活性化アッセイにおいて、本発明に従う抗体は、IFNの誘導について、対照と比較して有意に低い、例えば少なくとも2倍低いEC50を有する。

30

【0065】

ビーズ結合アッセイは、ビーズの表面に結合した抗体(及び、対照又は参照実験について、対照抗体、参照抗体、又はICOSL-Fc)を使用する。磁気ビーズを使用してもよく、様々な種類、例えば、トシル活性化DYNABEADS M-450(DYNAL Inc, 5 Delaware Drive, Lake Success, N.Y. 11042 Prod No. 140.03, 140.04)が市販されている。ビーズは、実施例13に記載のように、又は一般に、炭酸緩衝液(pH 9.6、0.2M)中にコーティング材を溶解することによって、又は当該技術分野で既知の他の方法によって、コーティングされてもよい。ビーズの使用は、ビーズ表面に結合したタンパク質の量を良好な程度の精度で判定することを好都合に可能にする。標準的なFcタンパク質定量化方法は、ビーズ上に結合したタンパク質の定量化のために使用され得る。アッセイのダイナミックレンジ内の妥当な標準に関して、任意の好適な方法が使用され得る。DELFAが実施例13で例示されるが、ELISA又は他の方法を使用することができる。

40

【0066】

抗体のアゴニズム活性はまた、初代ヒトTリンパ球においてエキスピボで測定することもできる。このようなT細胞におけるIFNの発現を誘導する抗体の能力は、ICOSアゴニズムの指標である。初代細胞を使用する2つのT細胞活性化アッセイが本明細書に記載される(実施例2、T細胞活性化アッセイ1及びT細胞活性化アッセイ2を参照された

50

い)。好ましくは、抗体は、T細胞活性化アッセイ1及び/又はT細胞活性化アッセイ2において、対照抗体と比較して、 $5\text{ }\mu\text{g/mL}$ のIFNの有意な($p < 0.05$)誘導を示す。上記のように、抗ICOS抗体は、かかるアッセイにおいて、ICOS-L又はC398.4よりも大きい程度までT細胞活性化を刺激し得る。したがって、抗体は、T細胞活性化アッセイ1又は2において、対照又は参照抗体と比較して、 $5\text{ }\mu\text{g/mL}$ の有意に($p < 0.05$)大きいIFNの誘導を示し得る。TNF又はIL-2誘導は、代替的なアッセイ読み出し値として測定され得る。

【0067】

抗ICOS抗体のアゴニズムは、例えば、腫瘍微小環境等の病理部位において、Teff細胞のために、インビボでTreg及びTeff細胞の集団のバランスを変えるその能力に貢献し得る。本明細書の他の箇所に考察されるように、活性化されたICOS陽性エフェクターT細胞による腫瘍細胞殺滅を増強する抗体の能力が判定され得る。

10

【0068】

T細胞依存性殺滅

エフェクターT細胞機能は、インビトロ共培養アッセイを使用して生物学的に関連する状況で判定することができ、このアッセイでは、腫瘍細胞に関連する免疫細胞と共にインキュベートして免疫細胞依存性殺滅を引き起こし、Teffによる腫瘍細胞殺滅に対する抗ICOS抗体の効果を観察する。

【0069】

活性化されたICOS陽性エフェクターT細胞による腫瘍細胞殺滅を増強する抗体の能力が判定され得る。抗ICOS抗体は、対照抗体と比較して有意に大きい($p < 0.05$)腫瘍細胞殺滅を刺激し得る。抗ICOS抗体は、ICOSリガンド又はC398.4抗体等の参照分子と比較して、そのようなアッセイにおいて類似又はより大きい腫瘍細胞殺滅を刺激し得る。同様の程度の腫瘍細胞殺滅とは、試験抗体についてのアッセイ読み出し値と参照分子の読み出し値との差が2倍未満であるものとして表され得る。

20

【0070】

ICOSリガンド - 受容体中和能

本発明に従う抗体は、ICOSとそのリガンドICOSLとの結合を阻害する抗体であってもよい。

【0071】

抗体がICOS受容体とそのリガンドとの結合を阻害する程度は、そのリガンド - 受容体中和能と呼ばれる。中和能は、別途記載されない限り、通常、 pM 単位の IC_{50} 値として表される。リガンド結合研究において、 IC_{50} は、最大特異的結合レベルの50%まで受容体結合を減少させる濃度である。 IC_{50} は、抗体濃度の対数の関数として特異的受容体結合%をプロットし、Prism(GraphPad)等のソフトウェアプログラムを使用してシグモイド関数をデータに適合させて IC_{50} 値を生成することにより、計算され得る。中和能は、HTRFアッセイにおいて判定されてもよい。リガンド - 受容体中和能についてのHTRFアッセイの詳細な作業例を実施例8に示す。

30

【0072】

IC_{50} 値は、複数の測定値の平均を表し得る。したがって、例えば、3回の実験の結果から IC_{50} 値を得てもよく、その後、平均の IC_{50} 値を計算し得る。

40

【0073】

抗体は、 IC_{50} が、リガンド - 受容体中和アッセイにおいて 1 mM 以下、例えば、 0.5 mM 以下であってもよい。 IC_{50} は、 30 nM 以下、 20 nM 以下、 10 nM 以下、 5 nM 以下、 4 nM 以下、 3 nM 以下、又は 2 nM 以下であってもよい。 IC_{50} は、少なくとも 0.1 nM 、少なくとも 0.5 nM 、又は少なくとも 1 nM であってもよい。

【0074】

抗体

実施例でより詳細に記載するように、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM

50

007、STIM008、及びSTIM009と称する特に関心対象である抗体を単離し特徴付けた。本発明の様々な態様において、文脈により別途示されない限り、抗体は、これらの抗体のいずれか、又はSTIM001、STIM002、STIM003、STIM004、及びSTIM005のサブセットから選択され得る。これらの抗体の各々の配列は添付の配列表に提供され、この中では、各抗体について、以下の配列が示される：それぞれ、VHドメインをコードするヌクレオチド配列、VHドメインのアミノ酸配列、VH CDR1アミノ酸配列、VH CDR2アミノ酸配列、VH CDR3アミノ酸配列、VLドメインをコードするヌクレオチド配列、VLドメインのアミノ酸配列； VL CDR1アミノ酸配列、VL CDR2アミノ酸配列、及びVL CDR3アミノ酸配列。本発明は、添付の配列表及び/又は図面に示される全ての抗体のVH及び/又はVLドメイン配列を有する抗ICOS抗体、並びにこれらの抗体のHCDR及び/又はLCDRを含み、任意選択で全長重鎖及び/又は全長軽鎖アミノ酸配列を有する抗体を包含する。

10

【0075】

STIM001は、配列番号363のCDRH1アミノ酸配列、配列番号364のCDRH2アミノ酸配列、及び配列番号365のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号366の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列を有する。VHドメインの重鎖核酸配列は、配列番号367である。STIM001は、配列番号370のCDRL1アミノ酸配列、配列番号371のCDRL2アミノ酸配列、及び配列番号372のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号373の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列を有する。VLドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号374である。VHドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、又は配列番号534のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。VLドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び538のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号368(重鎖核酸配列配列番号369)である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号375(軽鎖核酸配列配列番号376)である。

20

【0076】

STIM002は、配列番号377のCDRH1アミノ酸配列、配列番号378のCDRH2アミノ酸配列、及び配列番号379のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号380の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列を有する。VHドメインの重鎖核酸配列は、配列番号381である。STIM002は、配列番号384のCDRL1アミノ酸配列、配列番号385のCDRL2アミノ酸配列、及び配列番号386のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号387の軽鎖可変領域(VL)アミノ酸配列を有する。VLドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号388又は配列番号519である。VHドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、又は配列番号534のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。VLドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び538のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号382(重鎖核酸配列配列番号383)である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号389(軽鎖核酸配列配列番号390又は配列番号520)である。

30

40

【0077】

STIM002-Bは、配列番号391のCDRH1アミノ酸配列、配列番号392のCDRH2アミノ酸配列、及び配列番号393のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号394の重鎖可変領域(VH)アミノ酸配列を有する。VHドメインの重鎖核酸配列は、配

50

列番号 395 である。STIM002-B は、配列番号 398 の CDR L1 アミノ酸配列、配列番号 399 の CDR L2 アミノ酸配列、及び配列番号 400 の CDR L3 アミノ酸配列を含む、配列番号 401 の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_L ドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 402 である。V_H ドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号 532、又は配列番号 534 のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。V_L ドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び 538 のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 396 (重鎖核酸配列配列番号 397) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 403 (軽鎖核酸配列配列番号 404) である。

10

【0078】

STIM003 は、配列番号 405 の CDR H1 アミノ酸配列、配列番号 406 の CDR H2 アミノ酸配列、及び配列番号 407 の CDR H3 アミノ酸配列を含む、配列番号 408 の重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列を有する。V_H ドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 409 又は配列番号 521 である。STIM003 は、配列番号 412 の CDR L1 アミノ酸配列、配列番号 413 の CDR L2 アミノ酸配列、及び配列番号 414 の CDR L3 アミノ酸配列を含む、配列番号 415 の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_L ドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 4416 である。V_H ドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号 532、又は配列番号 534 のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。V_L ドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び 538 のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 410 (重鎖核酸配列配列番号 411 又は配列番号 522) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 417 (軽鎖核酸配列配列番号 418) である。

20

30

【0079】

STIM004 は、配列番号 419 の CDR H1 アミノ酸配列、配列番号 420 の CDR H2 アミノ酸配列、及び配列番号 421 の CDR H3 アミノ酸配列を含む、配列番号 422 の重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列を有する。V_H ドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 423 である。STIM004 は、配列番号 426 の CDR L1 アミノ酸配列、配列番号 427 の CDR L2 アミノ酸配列、及び配列番号 428 の CDR L3 アミノ酸配列を含む、配列番号 429 の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_L ドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 430 又は配列番号 431 である。V_H ドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号 532、又は配列番号 534 のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。V_L ドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び 538 のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 424 (重鎖核酸配列配列番号 425) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 432 (軽鎖核酸配列配列番号 433 又は配列番号 434) である。

40

【0080】

STIM005 は、配列番号 435 の CDR H1 アミノ酸配列、配列番号 436 の CDR H2 アミノ酸配列、及び配列番号 437 の CDR H3 アミノ酸配列を含む、配列番号 4

50

38の重鎖可変領域(V_H)アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号439である。STIM005は、配列番号442のCDRL1アミノ酸配列、配列番号443のCDRL2アミノ酸配列、及び配列番号444のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号445の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号446である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、又は配列番号534のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び538のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号440(重鎖核酸配列配列番号441)である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号447(軽鎖核酸配列配列番号448)である。

【0081】

STIM006は、配列番号449のCDRH1アミノ酸配列、配列番号450のCDRH2アミノ酸配列、及び配列番号451のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号452の重鎖可変領域(V_H)アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号453である。STIM006は、配列番号456のCDRL1アミノ酸配列、配列番号457のCDRL2アミノ酸配列、及び配列番号458のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号459の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号460である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、又は配列番号534のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び538のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号454(重鎖核酸配列配列番号455)である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号461(軽鎖核酸配列配列番号462)である。

【0082】

STIM007は、配列番号463のCDRH1アミノ酸配列、配列番号464のCDRH2アミノ酸配列、及び配列番号465のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号466の重鎖可変領域(V_H)アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号467である。STIM007は、配列番号470のCDRL1アミノ酸配列、配列番号471のCDRL2アミノ酸配列、及び配列番号472のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号473の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号474である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、又は配列番号534のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び538のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号468(重鎖核酸配列配列番号469)である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号475(軽鎖核酸配列配列番号476)である。

【0083】

STIM008は、配列番号477のCDRH1アミノ酸配列、配列番号478のCD

10

20

30

40

50

R H 2 アミノ酸配列、及び配列番号 4 7 9 の C D R H 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 4 8 0 の重鎖可変領域(V_H)アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 4 8 1 である。S T I M 0 0 8 は、配列番号 4 8 4 の C D R L 1 アミノ酸配列、配列番号 4 8 5 の C D R L 2 アミノ酸配列、及び配列番号 4 8 6 の C D R L 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 4 8 7 の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 4 8 8 である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列、例えば、配列番号 1 9 3、配列番号 1 9 5、配列番号 1 9 7、配列番号 1 9 9、配列番号 2 0 1、配列番号 2 0 3、配列番号 2 0 5、配列番号 3 4 0、配列番号 5 2 4、配列番号 5 2 6、配列番号 5 2 8、配列番号 5 3 0、配列番号 5 3 2、又は配列番号 5 3 4 のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列、例えば、配列番号 2 0 7、2 0 9、2 1 1、2 1 3、2 1 5、2 1 7、2 1 9、2 2 1、2 2 3、2 2 5、2 2 7、2 2 9、2 3 1、2 3 3、2 3 5、2 3 7、5 3 6、及び 5 3 8 のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 4 8 2 (重鎖核酸配列配列番号 4 8 3) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 4 8 9 (軽鎖核酸配列配列番号 4 9 0) である。

【 0 0 8 4 】

S T I M 0 0 9 は、配列番号 4 9 1 の C D R H 1 アミノ酸配列、配列番号 4 9 2 の C D R H 2 アミノ酸配列、及び配列番号 4 9 3 の C D R H 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 4 9 4 の重鎖可変領域(V_H)アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 4 9 5 である。S T I M 0 0 9 は、配列番号 4 9 8 の C D R L 1 アミノ酸配列、配列番号 4 9 9 の C D R L 2 アミノ酸配列、及び配列番号 5 0 0 の C D R L 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 5 0 1 の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 5 0 2 である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列、例えば、配列番号 1 9 3、配列番号 1 9 5、配列番号 1 9 7、配列番号 1 9 9、配列番号 2 0 1、配列番号 2 0 3、配列番号 2 0 5、配列番号 3 4 0、配列番号 5 2 4、配列番号 5 2 6、配列番号 5 2 8、配列番号 5 3 0、配列番号 5 3 2、又は配列番号 5 3 4 のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列、例えば、配列番号 2 0 7、2 0 9、2 1 1、2 1 3、2 1 5、2 1 7、2 1 9、2 2 1、2 2 3、2 2 5、2 2 7、2 2 9、2 3 1、2 3 3、2 3 5、2 3 7、5 3 6、及び 5 3 8 のうちのいずれかと組み合わせられてもよい。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 4 9 6 (重鎖核酸配列配列番号 4 9 7) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 5 0 3 (軽鎖核酸配列配列番号 5 0 4) である。

【 0 0 8 5 】

本発明に従う抗体は、天然又は部分的若しくは完全に合成によって産生された免疫グロブリンドメイン又は免疫グロブリンドメインを含む分子である。抗体は、抗体を天然に産生するのか、又は組換え D N A 技術によって創出される任意の種に由来するののかにかかわらず、また血清、B 細胞、ハイブリドーマ、トランスフェクトーマ、酵母、又は細菌から単離されるののかにかかわらず、I g G、I g M、I g A、I g D 若しくは I g E 分子又はその抗原特異的抗体断片(F a b、F (a b')₂、F v、ジスルフィド結合 F v、s c F v、単ドメイン抗体、閉構造多重特異性抗体、ジスルフィド結合 s c f v、ダイアボディ、又はこれらの組合せを含むが、これらに限定されない)であり得る。抗体は、常法を用いてヒト化することができる。抗体という用語は、抗体抗原結合部位を含む任意のポリペプチド又はタンパク質を網羅する。抗原結合部位(パラトープ)は、その標的抗原(I C O S)のエピトープに結合し、それに相補的である抗体の一部である。

【 0 0 8 6 】

「エピトープ」という用語は、抗体が結合する抗原の領域を指す。エピトープは、構造的又は機能的であると定義されてもよい。機能的エピトープは、一般に、構造的エピトープのサブセットであり、相互作用の親和性に直接寄与する残基を有する。エピトープはまた、立体配座、すなわち、非線形アミノ酸から構成されてもよい。ある特定の実施形態では、エピトープは、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリル基、又はスルホニル基等の分子の化学

10

20

30

40

50

的に活性な表面群である決定基を含んでもよく、またある特定の実施形態では、特定の三次元構造特性及び/又は特定の電荷特性を有してもよい。

【0087】

抗原結合部位は、抗体の1つ以上のCDRを含み、抗原に結合することができるポリペプチド又はドメインである。例えば、ポリペプチドは、CDR3(例えば、HCDR3)を含む。例えば、ポリペプチドは、抗体の可変ドメインのCDR1及び2(例えば、HCDR1及び2)又はCDR1~3(例えば、HCDR1~3)を含む。

【0088】

抗体抗原結合部位は、1つ以上の抗体可変ドメインによって提供されてもよい。一例では、抗体結合部位は、単一の可変ドメイン、例えば、重鎖可変ドメイン(VHドメイン)又は軽鎖可変ドメイン(VLドメイン)によって提供される。別の例では、結合部位は、VH/VL対又はそのような対の2つ以上を含む。したがって、抗体抗原結合部位は、VH及びVLを含み得る。

【0089】

本抗体は、定常領域を含む免疫グロブリン全体であってもよく、又は抗体断片であってもよい。抗体断片は、インタクトな抗体の一部、例えば、インタクトな抗体の抗原結合及び/又は可変領域を含む部分である。抗体断片の例には、

(i)VL、VH、CL、及びCH1ドメインからなる一価断片であるFab断片、(ii)ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのFab断片を含む二価断片であるF(ab')₂断片、

(iii)VH及びCH1ドメインからなるFd断片、

(iv)抗体の1つのアームのVL及びVHドメインからなるFv断片、

(v)VH又はVLドメインからなるdAb断片(全体が参照により本明細書に組み込まれるWard et al., (1989) Nature 341: 544-546)、並びに

(vi)特異的抗原結合機能を保持する単離された相補性決定領域(CDR)が挙げられる。

【0090】

抗体のさらなる例は、重鎖の二量体(5'-VH-(任意選択のヒンジ)-CH₂-CH₃-3')を含み、軽鎖を欠くH2抗体である。

【0091】

一本鎖抗体(例えば、scFv)は、一般的に使用される断片である。多重特異性抗体は、抗体断片から形成されてもよい。本発明の抗体は、適宜、任意のこのようなフォーマットを採用することができる。

【0092】

任意選択で、抗体免疫グロブリンドメインは、追加のポリペプチド配列、及び/又は標識、タグ、毒素若しくは他の分子に融合又は接合されてもよい。抗体免疫グロブリンドメインは、1つ以上の異なる抗原結合領域に融合又は接合されて、ICOSに加えて第2の抗原に結合することができる分子を提供し得る。本発明の抗体は、(i)ICOSのための抗体抗原結合部位と、(ii)別の抗原(例えば、PD-L1)を認識するさらなる抗原結合部位(任意選択で本明細書に記載の抗体抗原結合部位)とを含む、多重特異性抗体、例えば二重特異性抗体であってもよい。

【0093】

抗体は、通常、抗体VH及び/又はVLドメインを含む。抗体の単離されたVH及びVLドメインも本発明の一部である。抗体可変ドメインは、相補性決定領域(CDR、すなわち、CDR1、CDR2及びCDR3)及びフレームワーク領域(FR)のアミノ酸配列を含む抗体の軽鎖及び重鎖の部分である。したがって、VHドメイン及びVLドメインの各々の中には、CDR及びFRがある。VHドメインは1セットのHCDRのを含み、VLドメインは1セットのLCDRを含む。VHは、重鎖の可変ドメインを指す。VLは、軽鎖の可変ドメインを指す。各VH及びVLは、典型的には、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順でアミノ末端からカルボキシ末端に配置された、3つのCDR及び4つのFRから構成される。本発明で使用方法によれば、CDR及

10

20

30

40

50

びFRに割り当てられたアミノ酸位置は、Kabat(Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987 and 1991))に従って、又はIMGT命名法に従って、定義され得る。抗体は、VH CDR 1、CDR 2及びCDR 3、並びにフレームワークを含む抗体VHドメインを含んでもよい。代替的に又は追加的に、抗体は、VL CDR 1、CDR 2及びCDR 3、並びにフレームワークを含む抗体VLドメインを含んでもよい。本発明に従う抗体VH及びVLドメイン並びにCDRの例は、本開示の一部を成す添付の配列表に列挙されている通りである。配列表に示されるCDRは、IMGTシステムに従って定義される[18]。本明細書に開示される全てのVH及びVL配列、CDR配列、1セットのCDR並びに1セットのHCDR及び1セットのLCDRは、本発明の態様及び実施形態を表す。本明細書に記載されるように、「1セットのCDR」は、CDR 1、CDR 2及びCDR 3を含む。したがって、1セットのHCDR、HCDR 1、HCDR 2及びHCDR 3を指し、1セットのLCDR、LCDR 1、LCDR 2及びLCDR 3を指す。別途断りのない限り、「1セットのCDR」には、HCDR及びLCDRが含まれる。

10

【0094】

本発明の抗体は、1セットのCDRを形成するために、本明細書に記載の1つ以上のCDR、例えば、CDR 3を含み、任意にCDR 1及びCDR 2を含んでもよい。CDR又はCDRセットは、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008及びSTIM009のいずれかのCDR又はCDRセットであってもよく、本明細書に記載のそれらの変異型であってもよい。

20

【0095】

本発明は、抗体STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、及びSTIM009のいずれかのHCDR 1、HCDR 2、及び/若しくはHCDR 3、並びに/又はこれらの抗体のいずれかのLCDR 1、LCDR 2、及び/若しくはLCDR 3、例えば、1セットのCDRを含む抗体を提供する。本抗体は、これらの抗体のうちの1つのVH CDRセットを含んでもよい。本抗体は、任意に、これらの抗体のうちの1つのVL CDRセットを含んでもよく、VL CDRは、VH CDRと同じ抗体に由来する場合も、異なる抗体に由来する場合もある。

30

【0096】

開示されるHCDRセットを含むVHドメイン及び/又は開示されるLCDRセットを含むVLドメインも、本発明によって提供される。

【0097】

典型的には、VHドメインはVLドメインと対形成して抗体抗原結合部位を提供するが、以下でさらに考察するように、VHドメイン又はVLドメインのみを使用して抗原に結合させてもよい。STIM003 VHドメインは、STIM003 VLドメインと対形成してもよく、その結果、STIM003 VHドメイン及びVLドメインの両方を含む抗体抗原結合部位が形成される。類似の実施形態が、本明細書に開示される他のVH及びVLドメインについて提供される。他の実施形態では、STIM003 VHは、STIM003 VL以外のVLドメインと対形成する。軽鎖の乱雑性は、当該技術分野において十分に確立されている。繰り返したが、類似の実施形態が、本明細書に開示される他のVH及びVLドメインについて本発明によって提供される。

40

【0098】

したがって、抗体STIM001、STIM002、STIM003、STIM004、及びSTIM005のいずれかのVHは、抗体STIM001、STIM002、STIM003、STIM004、及びSTIM005のいずれかのVLと対形成してもよい。さらに、抗体STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM002、STIM003、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008

50

、及びSTIM009のいずれかのVHは、抗体STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、又はSTIM009のいずれかのVLと対形成してもよい。

【0099】

抗体は、抗体フレームワーク内に、1つ以上のCDR、例えば、1セットのCDRを含んでもよい。フレームワーク領域は、ヒト生殖細胞系列遺伝子セグメント配列であってもよい。したがって、本抗体は、ヒト生殖細胞系列フレームワーク中に1セットのHCDRを含むVHドメインを有するヒト抗体であってもよい。通常、本抗体は、例えばヒト生殖細胞系列フレームワーク中に1セットのLCDRを含むVLDメインも有する。抗体「遺伝子セグメント」、例えば、VH遺伝子セグメント、D遺伝子セグメント、又はJH遺伝子セグメントは、抗体のその部分が由来する核酸配列を有するオリゴヌクレオチドを指し、例えば、VH遺伝子セグメントは、FR1からCDR3の部分までのポリペプチドVHドメインに対応する核酸配列を含むオリゴヌクレオチドである。ヒトV、D、及びJ遺伝子セグメントは組み換えられてVHドメインを生成し、ヒトV及びJセグメントは組み換えられてVLDメインを生成する。Dドメイン又は領域は、抗体鎖の多様性ドメイン又は領域を指す。Jドメイン又は領域は、抗体鎖の接合ドメイン又は領域を指す。体細胞超変異は、対応する遺伝子セグメントと正確に一致又は整列しないフレームワーク領域を有する抗体VH又はVLDメインをもたらす得るが、配列アラインメントを使用して、最も近い遺伝子セグメントを同定し、これにより、特定のVH又はVLDメインが遺伝子セグメントのどの特定の組合せに由来するのかを同定することができる。抗体配列を遺伝子セグメントと整列させる場合、抗体アミノ酸配列を遺伝子セグメントによってコードされるアミノ酸配列と整列させてもよく、又は抗体ヌクレオチド配列を遺伝子セグメントのヌクレオチド配列と直接整列させてもよい。

【0100】

関連する抗体及びヒト生殖細胞系配列に対するSTIM抗体VH及びVLDメイン配列のアライメントを、図35、図36、及び図37に示す。

【0101】

本発明の抗体は、ヒト可変領域及び非ヒト(例えば、マウス)定常領域を含むヒト抗体又はキメラ抗体であってもよい。本発明の抗体は、例えば、ヒト可変領域を有し、任意選択でヒト定常領域も有する。

【0102】

したがって、抗体は、任意選択で定常領域又はその一部、例えば、ヒト抗体定常領域又はその一部を含む。例えば、VLDメインは、そのC末端で抗体軽鎖カップ又はラムダ定常ドメインに結合されてもよい。同様に、抗体VHドメインは、そのC末端で、任意の抗体アイソタイプ、例えば、IgG、IgA、IgE、及びIgM、並びにIgG1又はIgG4等のアイソタイプサブクラスのうちのいずれかに由来する免疫グロブリン重鎖定常領域の全部又は一部(例えば、CH1ドメイン又はFc領域)に結合されてもよい。

【0103】

ヒト重鎖定常領域の例を表S1に示す。

【0104】

本発明の抗体の定常領域は、代替的に、非ヒト定常領域であってもよい。例えば、抗体がトランスジェニック動物(それらの例は本明細書その他箇所に記載されている)において生成される場合、ヒト可変領域及び非ヒト(宿主動物)定常領域を含むキメラ抗体が産生されてもよい。いくつかのトランスジェニック動物は完全ヒト抗体を生成する。他のものは、キメラ重鎖及び完全ヒト軽鎖を含む抗体を生成するように操作されている。抗体が1つ以上の非ヒト定常領域を含む場合、これらをヒト定常領域と置き換えることでその免疫原性が低下するため、治療用組成物としてのヒトへの投与により好適な抗体を提供することができる。

【0105】

酵素パパインによる抗体の消化により、「F a b」断片としても知られている2つの同一の抗原結合断片、及び抗原結合活性を有しないが結晶化する能力を有する「F c」断片が生じる。「F a b」は、本明細書で使用される場合、重鎖及び軽鎖の各々の1つの定常ドメイン及び1つの可変ドメインを含む抗体の断片を指す。本明細書における「F c領域」という用語は、天然配列のF c領域及び変異型F c領域を含む、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。「F c断片」は、ジスルフィドによって共に保持された両方のH鎖のカルボキシ末端部分を指す。抗体のエフェクター機能は、ある種の細胞に見られるF c受容体(F c R)によっても認識される領域であるF c領域の配列によって決定される。酵素ペプシンによる抗体の消化により、抗体分子の2つのアームが連結したままであり、2つの抗原結合部位を含む、F(a b')₂断片が生じる。F(a b')₂断片は、抗原を架橋する能力を有する。

【0106】

「F v」は、本明細書で使用される場合、抗原認識部位及び抗原結合部位の両方を保持する抗体の最小断片を指す。この領域は、強い非共有結合又は共有結合によって会合した1つの重鎖可変ドメイン及び1つの軽鎖可変ドメインの二量体からなる。この構成において、各可変ドメインの3つのCDRが相互作用して、VH-VL二量体の表面上の抗原結合部位を規定する。集合的に、6つのCDRにより、抗体に抗原結合特異性が付与される。しかしながら、単一の可変ドメイン(又は抗原に特異的な3つのCDRのみを含むF vの半分)でさえも、抗原を認識して結合する能力を有するが、これは結合部位全体よりも親和性が低い。

【0107】

本明細書に開示される抗体は、血清半減期を増加又は減少させるように改変されてもよい。一実施形態では、突然変異T252L、T254S、又はT256Fのうちの1つ以上を導入して、抗体の生物学的半減期を増加させる。生物学的半減期は、米国特許第5,869,046号及び同第6,121,022号に記載されているように(これらに記載の修飾は参照により本明細書に組み込まれる)、重鎖定常領域CH₁ドメイン又はCL領域を改変して、IgGのF c領域のCH₂ドメインの2つのループから取ったサルベージ受容体結合エピトープを含めることによって増加させることもできる。別の実施形態では、本発明の抗体又は抗原結合断片のF cヒンジ領域を突然変異させて、抗体又は断片の生物学的半減期を減少させる。1つ以上のアミノ酸突然変異をF cヒンジ断片のCH₂-CH₃ドメイン界面領域に導入すると、結果、その抗体又は断片のブドウ球菌タンパク質A(SpA)結合が天然のF cヒンジドメインSpA結合と比較して損なわれる。血清半減期を増加させる他の方法は、当業者には既知である。したがって、一実施形態では、本抗体又は断片はPEG化される。別の実施形態では、本抗体又は断片は、アルブミン結合ドメイン、例えば、アルブミン結合単ドメイン抗体(dAb)に融合される。別の実施形態では、本抗体又は断片はPAS化される(すなわち、大きな流体力学的体積を有する非電荷ランダムコイル構造を形成するPAS(XL-Protein GmbH)から構成されるポリペプチド配列の遺伝子融合)。別の実施形態では、本抗体又は断片は、XTENylated(登録商標)/rPEG化される(すなわち、非正確な反復ペプチド配列(Amunix, Versartis)と治療用ペプチドとの遺伝子融合)。別の実施形態では、本抗体又は断片はELP化される(すなわち、ELP反復配列(PhaseBio)への遺伝子融合)。これらの様々な半減期を延長する融合は、Stroh1, BioDrugs(2015)29:215-239により詳細に記載されており、例えば表2及び6にあるこれらの融合は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0108】

本抗体は、安定性を増加させる修飾された定常領域を有してもよい。したがって、一実施形態では、重鎖定常領域は、Ser228Pro突然変異を含む。別の実施形態では、本明細書に開示される抗体及び断片は、システイン残基の数を改変するように修飾された重鎖ヒンジ領域を含む。この修飾は、軽鎖及び重鎖のアセンブリを容易にするために、又は抗体の安定性を増加若しくは減少させるために使用することができる。

【0109】

Fcエフェクター機能、ADCC、ADCP、及びCDC

上で考察した通り、抗ICOS抗体は、様々なアイソタイプにおいて、また異なる定常領域を伴って提供され得る。ヒトIgG抗体重鎖定常領域配列の例を表S1に示す。本抗体のFc領域は、Fc結合、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)活性、補体依存性細胞傷害(CDC)活性、及び抗体依存性細胞貪食(ADCP)活性に関して、主にそのエフェクター機能を決定する。これらの「細胞エフェクター機能」は、エフェクターT細胞機能とは異なり、Fc受容体を有する細胞の標的細胞部位への動員を伴い、抗体結合細胞の死滅をもたらす。ADCC及びCDCに加えて、ADCP機序[19]は、抗体結合T細胞を枯渇させ、それにより欠失のために高ICOS発現TRegを標的とする手段を表す。

10

【0110】

細胞エフェクター機能ADCC、ADCP、及び/又はCDCはまた、Fc領域を欠く抗体によって示され得る。抗体は、複数の異なる抗原結合部位を含むことができ、1つはICOSに向けられ、もう1つは標的分子に向けられ、その標的分子の従事により、ADCC、ADCP、及び/又はCDCが誘導される。例えば、リンカーによって接合される2つのscFv領域を含み、一方のscFvがエフェクター細胞を従事させることができる抗体である。

【0111】

本発明に従う抗体は、ADCC、ADCP、及び/又はCDCを呈するものであってもよい。或いは、本発明に従う抗体は、ADCC、ADCP、及び/又はCDC活性を欠いていてもよい。いずれの場合も、本発明に従う抗体は、1種以上のFc受容体に結合するFc領域を含んでもよく、又は任意選択でそれを欠いてもよい。異なる抗体フォーマットの使用、並びにFcR結合機能及び細胞エフェクター機能の存在又は非存在により、本明細書その他箇所考察されるように、特定の治療目的での使用に合わせて抗体を調整することが可能となる。

20

【0112】

いくつかの治療用途に好適な抗体フォーマットは、野生型ヒトIgG1定常領域を用いる。定常領域は、任意選択でADCC及び/又はCDC及び/又はADCP活性を有するエフェクター対応IgG1定常領域であってもよい。好適な野生型ヒトIgG1対応領域配列は、配列番号340(IGHG1*01)である。ヒトIgG1定常領域のさらなる例を表S1に示す。

30

【0113】

ヒト疾患のマウスモデルにおける候補治療抗体の試験のために、エフェクター陽性のヒト定常領域の代わりに、マウスIgG2a(mIgG2a)等のエフェクター陽性のマウス定常領域を含めてもよい。

【0114】

増強されたADCC及び/又はCDC及び/又はADCPのために定常領域を操作してもよい。

【0115】

Fc媒介性効果の効力は、様々な確立された技法によってFcドメインを操作することによって増強され得る。そのような方法により、ある特定のFc受容体に対する親和性を増加させ、それにより活性化増強の可能性のある多様なプロファイルを創出する。これは、1つ又は複数のアミノ酸残基の修飾によって達成することができる[20]。残基Asn297に特定の突然変異又は改変されたグリコシル化(例えば、EUインデックス付番のN297Q)を含むヒトIgG1定常領域は、Fc受容体に対する結合を増強することが示されている。例示的な突然変異は、ヒトIgG1定常領域(又は他のIgGアイソタイプにおける等価位置)について、239、332、及び330から選択される残基のうちの1つ以上である。したがって、抗体は、N297Q、S239D、I332E、及びA330L(EUインデックス付番)から独立して選択される1つ以上の突然変異を有するヒトIgG1定常領域を含み得る。FcRnに対する結合を増強するために三重突然変異(M252

40

50

Y/S 2 5 4 T/T 2 5 6 E)を使用してもよく、FcRn結合に影響を与える他の突然変異は[21]の表2において考察され、そのいずれも本発明において使用され得る。

【0116】

Fc受容体に対する親和性の増加は、例えば、フコシル化又は脱フコシル化変異型の下での生成によって、Fcドメインの天然のグリコシル化プロファイルを変更することによっても達成することができる[22]。非フコシル化抗体は、フコース残基を有しないFcの複合型N-グリカンのトリマンノシルコア構造を有する。Fc-N-グリカンからのコアフコース残基を欠くこれらの糖鎖操作抗体は、FcRIIIa結合能力の増強に起因してフコシル化等価物よりも強いADCCを示し得る。例えば、ADCCを増加させるために、ヒンジ領域の残基を変更して、Fc-ガンマRIIIに対する結合を増加させることができる[23]。したがって、抗体は、野生型ヒトIgG重鎖定常領域の変異型であるヒトIgG重鎖定常領域を含んでもよく、この変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、FcγRIIB及びFcγRIIAからなる群から選択されるヒトFc受容体に、野生型ヒトIgG重鎖定常領域がヒトFc受容体に結合する親和性よりも高い親和性で結合する。本抗体は、野生型ヒトIgG重鎖定常領域の変異型であるヒトIgG重鎖定常領域を含んでもよく、この変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、ヒトFcRIIBに、野生型ヒトIgG重鎖定常領域がヒトFcRIIBに結合する親和性よりも高い親和性で結合する。変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、変異型ヒトIgG1、変異型ヒトIgG2、又は変異型ヒトIgG4重鎖定常領域であり得る。一実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、G236D、P238D、S239D、S267E、L328F、及びL328E(EUインデックス付番システム)から選択される1つ以上のアミノ酸突然変異を含む。別の実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、S267EとL328F；P238DとL328E；P238Dと、E233D、G237D、H268D、P271G、及びA330Rからなる群から選択される1つ以上の置換；P238Dと、E233Dと、G237Dと、H268Dと、P271Gと、A330R；G236DとS267E；S239DとS267E；V262Eと、S267Eと、L328F；並びにV264Eと、S267Eと、L328F(EUインデックス付番システム)からなる群から選択されるアミノ酸突然変異のセットを含む。CDCの増強は、古典的な補体活性化カスケードの第1の成分であるC1qに対する親和性を増加させるアミノ酸変化によって達成され得る[24]。別のアプローチは、C1qに対するIgG3のより高い親和性を利用するヒトIgG1及びヒトIgG3セグメントから創出されたキメラFcドメインを創出することである[25]。本発明の抗体は、残基329、331、及び/又は322に突然変異したアミノ酸を含むことで、C1q結合及び/又はCDC活性の低下又は消失を変更し得る。別の実施形態では、本明細書に開示される抗体又は抗体断片は、残基231及び239に修飾を有するFc領域を含んでもよく、それにより、抗体の補体を固定する能力を変化させるようにアミノ酸が置換される。一実施形態では、本抗体又は断片は、E345K、E430G、R344D、及びD356R、特にR344D及びD356R(EUインデックス付番システム)を含む二重突然変異から選択される1つ以上の突然変異を含む定常領域を有する。

【0117】

WO2008/137915は、増強されたエフェクター機能を有する修飾されたFc領域を伴う抗ICOS抗体を記載している。これらの抗体は、VH及びVKドメイン及び野生型Fc領域を含む親抗体によって媒介されるADCC活性のレベルと比較して、増強されたADCC活性を媒介することが報告された。本発明に従う抗体は、その中に記載されているようなエフェクター機能を有するそのような変異型Fc領域を用いてもよい。

【0118】

抗体のADCC活性は、本明細書に記載のアッセイで判定され得る。抗ICOS抗体のADCC活性は、実施例10に記載したようにICOS陽性T細胞株を使用してインビトロで判定されてもよい。抗PD-L1抗体のADCC活性は、PD-L1発現細胞を使用するADCCアッセイにおいてインビトロで判定されてもよい。

【 0 1 1 9 】

ある特定の用途(例えば、ワクチン接種の背景において)では、Fcエフェクター機能を有しない抗体を使用することが好ましい場合がある。抗体は、定常領域なしで、又はFc領域なしで提供されてもよく、このような抗体フォーマットの例は、本明細書の他箇所に記載されている。或いは、抗体は、エフェクターナルである定常領域を有してもよい。抗体は、Fc受容体に結合しない重鎖定常領域を有してもよく、例えば、定常領域は、Leu235Glu突然変異(すなわち、野生型ロイシン残基がグルタミン酸残基に突然変異している)を含んでもよい。重鎖定常領域の別の任意選択の突然変異は、安定性を高めるSer228Proである。重鎖定常領域は、Leu235Glu突然変異及びSer228Pro突然変異の両方を含むIgG4であってもよい。この「IgG4-PE」重鎖定常領域は、エフェクターナルである。

10

【 0 1 2 0 】

代替的なエフェクターナルのヒト定常領域は、無効化されたIgG1である。無効化されたIgG1重鎖定常領域は、235位及び/又は237位(EUインデックス付番)にアラニンを含んでもよく、例えば、L235A及び/又はG237A突然変異(「LAGA」)を含むIgG1*01配列であってもよい。

【 0 1 2 1 】

変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、ヒトFcRIIIA、ヒトFcRIIA、又はヒトFcRIに対するIgGの親和性を低下させる1つ以上のアミノ酸突然変異を含んでもよい。一実施形態では、FcRIIBは、マクロファージ、単球、B細胞、樹状細胞、内皮細胞、及び活性化T細胞からなる群から選択される細胞上で発現される。一実施形態において、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、アミノ酸突然変異G236A、S239D、F243L、T256A、K290A、R292P、S298A、Y300L、V305I、A330L、I332E、E333A、K334A、A339T、及びP396L(EUインデックス付番システム)のうちの1つ以上を含む。一実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、S239D；T256A；K290A；S298A；I332E；E333A；K334A；A339T；S239DとI332E；S239Dと、A330Lと、I332E；S298Aと、E333Aと、K334A；G236Aと、S239Dと、I332E；及びF243Lと、R292Pと、Y300Lと、V305Iと、P396L(EUインデックス付番システム)からなる群から選択されるアミノ酸突然変異のセットを含む。一実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、S239D、A330L、又はI332Eアミノ酸突然変異(EUインデックス付番システム)を含む。一実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、S239D及びI332Eアミノ酸突然変異(EUインデックス付番システム)を含む。一実施形態では、変異型ヒトIgG重鎖定常領域は、S239D及びI332Eアミノ酸突然変異(EUインデックス付番システム)を含む変異型ヒトIgG1重鎖定常領域である。一実施形態では、本抗体又は断片は、アフコシル化Fc領域を含む。別の実施形態では、本抗体又はその断片は、脱フコシル化されている。別の実施形態では、本抗体又は断片は、フコシル化されている。

20

30

【 0 1 2 2 】

抗体は、1種以上のFc受容体に結合するが細胞エフェクター機能を誘導しない、すなわち、ADCC、CDC、又はADCP活性を媒介しない、重鎖定常領域を有してもよい。そのような定常領域は、ADCC、CDC、又はADCP活性を引き起こす原因となる特定のFc受容体(複数可)に結合できない場合がある。

40

【 0 1 2 3 】

抗体の生成及び修飾

抗体を同定及び調製するための方法は周知である。抗体は、ICOS若しくはその断片又は目的のICOS配列モチーフを含む合成ペプチドで免疫付与し、その後、任意選択で、ヒト又はヒト化抗体を産生するように定常領域及び/又は可変領域をヒト化した、トランスジェニックマウス(例えば、Kymouse(商標)、Velocimouse(登録商標)、Omnimouse(登録商標)、Xenomouse(登録商標)、HuMab Mouse

50

e(登録商標)、又はMeMo Mouse(登録商標))、ラット(例えば、Omni rat(登録商標))、ラクダ科動物、サメ、ウサギ、ニワトリ、又は他の任意の非ヒト動物を使用して生成され得る。一例では、当業者には明らかとなる通り、酵母、ファージ、又はリボソームディスプレイ等のディスプレイ技術を使用することができる。例えばディスプレイ技術を用いた標準的親和性成熟は、トランスジェニック動物、ファージディスプレイライブラリー、又は他のライブラリーから導出した抗体を単離した後のさらなるステップで行うことができる。好適な技術の代表的な例は、全体が参照により本明細書に組み込まれる、US 20120093818(Amgen, Inc)、例えば、段落[0309]~[0346]に示されている方法に記載されている。

【0124】

ヒトICOS抗原を用いたICOSノックアウト非ヒト動物への免疫付与により、ヒトICOS及び非ヒトICOSの両方を認識する抗体の生成が促進される。本明細書に記載され、実施例で説明されているように、ICOSノックアウトマウスは、ヒトICOSを発現する細胞で免疫付与して、マウスにおけるマウスICOS及びヒトICOSに対する抗体の産生を刺激することができ、これを、ヒトICOS及びマウスICOSに対する結合について回収及び試験することができる。このようにして、交差反応性抗体を選択することができ、これを本明細書に記載の他の望ましい特性についてスクリーニングし得る。内因性抗原(例えば、内因性マウス抗原)の発現が動物においてノックアウトされている抗原で動物に免疫付与することにより、抗原(例えば、ヒト抗原)に対する抗体を生成する方法は、ヒト可変ドメインを含む抗体を産生することができる動物において行われ得る。そのような動物のゲノムは、ヒト可変領域遺伝子セグメント、及び任意選択で内因性定常領域又はヒト定常領域をコードするヒト又はヒト化免疫グロブリン遺伝子座を含むように操作することができる。ヒト可変領域遺伝子セグメントの組換えにより、非ヒト又はヒト定常領域のいずれかを有し得るヒト抗体が生成される。非ヒト定常領域は、その後、抗体をヒトにおいてインビボで使用することが意図される場合、ヒト定常領域によって代置されてもよい。そのような方法及びノックアウトトランスジェニック動物は、WO 2013/061078に記載されている。

【0125】

一般に、Kymouse(商標)、VELOCIMMUNE(登録商標)、又は他のマウス若しくはラット(記載されるように、任意選択でICOSノックアウトマウス又はラット)を目的の抗原で攻撃し、抗体を発現するマウスから、リンパ細胞(B細胞等)を回収することができる。リンパ細胞を骨髓腫細胞株と融合させて不死ハイブリドーマ細胞株を調製し、そのようなハイブリドーマ細胞株をスクリーニングして、目的の抗原に特異的な抗体を産生するハイブリドーマ細胞株を同定してもよい。重鎖及び軽鎖の可変領域をコードするDNAを単離し、重鎖及び軽鎖の望ましいアイソタイプ定常領域に連結させてもよい。そのような抗体タンパク質は、CHO細胞等の細胞内で産生され得る。或いは、抗原特異的キメラ抗体又は軽鎖及び重鎖の可変ドメインをコードするDNAを、抗原特異的リンパ球から直接単離してもよい。

【0126】

最初に、ヒト可変領域及びマウス定常領域を有する高親和性キメラ抗体が単離される。これらの抗体は、親和性、選択性、アゴニズム、T細胞依存性殺滅、中和能、エピトープ等を含む望ましい特性について特徴付けられ、選択される。マウス定常領域は、任意選択で所望のヒト定常領域で代置されて、本発明の完全ヒト抗体、例えば、野生型又は修飾されたIgG1又はIgG4(例えば、全体が参照により本明細書に組み込まれるUS 2011/0065902中の配列番号751、752、753)を生成する。選択される定常領域は特定の用途に応じて変化し得るが、高親和性抗原結合特性及び標的特異特性は可変領域に属する。

【0127】

したがって、さらなる態様では、本発明は、ヒト又はヒト化免疫グロブリン遺伝子座を含むゲノムを有するトランスジェニック非ヒト哺乳動物を提供し、この哺乳動物はICO

10

20

30

40

50

Sを発現しない。哺乳動物は、例えば、ノックアウトマウス若しくはラット、又は他の実験動物種であってもよい。K y m o u s e (商標)等のトランスジェニックマウスは、ヒト重鎖及び軽鎖免疫グロブリン遺伝子座が、対応する内因性マウス免疫グロブリン遺伝子座に挿入されている。本発明に従うトランスジェニック哺乳動物は、そのような標的化された挿入を含むものであってもよく、或いは、そのゲノム中にランダムに挿入されるヒト重鎖及び軽鎖免疫グロブリン遺伝子座又は免疫グロブリン遺伝子が、内因性I g 遺伝子座以外の場所に挿入されるか、又は追加の染色体若しくは染色体断片に提供されてもよい。

【0128】

本発明のさらなる態様は、ICOSに対する抗体を産生させるためのそのような非ヒト哺乳動物の使用、並びにそのような哺乳動物において抗体又は抗体重鎖及び/若しくは軽鎖可変ドメインを産生させる方法である。

10

【0129】

ヒト及び非ヒトICOSの細胞外ドメインに結合する抗体を産生させる方法は、ヒト又はヒト化免疫グロブリン遺伝子座を含むゲノムを有する、ICOSを発現しないトランスジェニック非ヒト哺乳動物を提供することを含み、

(a)哺乳動物をヒトICOS抗原で免疫付与する(例えば、ヒトICOSを発現する細胞又は精製された組換えICOSタンパク質を用いて)こと、

(b)哺乳動物によって生成された抗体を単離すること、

(c)ヒトICOS及び非ヒトICOSに結合する能力について抗体を試験すること、並びに

(d)ヒトICOS及び非ヒトICOSの両方に結合する1つ以上の抗体を選択することを含み得る。

20

【0130】

ヒトICOS及び非ヒトICOSに結合する能力についての試験は、表面プラズモン共鳴、HTRF、FACS、又は本明細書に記載の任意の他の方法を使用して行われ得る。任意選択で、ヒト及びマウスICOSに対する結合親和性が判定される。ヒトICOS及びマウスICOSに対する結合の親和性又は親和性の倍数差が判定されてもよく、したがって、種交差反応性を示す抗体が選択され得る(選択基準として使用され得る親和性閾値及び倍数差は本明細書の他箇所に例示される)。それぞれヒト及びマウスICOSリガンドのヒト及びマウスICOS受容体に対する結合を阻害するための抗体の中和能又は中和能の倍数差が、例えばHTRFアッセイにおいて、交差反応性抗体をスクリーニングする方法として加えて又は代替的に判定されてもよい。ここでも、選択基準として使用され得る可能性のある閾値及び倍数差は、本明細書の他箇所に例示される。

30

【0131】

本方法は、免疫付与された哺乳動物と同じ種又は異なる種からの非ヒトICOSに結合する能力について抗体を試験することを含み得る。したがって、トランスジェニック哺乳動物がマウス(例えば、K y m o u s e (商標))である場合、抗体はマウスICOSに結合する能力について試験され得る。トランスジェニック哺乳動物がラットである場合、抗体はラットICOSに結合する能力について試験され得る。しかしながら、別の種の非ヒトICOSに対する単離された抗体の交差反応性を判定することも同等に有用であり得る。したがって、ヤギで生成された抗体が、ラット又はマウスICOSに対する結合について試験されてもよい。任意選択で、ヤギICOSに対する結合が、代わりに又は追加で判定されてもよい。

40

【0132】

他の実施形態では、トランスジェニック非ヒト哺乳動物は、ヒトICOSの代わりに、非ヒトICOS、任意選択で同じ哺乳動物種のICOSで免疫付与されてもよい(例えば、ICOSノックアウトマウスをマウスICOSで免疫付与されてもよい)。次いで、ヒトICOS及び非ヒトICOSに対する結合のための単離された抗体の親和性が同じ方法で判定され、ヒト及び非ヒトICOSの両方に結合する抗体が選択される。

【0133】

選択された抗体の抗体重鎖可変ドメイン及び/又は抗体軽鎖可変ドメインをコードする核

50

酸が単離されてもよい。そのような核酸は、完全な抗体重鎖及び/若しくは軽鎖、又は関連する定常領域(複数可)を有さない可変ドメイン(複数可)をコードし得る。記載したように、コードヌクレオチド配列はマウスの抗体産生細胞から直接得てもよく、或いはB細胞を不死化又は融合させて抗体を発現するハイブリドーマを生成し、このような細胞からコード核酸を得てもよい。任意選択で、次に、可変ドメイン(複数可)をコードする核酸を、ヒト重鎖定常領域及び/又はヒト軽鎖定常領域をコードするヌクレオチド配列に接合させて、ヒト抗体重鎖及び/又はヒト抗体軽鎖をコードする、例えば、重鎖及び軽鎖の両方を含む抗体をコードする核酸を提供する。本明細書その他箇所に記載されているように、このステップは、免疫付与された哺乳動物が、好ましくは、医薬品としてヒトに投与したときに免疫原性がより低くなる抗体を生成するようにヒト定常領域で代置される非ヒト定常領域を有するキメラ抗体を産生する場合に、特に有用である。特定のヒトアイソタイプ定常領域の提供もまた、抗体のエフェクター機能を判定するために重要であり、多数の好適な重鎖定常領域が本明細書で考察される。

10

【0134】

本明細書に記載のように、抗体の重鎖及び/又は軽鎖可変ドメインをコードする核酸に対する他の改変、例えば残基の変異及び変異の生成を行うことができる。

【0135】

単離された(任意選択で突然変異した)核酸は、記載したように宿主細胞、例えばCHO細胞に導入され得る。その後、抗体、又は抗体重鎖及び/若しくは軽鎖可変ドメインの発現のための条件下で、宿主細胞は任意の所望の抗体フォーマットで培養される。いくつかの可能な抗体フォーマット、例えば全免疫グロブリン、抗原結合断片、及び他の設計を本明細書に記載する。

20

【0136】

その配列が本明細書に具体的に開示されるVH及びVLドメイン又はCDRのいずれかの可変ドメインアミノ酸配列変異型は、記載したように、本発明に従って使用され得る。

【0137】

大規模製造のために抗体配列を最適化すること、精製を容易にすること、安定性を増強すること、又は所望の医薬製剤に含めるための適合性を改善することを含む変異型を作製することが望ましくあり得る理由は数多くある。タンパク質操作作業は、抗体配列中の1つ以上の標的残基で行われることができ、例えば、1つのアミノ酸を代替アミノ酸で置換し(任意選択で、可能であればCys及びMetを除いた、この位置で全ての天然型アミノ酸を含有する変異型を生成し)、最良の置換を判定するために機能及び発現への影響を監視する。例えば、新しい分子内又は分子間のシステイン-システイン結合の形成を通じて、製造上の困難を生じさせ得るように、残基をCys又はMetで置換するか、又はこれらの残基を配列に導入することは、いくつかの場合において望ましくない。鉛候補が選択され、製造及び臨床開発のために最適化されている場合、その抗原結合特性を可能な限り小さく、又は少なくとも親分子の親和性及び効力を保持することが一般に望ましい。しかし、親和性、交差反応性、又は中和効力等の重要な抗体特性を調節するために、変異型を生成することもできる。

30

【0138】

抗体は、開示された抗体のいずれかの1セットのH CDR及び/又はL CDRにおいて、開示されたH CDR及び/又はL CDRセット内の1つ以上のアミノ酸変異を有するものを含み得る。変異は、アミノ酸置換、欠失、又は挿入であり得る。したがって、例えば、開示されたH CDR及び/又はL CDRセット内に1つ以上のアミノ酸置換が存在し得る。例えば、H CDR及び/又はL CDRのセット内に、最大12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2つの変異、例えば置換が存在し得る。例えば、H CDR3で、最大6、5、4、3、又は2つの変異、例えば置換が存在し得て、及び/又はL CDR3で、最大6、5、4、3、又は2つの変異、例えば置換が存在し得る。抗体は、本明細書中の任意のSTIM抗体について示されるHCDRセット、LCDRセット、又は6つの(H及びL)CDRセットを含み得るか、又は1つ又は2つの保存的置換を有す

40

50

る C D R セットを含み得る。

【 0 1 3 9 】

1 つ以上のアミノ酸変異は、本明細書に開示される抗体 V H 又は V L ドメインのフレームワーク領域に任意選択で作製され得る。例えば、対応するヒト生殖細胞系セグメント配列とは異なる 1 つ以上の残基が、生殖細胞系に復帰されることができる。例示的な抗 I C O S 抗体の V H 及び V L ドメインに対応するヒト生殖細胞系遺伝子セグメント配列を、表 E 1 2 - 1、表 E 1 2 - 2、及び表 E 1 2 - 3 に示し、対応する生殖細胞系配列に対する抗体 V H 及び V L ドメインの整列を、図像に示す。

【 0 1 4 0 】

抗体は、添付の配列表に示される抗体のいずれかの V H ドメインと少なくとも 6 0、7 0、8 0、8 5、9 0、9 5、9 8、又は 9 9 % のアミノ酸配列同一性を有する V H ドメインを含み得、及び/又はこれらの抗体のいずれかの V L ドメインと少なくとも 6 0、7 0、8 0、8 5、9 0、9 5、9 8、又は 9 9 % のアミノ酸配列同一性を有する V L ドメインを含み得る。2 つのアミノ酸配列の % 同一性を計算するために使用され得るアルゴリズムには、例えば B L A S T、F A S T A、又は S m i t h - W a t e r m a n アルゴリズム、例えばデフォルトパラメータを使用することが含まれる。特定の変異型は、1 つ以上のアミノ酸配列改変(アミノ酸残基の付加、欠失、置換、及び/又は挿入)を含み得る。

【 0 1 4 1 】

改変は、1 つ以上のフレームワーク領域及び/又は 1 つ以上の C D R で行われ得る。変異型は、C D R 変異誘発によって任意選択で提供される。改変は、通常、機能の喪失をもたらさないもので、このように改変されたアミノ酸配列を含む抗体は、I C O S を結合する能力を保持し得る。例えば、本明細書に記載されるアッセイで測定されるように、改変が行われない抗体と同じ定量的結合能力を保持し得る。このように改変されたアミノ酸配列を含む抗体は、I C O S を結合する改善した能力を有し得る。

【 0 1 4 2 】

改変は、1 つ以上のアミノ酸残基を非天然型又は非標準アミノ酸で置換すること、1 つ以上のアミノ酸残基を非天然型又は非標準形態に改変すること、又は 1 つ以上の非天然型又は非標準アミノ酸を配列に挿入することを含み得る。本発明の配列における改変の数及び位置の例は、本明細書の他の箇所に記載されている。天然型アミノ酸は、標準の 1 文字コードによって G、A、V、L、I、M、P、F、W、S、T、N、Q、Y、C、K、R、H、D、E として識別される 2 0 個の「標準」L - アミノ酸を含む。非標準アミノ酸は、ポリペプチド主鎖に組み込まれ得るか、又は既存のアミノ酸残基の修飾に起因し得る任意の他の残基を含む。非標準アミノ酸は、天然型でも非天然型でもよい。

【 0 1 4 3 】

本明細書で使用する「変異体」という用語は、1 つ以上のアミノ酸又は核酸の欠失、置換、又は付加による親ポリペプチド又は核酸とは異なるが、親分子の 1 つ以上の特定の機能又は生物学的活性を保持するペプチド又は核酸を指す。アミノ酸置換には、アミノ酸が異なる天然型アミノ酸残基で置き換えられる改変が含まれる。かかる置換は、「保存的」として分類され得、この場合、ポリペプチド中に含有されるアミノ酸残基は、極性、側鎖官能性、又はサイズのいずれかについて類似の特徴を有する別の天然型アミノ酸で置き換えられる。かかる保存的置換は、当該技術分野で周知である。本発明に包含される置換はまた、「非保存的」であってもよく、ここでは、ペプチド中に存在するアミノ酸残基は、異なる基からの天然型アミノ酸等の異なる特性を有するアミノ酸で置換(例えば、荷電又は疎水性アミノ酸をアラニンで置換)されるか、或いは、天然型アミノ酸は、非在来型アミノ酸で置換される。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は保存的である。また、ポリヌクレオチド又はポリペプチドに関して使用される場合、変異型という用語内に包含されて、参照ポリヌクレオチド又はポリペプチドと比較して、それぞれ(例えば、野生型ポリヌクレオチド又はポリペプチドと比較して)、1 次、2 次、又は 3 次構造において変化し得るポリヌクレオチド又はポリペプチドを指す。

【 0 1 4 4 】

10

20

30

40

50

いくつかの態様では、当該技術分野で周知の方法を用いて単離又は生成された「合成変異型」、「組換え変異型」、又は「化学的に修飾された」ポリヌクレオチド変異型若しくはポリペプチド変異型を使用することができる。「修飾された変異型」は、以下に記載するように、保存的又は非保存的アミノ酸変化を含み得る。ポリヌクレオチドの変化は、参照配列によってコードされるポリペプチド中のアミノ酸の置換、付加、欠失、融合、及びトランケーションをもたらすことができる。いくつかの態様の使用は、例えば、ヒトタンパク質中で通常は起こらないオルニチンの挿入であるが、これに限定されない、変異型の基盤であるペプチド配列中で通常は起こらない、アミノ酸及び他の分子の挿入及び置換を含む)挿入変異型、欠失変異型、又はアミノ酸の置換を有する置換変異型を含む。「保存的置換」という用語は、ポリペプチドに記載する場合、ポリペプチドの活性を実質的に変化させないポリペプチドのアミノ酸組成の変化を指す。例えば、保存的置換は、アミノ酸残基を、類似の化学的特性(例えば、酸性、塩基性、正又は負に帯電した、極性又は非極性等)を有する異なるアミノ酸残基に、置換することを指す。保存的アミノ酸置換は、ロイシンのイソロイシン若しくはバリンによる代置、アスパラギン酸塩のグルタミン酸塩による代置、又はトレオニンのセリンによる代置を含む。機能的に類似したアミノ酸を提供する保存的置換表は、当該技術分野で周知である。例えば、以下の6つの群は、互いについて保存的置換であるアミノ酸を各々含有する：1)アラニン(A)、セリン(S)、トレオニン(T)；2)アスパラギン酸(D)、グルタミン酸(E)；3)アスパラギン(N)、グルタミン(Q)；4)アルギニン(R)、リジン(K)；5)イソロイシン(I)、ロイシン(L)、メチオニン(M)、バリン(V)；及び6)フェニルアラニン(F)、チロシン(Y)、トリプトファン(W)。(Creighton, Proteins, W. H. Freeman and Company (1984)を参照されたく、参照によりその全体が組み込まれる。)一部の実施形態では、1個のアミノ酸又はごく一部のアミノ酸を改変、付加、又は欠失する個々の置換、欠失、又は付加も、その変化がペプチドの活性を低減しない場合は「保存的置換」と見なされ得る。挿入又は欠失は、典型的には、約1～5個のアミノ酸の範囲である。保存的アミノ酸の選択は、ペプチドにおける置換されるアミノ酸の位置、例えば、アミノ酸がペプチドの外側にあり溶媒に露出するか、又は内側にあり溶媒に露出しないかに基づいて選択してもよい。

【0145】

既存のアミノ酸を置換することになるアミノ酸を、溶媒への露出を含む、その既存のアミノ酸の位置(すなわち、アミノ酸が溶媒に露出するか、又は溶媒に露出しない内側に位置するアミノ酸と比較して、ペプチド又はポリペプチドの外面に存在するか)に基づいて選択し得る。かかる保存的アミノ酸置換の選択は、例えば、Dordo et al, J. Mol. Biol., 1999, 217, 721-739 and Taylor et al., J. Theor. Biol. 119(1986); 205-218及びS. French and B. Robson, J. Mol. Evol. 19(1983)171で開示されるように、当該技術分野で周知である。したがって、タンパク質又はペプチドの外側にあるアミノ酸(即ち、溶媒に露出するアミノ酸)に好適な保存的アミノ酸置換を選択することができる、例えば、限定的ではなく、以下の置換を使用することができる：YのFによる置換、TのS又はKによる置換、PのAによる置換、EのD又はQによる置換、NのD又はGによる置換、RのKによる置換、GのN又はAによる置換、TのS又はKによる置換、DのN又はEによる置換、IのL又はVによる置換、FのYによる置換、SのT又はAによる置換、RのKによる置換、GのN又はAによる置換、KのRによる置換、AのS、K、又はPによる置換。

【0146】

代替的な実施形態では、タンパク質又はペプチドの内側にあるアミノ酸に好適な含まれる保存的アミノ酸置換を選択することもでき、例えば、タンパク質又はペプチドの内側にあるアミノ酸(即ち、アミノ酸が溶媒に露出しない)に好適な保存的置換を使用することができる、例えば、以下の保存的置換を使用することができる：YがFで置換され、TがA又はSで置換され、IがL又はVで置換され、WがYで置換され、MがLで置換され、NがDで置換され、GがAで置換され、TがA又はSで置換され、DがNで置換され、IがL

又はVで置換され、FがY又はLで置換され、SがA又はTで置換され、AがS、G、T又はVで置換される。一部の実施形態では、非保存的アミノ酸置換も、変化形の範囲内に包含される。

【0147】

本発明は、添付の配列表に示される抗体VH及び/又はVLドメインのVH及び/又はVLドメイン変異体を含有する抗体を産生する方法を含む。かかる抗体は、

(i)親抗体VHドメインのアミノ酸配列中の1つ以上のアミノ酸の付加、欠失、置換、又は挿入によって、親抗体VHドメインのアミノ酸配列変異型である抗体VHドメインを提供することであって、

親抗体VHドメインは、抗体STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、及びSTIM009のいずれかのVHドメイン又はそれらの抗体のいずれかの重鎖相補性判定領域を含むVHドメインである、提供することと、

(ii)任意選択で、そのように提供されたVHドメインをVLドメインと組み合わせて、VH/VLの組合せを提供することと、

(iii)VHドメイン又はそのように提供されたVH/VLドメインの組合せを試験して、1つ以上の所望の特性を有する抗体を同定することと、を含む方法によって産生され得る。

【0148】

所望の特性には、ヒトICOSに対する結合、マウスICOSに対する結合、及びカニクイザルICOSのような他の非ヒトICOSに対する結合が含まれる。ヒト及び/又はマウスICOSに匹敵する又はそれより高い親和性を有する抗体を同定することができる。他の所望の特徴には、免疫抑制性TRegの枯渇を介して間接的に、又はTエフェクター細胞に対するICOSシグナル伝達活性化を介して直接的に、エフェクターT細胞機能を増加させることが含まれる。所望の特性を有する抗体を同定することは、そのいずれかが本明細書に記載のアッセイにおいて判定され得る、その親和性、交差反応性、特異性、ICOS受容体アゴニズム、中和効力、及び/又はT細胞依存性殺滅の促進等の本明細書に記載の機能的属性を有する抗体を同定することを含み得る。

【0149】

VLドメインが本方法に含まれる場合、VLドメインは、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のいずれかのVLドメインであってもよく、又は、親VLドメインが、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008、及びSTIM009のいずれかのVLドメインであるか若しくはVLドメインがこれらの抗体のいずれかの軽鎖相補性判定領域を含む、親VLドメインのアミノ酸配列における、1つ以上のアミノ酸の付加、欠失、置換若しくは挿入によって提供される変異型であり得る。

【0150】

変異型抗体を生成する方法は、任意選択で、抗体又はVH/VLドメインの組合せのコピーを産生することを含み得る。方法はさらに、得られた抗体を発現させることを含み得る。所望の抗体VH及び/又はVLドメインに対応するヌクレオチド配列を、任意選択で1つ以上の発現ベクターで産生することが可能である。宿主細胞における組換え発現を含む適切な発現方法は、本明細書に詳細に記載されている。

【0151】

核酸のコード化及び発現の方法

本発明による抗体をコードする単離された核酸を提供することができる。核酸は、DNA及び/又はRNAであり得る。合成起源のゲノムDNA、cDNA、mRNA若しくは他のRNA、又はこれらの任意の組合せは、抗体をコードし得る。

【0152】

本発明は、上記の少なくとも1つのポリヌクレオチドを含むプラスミド、ベクター、転

10

20

30

40

50

写、又は発現カセットの形態で構築物を提供する。例示的なヌクレオチド配列が配列表に含まれる。本明細書に記載されるヌクレオチド配列への言及は、指定の配列を有するDNA分子を包含し、文脈が別途必要とされない限り、UがTで置換される指定の配列を有するRNA分子を包含する。

【0153】

本発明はまた、抗体をコードする1つ以上の核酸を含む組換え宿主細胞を提供する。コードされた抗体を産生する方法は、例えば、核酸を含有する組換え宿主細胞を培養することによって、核酸からの発現を含むことができる。このようにして、抗体を得ることができる。任意の適切な技術を用いて単離及び/又は精製し、次いで適宜使用することができる。産生方法は、薬学的に許容される賦形剤等の少なくとも1つの追加成分を含む組成物に製剤を製剤化することを含むことができる。

10

【0154】

様々な異なる宿主細胞におけるポリペプチドのクローニング及び発現のための系は周知である。適切な宿主細胞には、細菌、哺乳動物細胞、植物細胞、糸状菌、酵母及びバキュロウイルス系、並びにトランスジェニック植物及び動物が含まれる。

【0155】

原核細胞における抗体及び抗体断片の発現は、当該技術分野において十分に確立されている。一般的な細菌宿主は大腸菌である。培養中の真核細胞における発現も、産生の選択肢として当業者に利用可能である。異種ポリペプチドの発現のために当該技術分野で利用可能な哺乳動物細胞系には、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、HeLa細胞、ベビーハムスター腎臓細胞、NSOマウス黒色腫細胞、YB2/Oラット骨髓腫細胞、ヒト胎児腎臓細胞、ヒト胎児網膜細胞、及び多くの他のものが含まれる。

20

【0156】

ベクターは、プロモーター配列、ターミネーター配列、ポリアダニル化配列、エンハンサー配列、マーカー遺伝子、及び適宜他の配列を含む適切な調節配列を含有し得る。抗体をコードする核酸は、宿主細胞に導入することができる。核酸は、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン、エレクトロポレーション、リボソーム媒介性トランスフェクション、及びレトロウイルス若しくは他のウイルス、例えば、ワクシニア、又は昆虫細胞のためにバキュロウイルスを用いた形質導入を含む様々な方法によって真核細胞に導入することができる。宿主細胞、特に真核細胞に核酸を導入することは、ウイルス又はプラスミドベース系を使用することができる。プラスミド系は、エピソーム的に維持されてもよく、又は宿主細胞若しくは人工染色体に組み込まれてもよい。組み込みは、単独又は複数の遺伝子座における1つ以上のコピーの無作為の組み込みによるか、又は標的化された組み込みによるかのいずれかであり得る。細菌細胞の場合、適切な技術には、塩化カルシウム形質転換、エレクトロポレーション、及びバクテリオファージを用いたトランスフェクションが含まれる。導入の後、例えば、遺伝子の発現のための条件下で宿主細胞を培養し、次いで任意選択で抗体を単離又は精製することによって、核酸を発現させ得る。

30

【0157】

本発明の核酸は、宿主細胞のゲノム(例えば、染色体)に組み込まれ得る。組み込みは、標準的な技術に従って、ゲノムとの組換えを促進する配列を含めることによって促進され得る。

40

【0158】

本発明はまた、抗体を発現させるために本明細書に記載の核酸を発現系において使用することを含む方法を提供する。

【0159】

治療的使用

本明細書に記載される抗体は、治療によるヒト又は動物の身体の治療方法において使用され得る。抗体は、癌又は固形腫瘍の治療を含む、及びワクチン接種の状況における、疾患又は病的状態の範囲で有益である、エフェクターT細胞応答の増加における使用が見出

50

される。T e f f 反応の増加は、T e f f 活性に有利なT e f f とT r e g との間のバランス又は比を調節する抗体を用いて達成することができる。

【 0 1 6 0 】

抗 I C O S 抗体は、制御性 T 細胞を枯渇させ、及び/又は患者のエフェクター T 細胞応答を増加させるために使用され得て、患者に投与されて、制御性 T 細胞を枯渇させ、及び/又は患者のエフェクター T 細胞応答を増加させることによって療法を受けることができる疾患又は病的状態を治療し得る。

【 0 1 6 1 】

本発明の抗体、又はかかる抗体分子若しくはそのコード核酸を含む組成物は、任意のかかる方法における使用のために使用又は提供され得る。任意のかかる方法で使用するための医薬品の製造のための、抗体、又は抗体若しくはそのコード核酸を含む組成物の使用も想定される。この方法は、典型的には、抗体又は組成物を哺乳動物に投与することを含む。適切な製剤及び投与方法は、本明細書の他の箇所に記載されている。

【 0 1 6 2 】

抗体の 1 つの想定される治療的使用は、癌の治療である。癌は、固形腫瘍、例えば、腎細胞癌(任意選択で腎細胞癌、例えば、腎明細胞癌)、頭頸部癌、黒色腫(任意選択で悪性黒色腫)、非小細胞肺癌(例えば、腺癌)、膀胱癌、卵巣癌、子宮頸癌、胃癌、肝臓癌、膵臓癌、乳癌、精巢胚細胞性癌若しくは列挙されているような固形腫瘍の転移であり得るか、又は、液体血液腫瘍、例えば、リンパ腫(例えばホジキンリンパ腫又は非ホジキンリンパ腫、例えば、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、D L B C L)若しくは白血病(例えば、急性骨髄性白血病)であり得る。抗 I C O S 抗体は、黒色腫、頭頸部癌、及び非小細胞肺癌、並びに中～高変異性負荷を有する他の癌における腫瘍クリアランスを増強し得る [2 6]。それらの腫瘍性病変に対する患者の免疫応答を増強することにより、抗 I C O S 抗体を用いた免疫療法は、耐久性のある治癒又は長期の寛解の可能性を、潜在的に後期の疾患の状況においても提供する。

【 0 1 6 3 】

癌は多様な疾患群であるが、抗 I C O S 抗体は、癌を正常組織と区別する変異体又は過剰発現エピトープの認識によって任意の癌細胞を死滅させる潜在的可能性を有する、患者自身の免疫系を利用することにより、異なる癌の範囲の治療の可能性を提供する。T e f f / T r e g バランスを調節することにより、抗 I C O S 抗体は、癌細胞の免疫認識及び殺滅を可能にし、及び/又は促進することができる。したがって、抗 I C O S 抗体は広範囲の癌のための有用な治療剤であるが、抗 I C O S 療法が特に適している及び/又は抗 I C O S 療法が他の治療剤が有効でない場合に有効であり得る特定のカテゴリーの癌がある。

【 0 1 6 4 】

1 つのかかる群は、I C O S リガンドの発現に対して陽性である癌である。黒色腫について記載されているように、癌細胞は I C O S リガンドの発現を獲得することができる [2 7]。I C O S リガンドの発現は、表面発現リガンドが T r e g 上の I C O S を結合し、T r e g の拡大及び活性化を促進し、それにより癌に対する免疫応答を抑制するので、細胞に選択的利点を提供し得る。I C O S リガンドを発現する癌細胞は、T r e g による免疫系のこの抑制に対する生存に依存し得、したがって T r e g を標的とする抗 I C O S 抗体での治療に対して脆弱であり得る。これは、I C O S リガンドを天然に発現する細胞由来の癌にも適用される。これらの細胞による I C O S リガンドの継続的な発現は、免疫抑制を通じて生存の利点を再び提供する。I C O S リガンドを発現する癌は、B 細胞、樹状細胞、及び単球等の抗原提示細胞に由来し得、本明細書に記載されるような液体血液腫瘍であり得る。興味深いことに、これらのタイプの癌は、I C O S 及び F O X P 3 発現(T C G A データ)も高いことが示されている(実施例 2 5 参照)。本明細書の実施例 2 0 は、I C O S リガンドを発現する癌性 B 細胞(A 2 0 同系細胞)に由来する腫瘍の治療における例示的な抗 I C O S 抗体の有効性を実証する。

【 0 1 6 5 】

したがって、抗 I C O S 抗体は、I C O S リガンドの発現が陽性である癌を治療する方

10

20

30

40

50

法において使用することができる。さらに、本発明による抗ICOS抗体で治療される癌は、ICOS及び/又はFOX P3の発現に対して陽性で、任意選択でICOSリガンドも発現する癌であり得る。

【0166】

患者は、例えば、試験試料(例えば、腫瘍生検)を患者から採取し、目的のタンパク質の発現を判定することによって、それらの癌が目的のタンパク質(例えば、ICOSリガンド、ICOS、及び/又はFOX P3)の発現に対して陽性であるかどうかを判定するために試験を受けることができる。目的の1つ、2つ、又は全てのかかるタンパク質の発現に対して陽性として癌が特徴付けられている患者を、抗ICOS抗体での治療のために選択する。本明細書の他の箇所で記載されるように、抗ICOS抗体は、単独療法として、又は1つ以上の他の治療剤と組み合わせて使用することができる。

10

【0167】

抗ICOS抗体はまた、CTLA-4、PD-1、PD-L1、CD137、GITR、又はCD73のような免疫チェックポイント分子に対する抗体又は他の薬物による治療に対して、癌が難治性である患者に希望を提供する。これらの免疫療法はいくつかの癌に対して有効であるが、場合によっては癌が応答しないか、又は抗体による継続的な治療に対して応答しなくなることがある。免疫チェックポイント阻害剤に対する抗体と同様に、抗ICOS抗体は患者の免疫系を調節するが、抗ICOS抗体はかかる他の抗体が失敗した場合に成功し得る。本明細書では、A20 B細胞リンパ腫を有する動物を抗ICOS抗体で治療して、腫瘍の増殖を減少させ、腫瘍を縮小させ、実際に腫瘍を体から除去し得るが、抗PD-L1抗体による治療は、対照よりも優れていなかったことが示された。A20細胞株は、抗CTLA-4に対して耐性であることも報告されている[28]。

20

【0168】

従って、抗ICOS抗体は、抗CTLA-4抗体、抗PD1抗体、抗PD-L1抗体、抗CD137抗体、抗GITR抗体、又は抗CD73抗体(のうちのいずれか又は全て)等の1つ以上の免疫療法による治療に対して難治性である癌を治療する方法で使用され得る。癌は、その抗体若しくは薬物による治療が癌の増殖を有意に減少させない場合、例えば腫瘍が成長し続けている若しくはサイズが減少していない場合、又は応答期間の後に腫瘍がその増殖を再発する場合、抗体若しくは他の薬物による療法に対して難治性であるとして特徴付けられ得る。治療剤に対する非応答は、癌細胞の殺滅又は増殖阻害のための試料(例えば、腫瘍生検試料)を試験することによってエクスピボで、及び/又は臨床設定で療法で治療を受けた患者が治療に応答していないことを観察することによって(例えば、MRIを含む画像化技術を用いて)判定され得る。かかる免疫療法による治療に対して難治性として癌が特徴付けられている患者を、抗ICOS抗体での治療のために選択する。

30

【0169】

さらに、抗ICOS抗体は、抗CD20抗体での治療に耐性のあるB細胞由来の癌を治療するために使用され得る。抗ICOS抗体は、リツキシマブのような抗CD20抗体による治療に応答しないか、又は耐性をもつようになる癌の治療を表す。抗ICOS抗体は、かかる癌の第2選択の(又はさらなる、又は追加の)治療として使用することができる。抗CD20抗体耐性癌は、B細胞癌、例えばB細胞リンパ腫、例えばびまん性大B細胞リンパ腫であり得る。抗CD20に対する癌の耐性は、抗CD20抗体による癌細胞の殺滅若しくは増殖阻害のための試料(例えば、腫瘍生検試料)を試験することによってエクスピボで、及び/又は臨床設定で抗CD20抗体で治療を受けた患者が治療に応答していないことを観察することによって判定され得る。代替的に又は追加的に、癌(例えば、腫瘍生検試料)を試験して、CD20の発現を評価することができ、CD20発現の非存在又は低レベルは、抗CD20抗体に対する感受性の喪失を示す。

40

【0170】

従って、患者から得られた試料を試験して、目的のタンパク質、例えばICOSリガンド、ICOS、FOX P3、及び/又は別の治療剤(例えば、抗受容体抗体)に対する標的受容体の表面発現を判定することができる。標的受容体は、(リツキシマブ等の抗CD20抗

50

体療法に対する)CD20、又はPD1、EGFR、HER2、又はHER3等の別の受容体であり得る。ICOSリガンド、ICOS、FOXP3の表面発現及び/又は標的受容体の表面発現の欠如若しくは喪失は、癌が抗ICOS抗体療法に対して感受性があるという指標である。抗ICOS抗体は、ICOSリガンド、ICOS、FOXP3の表面発現及び/又は標的受容体の表面発現の欠如若しくは喪失によって特徴付けられる癌を有する患者への投与のために提供することができ、任意選択で、患者は以前抗CTLA4、抗PD1、抗PD-L1によって又は標的受容体に対する抗体によって治療され、例えば、継続された又は再生された癌細胞の増殖、例えば、腫瘍サイズの増殖によって測定されるように、抗体による治療に応答していないか、又は応答を停止していた。

【0171】

任意の適切な方法を用いて、癌細胞が、ICOSリガンド、CD20、又は本明細書に記載の他の標的受容体等のタンパク質の表面発現について陽性を試験するかどうかを判定することができる。典型的な方法は、免疫組織化学であり、細胞の試料(例えば、腫瘍生検試料)を目的のタンパク質の抗体と接触させ、抗体の結合は標識試薬、典型的には第1の抗体のFc領域を認識し、蛍光マーカーのような検出可能な標識を有する第2の抗体を用いて判定される。細胞染色又は他の標識の検出によって視覚化されるように、少なくとも5%の細胞が標識されている場合、陽性を試験するために試料を宣言することができる。任意選択で、10%又は25%等のより高いカットオフを使用することができる。抗体は、一般に過剰量で使用される。目的の分子に対する試薬抗体が入手可能であるか、又は直接的な方法によって生成され得る。ICOSリガンドを試験するために、抗体MAB1651は現在、ヒトICOSリガンドを認識するマウスIgGとしてR&Dシステムから入手可能である。CD20発現を試験するために、リツキシマブを使用することができる。目的のICOSリガンド又は標的受容体のmRNAレベルの検出は代替技術である[27]。

【0172】

腫瘍が抗ICOS抗体による治療に応答することのさらなる示唆は、腫瘍微小環境におけるTregの存在である。活性化されたTregは、ICOSの高い表面発現及びFoxp3の高い表面発現によって特徴付けられる。腫瘍におけるTregの存在は、特に上昇した数において、抗ICOS抗体による治療のために患者を選択することができるさらなる基盤を提供する。Tregは、エクスピボでの腫瘍生検試料で、例えば免疫組織化学(上記のようなFoxp3とICOSの両方の同時発現のアッセイ、標識の検出の後の標的タンパク質に対する抗体の使用)によって、又はICOS及びFoxp3に対する標識された抗体でFACSで使用するための試料の単独細胞分散によって、検出され得る。FACS法は、実施例17及び実施例18で例示されている。

【0173】

抗ICOS抗体は、ウイルス誘発性癌等の感染性因子に関連する癌を治療するために使用され得る。このカテゴリーには、頭頸部扁平上皮癌、子宮頸癌、メルケル細胞癌、多くの他のものがある。癌に関連するウイルスには、HBV、HCV、HPV(子宮頸癌、中咽頭癌)、及びEBV(バーキットリンパ腫、胃癌、ホジキンリンパ腫、他のEBV陽性B細胞リンパ腫、鼻咽頭癌、及び移植後リンパ増殖性疾患)が含まれる。The International Agency for Research on Cancer(Monograph 100B)は、感染性因子に関連する以下の主要な癌部位を同定した：

胃(Stomach)/胃(Gastric): *Helicobacter pylori*
 肝臓: B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス(HCV)、*Opisthorchis viverrini*、*Clonorchis sinensis*
 子宮頸部: HIV陽性又は陰性のヒトパピローマウイルス(HPV)
 肛門性器(陰茎、陰門、膣、肛門): HIV陽性又は陰性のHPV
 鼻咽頭: エプスタイン・バーウイルス(EBV)
 中咽頭: タバコやアルコール消費の有無に関わらないHPV
 カボジ肉腫: HIV陽性又は陰性のヒトヘルペスウイルス8型
 非ホジキンリンパ腫: *H. pylori*、HIV陽性又は陰性のEBV、HCV、ヒ

10

20

30

40

50

ト T 細胞リンパ球向性ウイルス 1 型

ホジキンリンパ腫：H I V 陽性又は陰性の E B V

膀胱：S c h i s t o s o m a h a e m a t o b i u m

【 0 1 7 4 】

本発明による抗体は、これらの感染性因子のいずれか、例えば、上記で特定された癌に付随するか、又はそれによって誘導される癌を治療するために使用され得る。

【 0 1 7 5 】

エフェクター T 細胞応答の刺激はまた、感染性疾患に対する免疫及び/又は患者における感染性疾患からの回復に寄与し得る。従って、抗 I C O S 抗体は、抗体を患者に投与することによって感染性疾患を治療するために使用され得る。

【 0 1 7 6 】

感染性疾患には、病原体、例えば、細菌、真菌、ウイルス又は原生動物の病原体によって引き起こされるものが含まれ、治療は、病原体感染に対する患者の免疫応答を促進することができる。細菌病原体の例は、結核である。ウイルス性病原体の例は、B 型肝炎及び H I V である。原虫病原体の例は、P . f a l c i p a r u m のようなマラリアを引き起こす P l a s m o d i u m 種である。

【 0 1 7 7 】

この抗体は、感染、例えば本明細書に記載の任意の病原体による感染の治療に使用することができる。感染は持続性感染又は慢性感染であり得る。感染は限局性又は全身性であり得る。病原体と免疫系との広域の接触は、(例えば、T r e g のレベルの上昇、T r e g に有利な T r e g : T e f f バランスの調整によって現れる)免疫系の枯渇若しくは寛容の発達、及び/又は提示された病原体抗原の進化及び改変を通じて病原体による免疫回避をもたらし得る。これらの特徴は、癌で起こると考えられる同様の過程を反映している。抗 I C O S 抗体は、T e f f に有利な T r e g : T e f f 比及び/又は本明細書中に記載される他の効果の調整を通じて、病原体による感染、例えば慢性感染を治療するための治療的アプローチを提示する。

【 0 1 7 8 】

治療は、感染性疾患又は感染を有すると診断された患者のものであってもよい。或いは、本明細書の他の箇所に記載されているように、治療は予防的であってもよく、患者に投与して、例えばワクチンとして疾患に罹患しないようにすることができる。

【 0 1 7 9 】

免疫応答、とりわけ I F N 依存性全身性免疫応答が、部分として神経炎症性の構成要素を共有するアルツハイマー病及び他の C N S の病理学について有益であり得ることが、また、提唱されている [2 9]。W O 2 0 1 5 / 1 3 6 5 4 1 は、抗 P D - 1 抗体を用いたアルツハイマー病の治療を提案した。抗 I C O S 抗体は、アルツハイマー病又は他の神経変性疾患の治療において、任意選択で 1 つ以上の他の免疫調節剤(例えば、P D - 1 に対する抗体)と組み合わせて使用することができる。

【 0 1 8 0 】

併用療法

抗 C T L A 4、抗 P D 1、又は抗 P D L 1 等の免疫調節抗体、特に F c エフェクター機能を有する免疫調節抗体による治療は、I C O S 高発現免疫抑制細胞のさらなる枯渇が有益な環境を作り出すことができる。その治療効果を高めるために、抗 I C O S 抗体とかかる免疫調節剤とを組み合わせることが有利であり得る。

【 0 1 8 1 】

免疫調節抗体(例えば、抗 P D L - 1、抗 P D - 1、抗 C T L A - 4)で治療された患者は、抗 I C O S 抗体での治療から特に利益を得ることができる。この 1 つの理由は、免疫調節抗体が、患者の I C O S 陽性 T r e g (例えば、腫瘍内 T r e g)の数を増加させ得ることである。この効果は、組換え I L - 2 のようなある種の他の治療剤でも観察される。抗 I C O S 抗体は、患者を別の治療剤で治療した結果生じる I C O S + T r e g (例えば、腫瘍内 T r e g)の急激な上昇又は上昇を低減及び/又は逆転させることができる。従っ

10

20

30

40

50

て、抗ICOS抗体による治療のために選択された患者は、第1の治療剤による治療を既に受けている患者であり得て、第1の治療剤は、患者のICOS + Tregの数が増加する抗体(例えば、免疫調節抗体)又は他の薬剤(例えば、IL-2)である。

【0182】

抗ICOS抗体と組み合わせられ得る免疫調整剤は、PDL1(例えば、アベルマブ)、PD-1(例えば、ペンブロリズマブ又はニボルマブ)、又はCTLA-4(例えば、イピリムマブ又はトレメリマブ)のいずれかに対する抗体を含む。抗ICOS抗体は、ピジリズマブと組み合わせてもよい。他の実施形態では、抗ICOS抗体は抗CTLA-4抗体と組み合わせ投与されず、及び/又は任意選択で抗CTLA-4抗体ではない治療抗体と組み合わせ投与される。

10

【0183】

例えば、抗ICOS抗体は、抗PDL1抗体との併用療法において使用され得る。好ましくは、抗ICOS抗体は、ADCC、ADCP、及び/又はCDCを媒介するものである。好ましくは、抗PDL1抗体は、ADCC、ADCP、及び/又はCDCを媒介するものである。そのような併用療法の例は、両方の抗体がエフェクター陽性定常領域を有する抗PDL1抗体を有する抗ICOS抗体の投与である。したがって、抗ICOS抗体及び抗PDL1抗体は、両方ともADCC、CDC、及び/又はADCPを媒介することができる。Fcエフェクター機能及び定常領域の選択は、本明細書の他の箇所で詳細に記載されるが、一例として、抗ICOSヒトIgG1を抗PD-L1ヒトIgG1と組み合わせることができる。抗ICOS抗体及び/又は抗PD-L1抗体は、野生型ヒトIgG1定常領域を含み得る。或いは、抗体のエフェクター陽性定常領域は、増強されたエフェクター機能、例えば増強されたCDC、ADCC、及び/又はADCPのために操作されたものであり得る。野生型ヒトIgG1配列及びエフェクター機能を変更する変異を含む例示的な抗体定常領域は、本明細書の他の箇所で詳細に記載される。

20

【0184】

抗ICOS抗体を組み合わせることができる抗PDL1抗体には、任意選択でエフェクター陽性ヒトIgG1として、PDL1へのPD-1の結合を阻害し、及び/又はPDL1を阻害する抗PDL1抗体；

PDL1及び/又はPDL2へのPD-1の結合を阻害する抗PD-1抗体；

PDL-1へのPD-1結合を阻害するヒトIgG1抗体であるアベルマブ、WO2013/079174を参照されたい；

30

変異L234A、L235A、及び331を有する変異型ヒトIgG1抗体であるデュルバルマブ(又は「MED14736」)、WO2011/066389を参照されたい；

変異N297A、D356E、及びL358Mを有する変異体ヒトIgG1抗体であるアテゾリズマブ、US2010/0203056を参照されたい；

変異S228Pを含むヒトIgG4抗体であるBMS-936559、WO2007/005874を参照されたい、が含まれる。

【0185】

抗PD-L1抗体の数多くのさらなる例が、本明細書に開示されており、その他は当該技術分野で既知である。本明細書に言及された抗PD-L1抗体の多くの特性評価データは、両方とも参照により本明細書に組み込まれるUS9,567,399及びUS9,617,338に公開されている。例示的な抗PD-L1抗体は、US9,567,399又はUS9,617,338に記載されているように、1D05、84G09、1D05HC変異体1、1D05HC変異体2、1D05HC変異体3、1D05HC変異体4、1D05LC変異体1、1D05LC変異体2、1D05LC変異体3、411B08、411C04、411D07、385F01、386H03、389A03、413D08、413G05、413F09、414B06、又は416E01のいずれかのHCDR及び/又はLCDRを含むVH及び/又はVLドメインを有する。抗体は、これらの抗体のいずれかのVH及びVLドメインを含み得、これらの抗体のいずれかの重鎖及び/又は軽鎖アミノ酸配列を有する重鎖及び/又は軽鎖を任意選択で含み得る。これらの抗PD-L1

40

50

抗体のVH及びVLドメインは、本明細書の他の箇所ですらに記載される。

【0186】

さらなる例示的な抗PD-L1抗体は、KN-035、CA-170、FAZ-053、M7824、ABBV-368、LY-3300054、GNS-1480、YW243.55.S70、REGN3504のHCDR及び/若しくはLCDRを含む、又はWO2017/034916、WO2017/020291、WO2017/020858、WO2017/020801、WO2016/111645、WO2016/197367、WO2016/061142、WO2016/149201、WO2016/000619、WO2016/160792、WO2016/022630、WO2016/007235、WO2015/179654、WO2015/173267、WO2015/181342、WO2015/109124、WO2015/112805、WO2015/061668、WO2014/159562、WO2014/165082、WO2014/100079、WO2014/055897、WO2013/181634、WO2013/173223、WO2013/079174、WO2012/145493、WO2011/066389、WO2010/077634、WO2010/036959、WO2010/089411、及びWO2007/005874のいずれかに開示される抗PD-L1抗体のVH及び/又はVLドメインを有する。抗体は、これらの抗体のいずれかのVH及びVLドメインを含み得、これらの抗体のいずれかの重鎖及び/又は軽鎖アミノ酸配列を有する重鎖及び/又は軽鎖を任意選択で含み得る。抗PD-L1による併用療法で使用される抗ICOS抗体は、本明細書で開示される本発明の抗体であり得る。或いは、抗ICOS抗体は、以下の刊行物のいずれかに開示される抗ICOS抗体のCDR、又はそのVH及び/又はVLドメインを含み得る：WO2016154177、US2016304610 - 例えば7F12、37A10、35A9、36E10、16G10、37A10S713、37A10S714、37A10S715、37A10S716、37A10S717、37A10S718、16G10S71、16G10S72、16G10S73、16G10S83、35A9S79、35A9S710、又は35A9S89抗体のいずれか；WO16120789、US2016215059 - 例えば422.2及び/又はH2L5として知られている抗体；WO14033327、EP2892928、US2015239978 - 例えば314-8として知られている及び/又はハイブリドーマCNCMI-4180から生成される抗体；WO12131004、EP2691419、US9376493、US20160264666 - 例えば抗体Icos145-1及び/又はハイブリドーマCNCMI-4179によって生成される抗体；WO10056804 - 例えば抗体JMAb136又は「136」；WO9915553、EP1017723B1、US7259247、US7132099、US7125551、US7306800、US7722872、WO05103086、EP1740617、US8318905、US8916155 - 例えば抗体MIC-944又は9F3；WO983821、US7932358B2、US2002156242、EP0984023、EP1502920、US7030225、US7045615、US7279560、US7226909、US7196175、US7932358、US8389690、WO02070010、EP1286668、EP1374901、US7438905、US7438905、WO0187981、EP1158004、US6803039、US7166283、US7988965、WO0115732、EP1125585、US7465445、US7998478 - 例えば任意のJMAb抗体、例えばJMAb-124、JMAb-126、JMAb-127、JMAb-128、JMAb-135、JMAb-136、JMAb-137、JMAb-138、JMAb-139、JMAb-140、JMAb-141、例えば、JMAb136のいずれか；WO2014/089113 - 例えば抗体17G9；WO12174338；US2016145344；WO11020024、EP2464661、US2016002336、US2016024211、US8840889；US8497244。

【0187】

10

20

30

40

50

抗ICOS抗体は、任意選択で、WO2016154177に開示されている37A10S713のCDRを含む。それは、37A10S713のVH及びVLドメインを含んでいてもよく、37A10S713の抗体重鎖及び軽鎖を任意選択で有していてもよい。

【0188】

抗ICOS抗体と免疫調節剤との組合せは、単独療法と比較して増加した治療効果を提供することができ、免疫調節剤(複数可)のより低い用量で治療利益を達成することができる。したがって、例えば、抗ICOS抗体と組み合わせて使用される抗体(例えば、抗PD-L1抗体、任意選択でイピリムマブ)は、より通常の10mg/kgの用量ではなく3mg/kgで投与され得る。抗PD-L1又は他の抗体の投与レジメンは、合計4用量の3週間ごと90分の期間にわたる静脈内投与を伴い得る。

10

【0189】

抗PD-L1抗体が治療上の利益を発揮する用量の減少として認識され得る、抗PD-L1抗体での治療に対する腫瘍の感受性を増加させるために、抗ICOS抗体を使用することができる。したがって、抗ICOS抗体は、患者の癌又は腫瘍を治療するのに効果的な抗PD-L1抗体の用量を減少させるために患者に投与され得る。抗ICOS抗体の投与は、抗PD-L1抗体が抗ICOSなしで投与された場合の投与量と比較して、例えば、75%、50%、25%、20%、10%未満まで、その患者への抗PD-L1抗体投与の推奨又は必要な投与量を減少し得る。患者は、本明細書に記載の併用療法において抗ICOS抗体及び抗PD-L1抗体の投与によって治療され得る。

【0190】

20

抗PD-L1と抗ICOSとを組み合わせる利点は、単独療法としての使用と比較した場合、各薬剤の用量の減少に及び得る。抗PD-L1抗体は、抗ICOS抗体が治療上の利益を発揮する用量を減少させるために使用され得、したがって、患者の癌又は腫瘍を治療するのに効果的な抗ICOS抗体の用量を減少させるために患者に投与され得る。したがって、抗PD-L1抗体は、抗ICOS抗体が抗PD-L1なしで投与された場合の投与量と比較して、例えば、75%、50%、25%、20%、10%未満まで、その患者への抗ICOS抗体投与の推奨又は必要な投与量を減少し得る。患者は、本明細書に記載の併用療法において抗ICOS抗体及び抗PD-L1抗体の投与によって治療され得る。

【0191】

本明細書の実施例22に記載されるように、抗PD-L1抗体、特にエフェクター陽性Fcを有する抗体による処理は、Teff細胞上のICOSの発現を増加させないようである。これは、かかる抗体を、エフェクター陽性抗ICOS抗体と組み合わせて投与する場合に有利であり、Teff上でのICOS発現の増加は、これらの細胞を抗ICOS抗体による枯渇に対して、不所望に、より敏感にする。したがって、抗PD-L1との組合せにおいて、抗ICOS療法は、Tregと比較されるTeff上のICOSの異なる発現を利用し得て、枯渇のためにICOS高Tregを優先的に標的とする。これは、次に、Teffの抑制を緩和し、患者のエフェクターT細胞応答を促進する正味の効果を有する。免疫チェックポイント分子をT細胞上のICOSの発現上で標的化する効果も以前に研究されている - CTLA-4抗体及び/又は抗PD-1抗体での治療がICOSを発現するCD4+Tregの割合を増加させることが報告されている、参照[30](補足資料)における図S6Cを参照されたい。Treg及びTeffにおけるICOS発現に対する治療剤の効果は、抗ICOS抗体と組み合わせて使用するための適切な薬剤の選択の要因であり得て、抗ICOS抗体の効果は、Treg対Teffに関するICOSの高い異なる発現が存在する条件下で増強され得ることに注目されたい。

30

【0192】

本明細書に記載されるように、抗ICOS抗体の単回用量は、特に抗PD-L1抗体のような他の治療剤と組み合わせて、治療効果を提供するのに十分であり得る。腫瘍療法において、この単一用量の利益の根底にある理論的根拠は、少なくとも部分的に、腫瘍の微小環境を十分にリセット又は変更して腫瘍を免疫攻撃及び/又は言及されたような他の免疫調節剤の効果に対してより感受性にするによって、抗ICOS抗体がその効果に媒介

40

50

することであり得る。腫瘍の微小環境のリセットは、例えば、ICOS陽性腫瘍浸潤Tregの枯渇により引き起こされる。したがって、例えば、患者は、単回用量の抗ICOS抗体、続いて1回又は複数回の用量の抗PD-L1抗体で治療され得る。治療期間、例えば6ヶ月又は1年間にわたって、抗ICOS抗体は単回用量で投与されてもよく、一方で、他の薬剤、例えば抗PD-L1抗体は、任意選択で、その治療期間にわたって複数回、好ましくは、抗ICOS抗体での処置に続いて投与されるかかる用量の少なくとも1つで、投与される。

【0193】

併用療法のさらなる例には、抗ICOS抗体と、以下との組合せが含まれる：

- アデノシンA2A受容体(「A2AR阻害剤」)のアンタゴニスト；

- CD137アゴニスト(例えば、アゴニスト抗体)；

- トリプトファン(「IDO阻害剤」)の分解を触媒するインドールアミン-2,3ジオキシゲナーゼ酵素であるアンタゴニスト。IDOは免疫チェックポイントであり、樹状細胞及びマクロファージにおいて活性化され、免疫抑制/耐性に寄与する。

【0194】

抗ICOS抗体は、IL-2(例えば、アルデスロイキンのような組換えIL-2)との併用療法において使用され得る。IL-2は高用量(HD)で投与することができる。典型的なHD IL-2療法は、治療サイクルあたりの500,000 IU/kgを超えるボラス注入、例えば600,000又は720,000 IU/kgのボラス注入を伴い、5~10時間の間隔で10~15回のかかるボラス注入、例えば、8時間ごとに最大15回のボラス注入を行い、治療サイクルを約14~21日ごとに最大6~8サイクルを繰り返す。HD IL-2療法は、腫瘍、特に黒色腫(例えば、転移性黒色腫)、及び腎細胞癌の治療に成功しているが、その使用は、重篤な有害作用を引き起こし得るIL-2の高い毒性に限定される。

【0195】

高用量のIL-2による治療は、癌患者におけるICOS陽性Tregの集団を増加させることが示されている[31]。HD IL-2療法の最初のサイクルに続くICOS+Tregのこの増加は、より悪い臨床結果と相関することが報告された-ICOS+Tregの数が多いほど、予後が悪い。IL-2変異体F42Kは、ICOS+Treg細胞のこの望ましくない増加を避けるための代替療法として提案されている[32]。しかしながら、別のアプローチは、本発明による抗体を第2選択の治療剤として使用することによってICOS+Tregの増加を利用することであろう。

【0196】

ICOSを高発現するTregを標的とし、これらの細胞を阻害し、IL-2療法を受けている患者の予後を改善する抗ICOS抗体の能力を利用して、抗ICOS抗体とIL-2療法を組み合わせることは有益であり得る。IL-2及び抗ICOS抗体の同時投与は、治療された患者集団における有害事象を回避又は軽減しながら、奏効率を増加させ得る。この組合せは、IL-2単独療法と比較してより低い用量でIL-2を使用することを可能にし、IL-2療法から生じる有害事象の危険性又はレベルを低下させ、一方で臨床的利益(例えば、腫瘍増殖の減少、固形腫瘍のクリアランス及び/又は転移の減少)を保持するか、又は増強する。このようにして、抗ICOSの添加は、高用量(HD)又は低用量(LD)IL-2のいずれであっても、IL-2を受けている患者の治療を改善することができる。

【0197】

したがって、本発明の一態様は、抗ICOS抗体を患者に投与することによって患者を治療する方法を提供し、患者はIL-2、例えばHD IL-2でも治療される。本発明の別の態様は、患者の治療に使用するための抗ICOS抗体であり、患者はIL-2、例えばHD IL-2でも治療される。抗ICOS抗体は、第2選択の療法として使用することができる。したがって、患者は、例えばHD IL-2療法の少なくとも1サイクルを受けた、及び増加したICOS+Tregレベルを有する、IL-2で治療された患者

10

20

30

40

50

であり得る。アッセイは、I C O S、F o x p 3、I C O S Lについて陽性の細胞、及び任意選択で1つ以上のさらなる目的のマーカーを検出するために、本明細書の他の箇所に記載されるような免疫組織化学又はF A C Sを用いて、癌細胞の試料、例えば腫瘍生検試料に対して行うことができる。方法は、I L - 2 治療後に患者が(例えば、末梢血中又は腫瘍生検中の)上昇したI C O S + T r e g レベルを有することを判定することを含むことができ、上昇したレベルは、患者が抗 I C O S 抗体による治療から利益を受けることを示す。T r e g の増加は、対照(未治療)個体又はI L - 2 治療前の患者に対するものであり得る。上昇したT r e g を有するかかる患者は、継続的なI L - 2 治療単独から利益を得ることができない群を表すが、抗 I C O S 抗体とI L - 2 療法の組合せ、又は抗 I C O S 抗体単独による治療は治療上の利益をもたらす。したがって、患者がI C O S + T r e g の上昇したレベルを有するという肯定的な判定に続いて、抗 I C O S 抗体及び/又はさらなるI L - 2 療法を施すことができる。抗 I C O S 抗体による治療は、そのような患者における他のT細胞集団と比較して、I C O S + T r e g を選択的に標的とし、枯渇させることができる。これは、これらの細胞によって媒介される免疫抑制を緩和し、それによって標的細胞、例えば腫瘍細胞又は感染細胞に対するT e f f の活性を増強することによって治療効果を提供する。

10

【0198】

抗 I C O S 抗体及びI L - 2 との併用療法は、本明細書に記載された任意の治療適応症、特に腫瘍、例えば転移性黒色腫等の黒色腫又は腎細胞癌の治療に用いることができる。したがって、一例では、抗 I C O S 抗体で治療された患者は、転移性黒色腫を提示し、I L - 2、例えばH D I L - 2 療法又はL D I L - 2 療法で治療された患者である。

20

【0199】

一般に、抗 I C O S 抗体が、第1の治療剤(例えば、免疫調節抗体)又は他の薬剤(例えば、I L - 2)による治療を受けた患者に投与される場合、抗 I C O S 抗体は、第1の治療剤の投与後の、例えば、24時間、48時間、72時間、1週間、又は2週間の最短期間の後に投与され得る。抗 I C O S 抗体は、第1の治療剤の投与後、2、3、4、又は5週間以内に投与され得る。これは、患者の服薬遵守を容易にし、コストを低減するために、投与される治療の回数を最小限に抑えることが望ましいが、いつでもいずれかの薬剤の追加投与を排除するものではない。むしろ、投与の相対的なタイミングは、その組合せ効果を最適化するように選択され、第1の治療剤は、抗 I C O S 抗体の効果が特に有利である免疫環境(例えば、上昇したI C O S + T r e g 又は以下に記載される抗原放出)を創出する。したがって、第1の治療剤及びその後の抗 I C O S 抗体の逐次投与は、第1の薬剤が作用する時間を可能にし、抗 I C O S 抗体がその増強された効果を示すことができるインビボ条件を創出する。同時又は逐次組合せ治療を含む様々な投与レジメンが本明細書に記載され、適切に利用され得る。第1の治療剤が患者のI C O S + T r e g の数を増加させるものである場合、患者の治療レジメンは、患者がI C O S + T r e g の増加した数を有することを判定し、次いで抗 I C O S 抗体を投与することを含むことができる。

30

【0200】

上記のように、併用療法における抗 I C O S 抗体の使用は、治療剤の有効用量を減少させる及び/又は患者のI C O S + T r e g を増加させる治療剤の有害作用に対抗する利点を提供し得る。さらに、「免疫学的細胞死」によって標的細胞から抗原を放出させる第1の治療剤を選択すること、及び抗 I C O S 抗体と組み合わせて第1の治療剤を投与することによって、さらなる治療利益を達成することができる。上記のように、抗 I C O S 抗体の投与は、第1の治療剤の投与に順次続いてよく、2つの薬剤の投与は、上記のような特定の時間窓によって分離される。

40

【0201】

免疫学的細胞死は、アポトーシスとは対照的に、細胞死の認識された様式である。それは、細胞からのA T P 及びH M G B 1 の放出及び原形質膜上のカルレチキュリンの曝露によって特徴付けられる[33、34]。

【0202】

50

標的組織又は標的細胞における免疫学的細胞死は、抗原提示細胞による細胞の貪食を促進し、標的細胞からの抗原の提示をもたらす、次に抗原特異的なT e f f細胞を誘導する。抗I C O S抗体は、T e f f細胞上のI C O Sのアゴニストとして作用することによって、T e f f応答の大きさ及び/又は持続時間を増加させることができる。さらに、抗I C O S抗体がF cエフェクター機能が可能な場合(例えば、ヒトI g G 1抗体)、抗I C O S抗体は抗原特異型T r e gの枯渇を引き起こし得る。したがって、これらの効果のいずれか又は両方の組合せにより、T e f fとT r e g細胞との間のバランスは、T e f f活性を増強することに有利に調節される。抗I C O S抗体と、例えば、腫瘍又は癌細胞中に標的組織又は細胞型における免疫学的細胞死を誘導する治療との組合せは、それにより、標的組織又は細胞に対する患者の免疫応答を促進し、ワクチン抗原がインビボで生成されるワクチン接種の形態で表す。

10

【0203】

したがって、本発明の一態様は、患者の癌細胞に対する患者のインビボワクチン接種による、患者の癌を治療する方法である。本発明の別の態様は、このような方法で使用するための抗I C O S抗体である。抗I C O S抗体は、以下を含む方法において使用され得る：

癌細胞の免疫学的細胞死を引き起こす療法によって患者を治療し、それにより抗原特異的エフェクターT細胞に対する抗原の提示をもたらすことと、

抗I C O S抗体を患者に投与することであって、抗I C O S抗体が、癌細胞に対する抗原特異的エフェクターT細胞応答を増強する、投与すること。

【0204】

20

免疫学的細胞死を誘導する治療は、放射線(例えば、U V Cライト又は 光線を用いる細胞のイオン化照射)、化学療法剤(例えば、オキサリプラチン、ドキシソルビシン等のアントラサイクリン、イダルビシン又はミトキサントロン、フロレチン又はピマル酸等のB Kチャネルアゴニスト、ボルテゾミブ、強心配糖体、シクロホスファミド、マイトマイシンを有するG A D D 3 4 / P P 1阻害剤、ヒペリシンを有するP D T、ポリイノシン・ポリシジン酸、5 - フルオロウラシル、ゲムシタピン、ゲフィトニブ、エルロチニブ、又はシスプラチンを有するタプシガルジン)、及び腫瘍関連抗原に対する抗体を含む。腫瘍関連抗原は、同じ組織の非腫瘍細胞(例えば、H E R 2、C D 2 0、E G F R)に対して、腫瘍細胞によって過剰発現される任意の抗原であり得る。適切な抗体には、ハーセプチン(抗H E R 2)、リツキシマブ(抗C D 2 0)、又はセツキシマブ(抗E G F R)が含まれる。

30

【0205】

したがって、抗I C O S抗体と1つ以上のかかる治療とを組み合わせることが有利である。任意選択で、抗I C O S抗体は、かかる治療を既に受けている患者に投与される。抗I C O S抗体は、免疫学的細胞死を誘発する治療後、例えば、治療後の24 ~ 72時間の間の、例えば、24時間、48時間、72時間、1週間、又は2週間の期間の後に投与され得る。抗I C O S抗体は、治療後の2、3、4、又は5週間以内に投与することができる。併用療法の他のレジメンは、本明細書の他の箇所に記載されている。

【0206】

「インビボワクチン接種」は上記に記載されているが、エクスビボで免疫学的細胞死を誘導するために腫瘍細胞を治療することも可能であり、その後、細胞を患者に再導入することができる。免疫学的細胞死を患者に直接誘導する薬剤又は治療を投与するのではなく、処置された腫瘍細胞を患者に投与する。患者の治療は、上記の投与レジメンに従うことができる。

40

【0207】

既に述べたように、抗I C O S抗体の単回用量は、治療上の利益を提供するのに十分であり得る。したがって、本明細書に記載される治療方法では、抗I C O S抗体は、単回用量として任意選択で投与される。抗I C O S抗体の単回用量は、患者のT r e gを枯渇させ、癌等の疾患に結果的に有益な効果をもたらす得る。これまで、T r e gの一過性切除には、腫瘍進行の減少、確立された腫瘍及び転移の治療、及び生存の延長を含む抗腫瘍効果があり、腫瘍照射の治療効果を増強し得ることが報告されている[35]。単回用量の

50

抗 I C O S の投与は、かかる T r e g 枯渇を提供し得、放射線療法のような組み合わせで使用される他の治療アプローチの効果を増強するために使用され得る。

【 0 2 0 8 】

P D - L 1 に対する抗体

本明細書に記載のように、別個の治療剤又は多重特異性抗体であろうと、抗 I C O S 抗体と組み合わせで使用する P D - L 1 に対する抗体は、任意の抗 P D - L 1 抗体の抗原結合部位を含み得る。抗 P D - L 1 抗体の数多くの例が、本明細書に開示されており、その他は当該技術分野で既知である。本明細書に言及された抗 P D - L 1 抗体の多くの特性評価データは、両方とも参照により本明細書に組み込まれる U S 9 , 5 6 7 , 3 9 9 及び U S 9 , 6 1 7 , 3 3 8 に公開されている。

10

【 0 2 0 9 】

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

20

【 0 2 1 0 】

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

30

40

【 0 2 1 1 】

1 D 0 5 H C 変異体 1 は、配列番号 2 7 (I M G T) 又は配列番号 3 0 (K a b a t) の C

50

D R H 1 アミノ酸配列、配列番号 28 (I M G T) 又は配列番号 31 (K a b a t) の C D R
 H 2 アミノ酸配列、及び配列番号 29 (I M G T) 又は配列番号 32 (K a b a t) の C D R
 H 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 47 の重鎖可変 (V_H) 領域アミノ酸配列を有する。1
 D 0 5 H C 変異体 1 は、配列番号 37 (I M G T) 又は配列番号 40 (K a b a t) の C D R
 L 1 アミノ酸配列、配列番号 38 (I M G T) 又は配列番号 41 (K a b a t) の C D R L 2
 アミノ酸配列、及び配列番号 39 (I M G T) 又は配列番号 42 (K a b a t) の C D R L 3
 アミノ酸配列を含む、配列番号 43 の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_L ドメ
 インの軽鎖核酸配列は、配列番号 44 である。V_H ドメインは、本明細書に記載される重
 鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号
 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号
 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号
 532、又は配列番号 534 と組み合わせられ得る。V_L ドメインは、本明細書に記載され
 る軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、21
 3、215、217、219、221、223、225、227、229、231、23
 3、235、237、536、及び 538 と組み合わせられ得る。全長軽鎖アミノ酸配列は
 、配列番号 45 (軽鎖核酸配列配列番号 46) である。

10

【0212】

1 D 0 5 H C 変異体 2 は、配列番号 27 (I M G T) 又は配列番号 30 (K a b a t) の C
 D R H 1 アミノ酸配列、配列番号 28 (I M G T) 又は配列番号 31 (K a b a t) の C D R
 H 2 アミノ酸配列、及び配列番号 29 (I M G T) 又は配列番号 32 (K a b a t) の C D R
 H 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 48 の重鎖可変 (V_H) 領域アミノ酸配列を有する。1
 D 0 5 H C 変異体 2 は、配列番号 37 (I M G T) 又は配列番号 40 (K a b a t) の C D R
 L 1 アミノ酸配列、配列番号 38 (I M G T) 又は配列番号 41 (K a b a t) の C D R L 2
 アミノ酸配列、及び配列番号 39 (I M G T) 又は配列番号 42 (K a b a t) の C D R L 3
 アミノ酸配列を含む、配列番号 43 の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_L ドメ
 インの軽鎖核酸配列は、配列番号 44 である。V_H ドメインは、本明細書に記載される重
 鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号
 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号
 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号
 532、又は配列番号 534 と組み合わせられ得る。V_L ドメインは、本明細書に記載され
 る軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、21
 3、215、217、219、221、223、225、227、229、231、23
 3、235、237、536、及び 538 と組み合わせられ得る。全長軽鎖アミノ酸配列は
 、配列番号 45 (軽鎖核酸配列配列番号 46) である。

20

30

【0213】

1 D 0 5 H C 変異体 3 は、配列番号 27 (I M G T) 又は配列番号 30 (K a b a t) の C
 D R H 1 アミノ酸配列、配列番号 28 (I M G T) 又は配列番号 31 (K a b a t) の C D R
 H 2 アミノ酸配列、及び配列番号 29 (I M G T) 又は配列番号 32 (K a b a t) の C D R
 H 3 アミノ酸配列を含む、配列番号 49 の重鎖可変 (V_H) 領域アミノ酸配列を有する。1
 D 0 5 H C 変異体 3 は、配列番号 37 (I M G T) 又は配列番号 40 (K a b a t) の C D R
 L 1 アミノ酸配列、配列番号 38 (I M G T) 又は配列番号 41 (K a b a t) の C D R L 2
 アミノ酸配列、及び配列番号 39 (I M G T) 又は配列番号 42 (K a b a t) の C D R L 3
 アミノ酸配列を含む、配列番号 43 の軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列を有する。V_L ドメ
 インの軽鎖核酸配列は、配列番号 44 である。V_H ドメインは、本明細書に記載される重
 鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号
 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号
 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号
 532、又は配列番号 534 と組み合わせられ得る。V_L ドメインは、本明細書に記載され
 る軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、21
 3、215、217、219、221、223、225、227、229、231、23

40

50

3、235、237、536、及び538と組み合わせられ得る。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号45(軽鎖核酸配列配列番号46)である。

【0214】

1D05 HC変異体4は、配列番号27(IMG T)又は配列番号30(K a b a t)のCDRH1アミノ酸配列、配列番号28(IMG T)又は配列番号31(K a b a t)のCDRH2アミノ酸配列、及び配列番号29(IMG T)又は配列番号32(K a b a t)のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号342の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。

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

【0215】

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

【0216】

1D05 LC変異体2は、配列番号27(IMG T)又は配列番号30(K a b a t)のCDRH1アミノ酸配列、配列番号28(IMG T)又は配列番号31(K a b a t)のCDRH2アミノ酸配列、及び配列番号29(IMG T)又は配列番号32(K a b a t)のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号33の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号34である。1D05 LC変異体2は、配列番号37(IMG T)又は配列番号40(K a b a t)のCDRL1アミノ酸配列、配列番号38(IMG T)又は配列番号41(K a b a t)のCDRL2アミノ酸配列、及び配列番号39(IMG T)又は配列番号42(K a b a t)のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号51の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号1

97、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、又は配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号35(重鎖核酸配列配列番号36)である。

【0217】

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

【0218】

411B08は、配列番号52(IMG T)又は配列番号55(K a b a t)のCDRH1アミノ酸配列、配列番号53(IMG T)又は配列番号56(K a b a t)のCDRH2アミノ酸配列、及び配列番号54(IMG T)又は配列番号57(K a b a t)のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号58の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号59である。411B08は、配列番号62(IMG T)又は配列番号65(K a b a t)のCDRL1アミノ酸配列、配列番号63(IMG T)又は配列番号66(K a b a t)のCDRL2アミノ酸配列、及び配列番号64(IMG T)又は配列番号67(K a b a t)のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号68の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号69である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、又は配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び538と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号60(重鎖核酸配列配列番号61)である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号70(軽鎖核酸配列配列番号71)である。

【0219】

411C04は、配列番号72(IMG T)又は配列番号75(K a b a t)のCDRH1アミノ酸配列、配列番号73(IMG T)又は配列番号76(K a b a t)のCDRH2アミノ酸配列、及び配列番号74(IMG T)又は配列番号77(K a b a t)のCDRH3アミ

ノ酸配列を含む、配列番号 78 の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 79 である。411C04 は、配列番号 82 (IMGT) 又は配列番号 85 (Kabat) の CDR L1 アミノ酸配列、配列番号 83 (IMGT) 又は配列番号 86 (Kabat) の CDR L2 アミノ酸配列、及び配列番号 84 (IMGT) 又は配列番号 87 (Kabat) の CDR L3 アミノ酸配列を含む、配列番号 88 の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 89 である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号 532、又は配列番号 534 と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び 538 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 80 (重鎖核酸配列配列番号 81) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 90 (軽鎖核酸配列配列番号 91) である。

【0220】

411D07 は、配列番号 92 (IMGT) 又は配列番号 95 (Kabat) の CDR H1 アミノ酸配列、配列番号 93 (IMGT) 又は配列番号 96 (Kabat) の CDR H2 アミノ酸配列、及び配列番号 94 (IMGT) 又は配列番号 97 (Kabat) の CDR H3 アミノ酸配列を含む、配列番号 98 の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 99 である。411D07 は、配列番号 102 (IMGT) 又は配列番号 105 (Kabat) の CDR L1 アミノ酸配列、配列番号 103 (IMGT) 又は配列番号 106 (Kabat) の CDR L2 アミノ酸配列、及び配列番号 104 (IMGT) 又は配列番号 107 (Kabat) の CDR L3 アミノ酸配列を含む、配列番号 108 の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 109 である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号 532、又は配列番号 534 と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び 538 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 100 (重鎖核酸配列配列番号 101) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 110 (軽鎖核酸配列配列番号 111) である。

【0221】

385F01 は、配列番号 112 (IMGT) 又は配列番号 115 (Kabat) の CDR H1 アミノ酸配列、配列番号 113 (IMGT) 又は配列番号 116 (Kabat) の CDR H2 アミノ酸配列、及び配列番号 114 (IMGT) 又は配列番号 117 (Kabat) の CDR H3 アミノ酸配列を含む、配列番号 118 の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 119 である。385F01 は、配列番号 122 (IMGT) 又は配列番号 125 (Kabat) の CDR L1 アミノ酸配列、配列番号 123 (IMGT) 又は配列番号 126 (Kabat) の CDR L2 アミノ酸配列、及び配列番号 124 (IMGT) 又は配列番号 127 (Kabat) の CDR L3 アミノ酸配列を含む、配列番号 128 の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 129 である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号 532、又は配列番号 534 と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域

配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び 538 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 120 (重鎖核酸配列配列番号 121) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 130 (軽鎖核酸配列配列番号 131) である。

【0222】

386H03 は、配列番号 152 (IMGT) 又は配列番号 155 (Kababab) の CDRH1 アミノ酸配列、配列番号 153 (IMGT) 又は配列番号 156 (Kababab) の CDRH2 アミノ酸配列、及び配列番号 154 (IMGT) 又は配列番号 157 (Kababab) の CDRH3 アミノ酸配列を含む、配列番号 158 の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 159 である。386H03 は、配列番号 162 (IMGT) 又は配列番号 165 (Kababab) の CDR L1 アミノ酸配列、配列番号 163 (IMGT) 又は配列番号 166 (Kababab) の CDR L2 アミノ酸配列、及び配列番号 164 (IMGT) 又は配列番号 167 (Kababab) の CDR L3 アミノ酸配列を含む、配列番号 168 の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 169 である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号 532、又は配列番号 534 と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び 538 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 160 (重鎖核酸配列配列番号 161) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 170 (軽鎖核酸配列配列番号 171) である。

【0223】

389A03 は、配列番号 172 (IMGT) 又は配列番号 175 (Kababab) の CDRH1 アミノ酸配列、配列番号 173 (IMGT) 又は配列番号 176 (Kababab) の CDRH2 アミノ酸配列、及び配列番号 174 (IMGT) 又は配列番号 177 (Kababab) の CDRH3 アミノ酸配列を含む、配列番号 178 の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 179 である。389A03 は、配列番号 182 (IMGT) 又は配列番号 185 (Kababab) の CDR L1 アミノ酸配列、配列番号 183 (IMGT) 又は配列番号 186 (Kababab) の CDR L2 アミノ酸配列、及び配列番号 184 (IMGT) 又は配列番号 187 (Kababab) の CDR L3 アミノ酸配列を含む、配列番号 188 の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 189 である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号 532、又は配列番号 534 と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び 538 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 180 (重鎖核酸配列配列番号 181) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 190 (軽鎖核酸配列配列番号 191) である。

【0224】

413D08 は、配列番号 132 (IMGT) 又は配列番号 135 (Kababab) の CDRH1 アミノ酸配列、配列番号 133 (IMGT) 又は配列番号 136 (Kababab) の CDRH2 アミノ酸配列、及び配列番号 134 (IMGT) 又は配列番号 137 (Kababab) の CDRH3 アミノ酸配列を含む、配列番号 138 の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有す

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

10

【0225】

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

20

30

【0226】

413F09は、配列番号258(IMG T)又は配列番号261(K a b a t)のCDRH1アミノ酸配列、配列番号259(IMG T)又は配列番号262(K a b a t)のCDRH2アミノ酸配列、及び配列番号260(IMG T)又は配列番号263(K a b a t)のCDRH3アミノ酸配列を含む、配列番号264の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号265である。413F09は、配列番号268(IMG T)又は配列番号271(K a b a t)のCDRL1アミノ酸配列、配列番号269(IMG T)又は配列番号272(K a b a t)のCDRL2アミノ酸配列、及び配列番号270(IMG T)又は配列番号273(K a b a t)のCDRL3アミノ酸配列を含む、配列番号274の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号275である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号193、配列番号195、配列番号197、配列番号199、配列番号201、配列番号203、配列番号205、配列番号340、配列番号524、配列番号526、配列番号528、配列番号530、配列番号532、又は配列番号534と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域

40

50

配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び 538 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 266 (重鎖核酸配列配列番号 267) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 276 (軽鎖核酸配列配列番号 277) である。

【0227】

414B06 は、配列番号 278 (IMGT) 又は配列番号 281 (Kabatt) の CDRH1 アミノ酸配列、配列番号 279 (IMGT) 又は配列番号 282 (Kabatt) の CDRH2 アミノ酸配列、及び配列番号 280 (IMGT) 又は配列番号 283 (Kabatt) の CDRH3 アミノ酸配列を含む、配列番号 284 の重鎖可変(V_H)領域アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 285 である。414B06 は、配列番号 288 (IMGT) 又は配列番号 291 (Kabatt) の CDR L1 アミノ酸配列、配列番号 289 (IMGT) 又は配列番号 292 (Kabatt) の CDR L2 アミノ酸配列、及び配列番号 290 (IMGT) 又は配列番号 293 (Kabatt) の CDR L3 アミノ酸配列を含む、配列番号 294 の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 295 である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号 532、又は配列番号 534 と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び 538 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 286 (重鎖核酸配列配列番号 287) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 296 (軽鎖核酸配列配列番号 297) である。

【0228】

416E01 は、配列番号 343 (IMGT) 又は配列番号 346 (Kabatt) の CDRH1 アミノ酸配列、配列番号 344 (IMGT) 又は配列番号 347 (Kabatt) の CDRH2 アミノ酸配列、及び配列番号 345 (IMGT) 又は配列番号 348 (Kabatt) の CDRH3 アミノ酸配列を含む、配列番号 349 の重鎖可変領域(V_H)アミノ酸配列を有する。V_Hドメインの重鎖核酸配列は、配列番号 350 である。416E01 は、配列番号 353 (IMGT) 又は配列番号 356 (Kabatt) の CDR L1 アミノ酸配列、配列番号 354 (IMGT) 又は配列番号 357 (Kabatt) の CDR L2 アミノ酸配列、及び配列番号 355 (IMGT) 又は配列番号 358 (Kabatt) の CDR L3 アミノ酸配列を含む、配列番号 359 の軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列を有する。V_Lドメインの軽鎖核酸配列は、配列番号 360 である。V_Hドメインは、本明細書に記載される重鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 193、配列番号 195、配列番号 197、配列番号 199、配列番号 201、配列番号 203、配列番号 205、配列番号 340、配列番号 524、配列番号 526、配列番号 528、配列番号 530、配列番号 532、又は配列番号 534 と組み合わせられ得る。V_Lドメインは、本明細書に記載される軽鎖定常領域配列のうちのいずれか、例えば、配列番号 207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、536、及び 538 と組み合わせられ得る。全長重鎖アミノ酸配列は、配列番号 351 (重鎖核酸配列配列番号 352) である。全長軽鎖アミノ酸配列は、配列番号 361 (軽鎖核酸配列配列番号 362) である。

【0229】

抗体 - 薬物コンジュゲート

抗ICOS抗体は、Tregを標的とするために、細胞傷害性薬物の担体として使用することができる。実施例18に報告されるように、腫瘍微小環境(TME)に位置するTregはICOSを強く発現する。ICOSは、腫瘍内のTeff又は末梢Tregよりも

腫瘍内の T r e g でより強く発現する。したがって、有毒な薬剤又はプロドラッグで標識された抗 I C O S 抗体は、T M E 中の T r e g を優先的に標的にして、有毒なペイロードを送達し、それらの細胞を選択的に阻害し得る。かかる細胞傷害性薬物の標的化は、T r e g の免疫抑制効果を除去するためのさらなる経路を提供し、それによって T e f f 活性に有利な T r e g : T e f f バランスを改変し、本明細書に記載の他の治療アプローチのうち任意の 1 つ以上(例えば、T r e g の F c エフェクター媒介性阻害、エフェクター T 細胞のアゴニズム)の代替物として、又はそれと組み合わせて使用され得る。

【 0 2 3 0 】

したがって、本発明は、細胞傷害性薬物又はプロドラッグに接合している抗 I C O S 抗体を提供する。プロドラッグの場合、プロドラッグは T M E 又は治療活性の他の標的部位において活性化可能であり、細胞傷害性薬物を生成する。活性化は、例えば、近赤外光を用いて光吸収体コンジュゲートを活性化する等の、光活性化のようなトリガに応答してもよい [3 6]。プロドラッグの空間選択的活性化は、これらの細胞に対して高度に選択的な細胞毒性効果を提供するために、腫瘍内 T r e g 上の高い I C O S 発現と組み合わせて、抗体 - 薬物コンジュゲートの細胞毒性効果をさらに高める。

【 0 2 3 1 】

抗体 - 薬物コンジュゲートにおける使用のために、細胞傷害性薬物又はプロドラッグは、好ましくは、血液中の抗体 - 薬物コンジュゲートの循環中に、非免疫原性及び非毒性(休眠中又は不活性)である。好ましくは、細胞傷害性薬物(又は活性化された場合のプロドラッグ)は強力であり、例えば、薬物の 2 ~ 4 分子が標的細胞を殺滅するのに十分であり得る。光活性化可能なプロドラッグは、近赤外光曝露後に細胞膜に致命的な損傷を誘導する、シラカプトハロシアニン色素(I R D y e 7 0 0 D X)である。細胞傷害性薬物には、モノメチルオーリスタチン E 等の抗有糸分裂剤、及びメイタンシン誘導體、例えばメルタンシン、D M 1、エムタンシン等の微小管阻害剤が含まれる。

【 0 2 3 2 】

薬物(又はプロドラッグ)の抗体へのコンジュゲーションは、通常、リンカーを介する。リンカーは、切断可能なリンカー、例えばジスルフィド、ヒドラゾン、又はペプチド結合であってもよい。薬剤が腫瘍細胞中のカテプシンによって放出されるように、カテプシン切断可能なリンカーを使用してもよい。或いは、非切断性リンカー、例えば、チオエーテル結合を使用することができる。追加の付着基及び/又はスペーサーを含むこともできる。

【 0 2 3 3 】

抗体 - 薬物コンジュゲート中の抗体は、かかる断片の小さなサイズが組織部位(例えば、固形腫瘍)への浸透を助けることができるので、本明細書に記載の F a b ' 2 又は他の抗原結合断片のような抗体断片であってもよい。

【 0 2 3 4 】

本発明による抗 I C O S 抗体は、免疫サイトカインとして提供され得る。抗 I C O S 抗体はまた、併用療法において免疫サイトカインと共に投与され得る。抗体の多くの例が抗 I C O S との併用療法における使用について本明細書に記載されており、これらのいずれか(例えば抗 P D - L 1 抗体)は本発明での使用のための免疫サイトカインとして提供され得る。免疫サイトカインは、I L - 2 等のサイトカインに接合した抗体分子を含む。したがって、抗 I C O S : I L - 2 コンジュゲート及び抗 P D - L 1 : I L - 2 コンジュゲートは、本発明のさらなる態様である。

【 0 2 3 5 】

I L - 2 サイトカインは、高()親和性の I L - 2 受容体及び/又は中親和性() I L - 2 受容体で活性を有し得る。免疫サイトカインで使用される I L - 2 は、1 つ以上のアミノ酸欠失、置換、又は付加を有するヒト野生型 I L - 2 又は変異型 I L - 2 サイトカイン、例えば、N 末端で 1 ~ 1 0 のアミノ酸欠失を有する I L - 2 であり得る。他の I L - 2 変異型には、変異 R 3 8 A 又は R 3 8 Q が含まれる。

【 0 2 3 6 】

例示的な抗 P D - L 1 免疫サイトカインは、免疫グロブリン重鎖及び免疫グロブリン軽

10

20

30

40

50

鎖を含み、重鎖はN末端からC末端方向に：

- a) C D R H 1、C D R H 2、及びC D R H 3を含むV_Hドメインと、
- b) 重鎖定常領域と、を含み、
- 軽鎖が、N末端からC末端方向に、
- c) C D R L 1、C D R L 2、及びC D R L 3を含むV_Lドメインと、
- d) 軽鎖定常領域(C_L)と、
- e) 任意選択で、リンカー(L)と、
- f) I L - 2 サイトカインと、を含み、

V_Hドメイン及びV_Lドメインが、ヒトP D - L 1 に特異的に結合する抗原結合部位によって構成され、

免疫サイトカインが、モチーフX₁G S G X₂Y G X₃X₄F D(配列番号609)を含むC D R H 3を含むV_Hドメインを含み、式中、X₁、X₂、及びX₃が独立して任意のアミノ酸であり、X₄が存在するか又は存在しないかのいずれかであり、存在する場合、任意のアミノ酸であり得る。

【0237】

V_H及びV_Lドメインは、本明細書で言及される任意の抗P D - L 1 抗体のV_H及びV_Lドメイン、例えば、1 D 0 5 V_H及びV_Lドメインであり得る。

【0238】

I L - 2 は、ヒト野生型又は変異型I L - 2 であり得る。

【0239】

ワクチン接種

抗I C O S 抗体は、ワクチン組成物中に提供され得るか、又はワクチン調製物と同時投与され得る。I C O S は、T 濾胞ヘルパー細胞形成及び胚中心反応に参与している[37]。したがって、アゴニストI C O S 抗体は、ワクチン有効性を増強する分子アジュバントとしての潜在的な臨床的有用性を有する。抗体は、B 型肝炎、マラリア、H I V に対するワクチンのような多数のワクチンの防御有効性を増加させるために使用することができる。

【0240】

ワクチン接種の文脈において、抗I C O S 抗体は、一般に、F c エフェクター機能を欠き、したがってA D C C、C D C、又はA D C P を媒介しない抗体である。抗体は、F c 領域を欠くか、又はエフェクターヌル定常領域を有するフォーマットで提供され得る。任意選択で、抗I C O S 抗体は、1つ以上の型のF c 受容体に結合するが、A D C C、C D C、又はA D C P 活性を誘導しないか、又は野生型ヒトI g G 1 と比較してより低いA D C C、C D C、及びA D C P 活性を示す重鎖定常領域を有し得る。かかる定常領域は、A D C C、C D C、又はA D C P 活性を引き起こす原因となる特定のF c 受容体(複数可)に結合できないか、又はより低い親和性で結合し得る。或いは、細胞エフェクター機能がワクチン接種の文脈において許容可能又は望ましい場合、抗I C O S 抗体は、F c エフェクター機能陽性である重鎖定常領域を含み得る。例えば、I g G 1、I g G 4、及びI g G 4 . P E のフォーマットのいずれかは、ワクチン接種レジメンにおいて抗I C O S 抗体に使用されてもよく、適切なアイソタイプ及び抗体定常領域の他の例は、本明細書の他の箇所により詳細に説明される。

【0241】

製剤及び投与

抗体は、モノクローナル又はポリクローナルであり得るが、好ましくは、治療的使用のためのモノクローナル抗体として提供される。これらは、任意選択で異なる結合特異性の抗体を含む他の抗体の混合物の一部として提供されてもよい。

【0242】

本発明による抗体及びコードする核酸は、通常、単離された形態で提供される。したがって、抗体、V_H及び/又はV_Lドメイン、及び核酸は、その天然の環境又はそれらの産生環境から精製されて提供され得る。単離された抗体及び単離された核酸は、インビボで、

10

20

30

40

50

又はかかる調製物がインビトロでの組換えDNA技術による場合、それらが調製される環境(例えば、細胞培養物)で見出される他のポリペプチド又は核酸等のそれらが天然に付随する物質を含まないか、実質的に含まない。任意選択で、単離された抗体又は核酸(1)は、それが通常見られる少なくとも一部の他のタンパク質を含まない、(2)同一源、例えば同一種からの他のタンパク質を本質的に含まない、(3)異なる種からの細胞によって発現される、(4)少なくとも約50パーセントのポリヌクレオチド、脂質、炭水化物若しくはそれが自然界で関連付けられる他の物質から分離されている、(5)(共有結合又は非共有結合の相互作用によって)それが自然界で関連付けられないポリペプチドと機能可能に関連付けられる、又は(6)自然界で発生しない。

【0243】

抗体又は核酸は、希釈剤又はアジュバントと処方されてもよく、実際の目的では単離されてもよく、例えば、免疫アッセイでの使用のためにマイクロタイタープレートを被覆するために使用される場合は担体と混合され得、治療中に使用される場合は薬学的に許容される担体又は希釈剤と混合され得る。本明細書の他の箇所に記載されているように、他の活性成分もまた、治療用調製物に含まれ得る。抗体は、インビボで天然に、又はCHO細胞のような異種真核細胞の系によってグリコシル化されてもよく、又は非グリコシル化されていてもよい(例えば、原核細胞での発現によって産生される場合)。本発明は、修飾グリコシル化パターンを有する抗体を包含する。いくつかの用途では、望ましくないグリコシル化部位を除去する改変が有用であり得るか、又は例えば、ADCC機能を増加させるためのフコース部分の除去が、有用であり得る[38]。他の用途では、CDCを改変するためにガラクトシル化の改変を行うことができる。

【0244】

典型的には、単離された生成物は、所与の試料の少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約25%、又は少なくとも約50%を構成する。抗体は、タンパク質若しくはポリペプチド、又はその治療的、診断的、予防的、研究的若しくは他の使用に干渉し得るその自然又は産生環境において見られる他の汚染物質を実質的に含まないことができる。

【0245】

抗体は、その産生環境(例えば、天然又は組み換え)の構成要素から特定され、分離され、及び/又は回収されたものであり得る。単離された抗体は、例えば、抗体がFDAによって認可可能な基準又は認可された基準に単離されているように、その産生環境からの全ての他の構成要素との関連がなくてもよい。組み換えトランスフェクト細胞から生じるもの等の、その産生環境の汚染構成要素は、抗体への研究的、診断的、又は治療的使用に典型的に干渉し得る物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク性又は非タンパク性溶質を含んでもよい。いくつかの実施形態では、抗体は、(1)例えばローリー法によって決定して、95重量%超の抗体、一部の実施形態では、99重量%超の抗体に、(2)スピニングカップシークエネーターの使用によって、N末端若しくは内部アミノ酸配列の少なくとも15個の残基を得るのに十分な程度に、又は(3)クマシーブルー、好ましくは銀染色を使用して、非還元若しくは還元条件下で、SDS-PAGEによって均一に、精製されることになる。単離された抗体は、抗体の自然環境の少なくとも1つの構成要素が存在しなくなるため、組み換え細胞内でその場で抗体を含む。一般には、単離された抗体又はそのコードする核酸は、少なくとも1つの精製ステップによって調製されることになる。

【0246】

本発明は、本明細書に記載の抗体を含む治療用組成物を提供する。かかる抗体をコードする核酸を含む治療用組成物も提供される。コードする核酸は、本明細書の他の箇所により詳細に記載され、DNA及びRNA、例えばmRNAを含む。本明細書に記載の治療方法において、抗体をコードする核酸及び/又はかかる核酸を含有する細胞の使用は、抗体自体を含む組成物の代替物(又はそれに加えて)として使用することができる。任意選択で、核酸がゲノムに安定に組み込まれている抗体をコードする核酸を含む細胞は、したがって、患者における治療用途のための治療薬を表す。抗ICOS抗体をコードする核酸は、ヒ

10

20

30

40

50

トBリンパ球、任意選択で意図された患者由来のBリンパ球に導入され、エキスピボで修飾されてもよい。任意選択で、メモリB細胞が使用される。患者にコードする核酸を含有する細胞の投与は、単離された核酸又は単離された抗体の投与と比較してより長期にわたって治療上の利益を提供し得る、抗ICOS抗体を発現することができる細胞のリザーバを提供する。

【0247】

組成物は、改善された移動、送達、寛容等を提供するために、製剤に組み込まれる適切な担体、賦形剤、及び他の薬剤を含み得る。多くの適切な製剤は、全ての製薬化学者に知られている処方で見出すことができる：Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa. これらの製剤には、例えば、粉末、ペースト、軟膏、ゼリー、ワックス、油、脂質、ベシクル(LIPOFECTINT(商標)等)を含有する脂質(カチオン性又はアニオン性)、DNAコンジュゲート、無水吸収ペースト、水中油及び油中水乳濁液、乳濁液カーボワックス(様々な分子量のポリエチレングリコール)、半固体ゲル、及びカーボワックスを含有する半固体混合物が含まれる。Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA(1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311も参照されたい。組成物は、医療用注射緩衝液及び/又はアジュバントと組み合わせて抗体又は核酸を含んでもよい。

【0248】

抗体又はそのコードする核酸は、患者への所望の投与経路、例えば注射用の液体(任意選択で水溶液)中に製剤化することができる。様々な送達系が知られており、本発明の医薬組成物を投与するために使用することができる。導入方法としては、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、及び経口経路が挙げられるが、これらに限定されない。皮下投与のための抗体を製剤化するには、典型的には静脈内製剤と比較してそれらをより少量に濃縮することが必要である。本発明による抗体の高い効力は、それらが弱い抗ICOS抗体と比較して利点を示す、皮下製剤を実用的にするために十分に低い用量で使用することを可能にし得る。

【0249】

組成物は、任意の好都合な経路によって、例えば、注入又はボーラス注射によって、上皮内層又は粘膜皮膚内層(例えば、口腔粘膜、直腸及び腸管粘膜等)からの吸収によって投与されてもよく、他の生物学的に活性な薬剤と共に投与されてもよい。投与は、全身又は局所であり得る。

【0250】

医薬組成物はまた、ベシクル、特に、リポソーム中で送達され得る(Langer(1990) Science 249:1527-1533; Treat et al.(1989) in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez Berestein and Fidler(eds.), Liss, New York, pp.353-365; Lopez-Berestein, ibid., pp.317-327を参照; 概して同書を参照)。

【0251】

特定の状況では、医薬組成物は放出制御系で送達することができる。一実施形態では、ポンプを使用することができる(Langer, supra; Sefton(1987) CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201を参照されたい)。別の実施形態では、ポリマー材料を使用することができる; Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise(eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla.(1974)を参照されたい。さらに別の実施形態では、放出制御系を組成物の標的の近傍に配置することができるので、したがって全身用量の一部しか必要としない(例えば、Goodson, in Medical Applications of Controlled Release

, supra, vol. 2, pp. 115 - 138, 1984を参照されたい)。

【0252】

注射用製剤には、静脈内、皮下、皮内、及び、筋肉内注射剤、点滴剤等の剤形が含まれ得る。これらの注射用製剤は、公知の方法により調製することができる。例えば、上記の抗体又はその塩を、慣用的に注射用に使用される滅菌水性媒体又は油性媒体中に、例えば溶解、懸濁、又は乳化させることにより、注射用製剤を調製することができる。注射用水性媒体としては、適切な可溶薬剤、例えば、アルコール(例えば、エタノール)、ポリアルコール(例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール)、非イオン性界面活性剤[例えば、ポリソルベート80、HCO-50(硬化ヒマシ油のポリオキシエチレン(50モル)付加物)]等と組み合わせて使用され得る、生理食塩水、グルコースを含有する等張液、及び他の補助剤等がある。可溶化剤、例えばベンジルベンゾネート、ベンジルアルコール等と組み合わされて使用され得る、例えば、ゴマ油、大豆油等が使用される。このようにして調製した注射液を適切なアンプルに充填することができる。本発明の医薬組成物は、標準針及び注射器を用いて皮下又は静脈内に送達することができる。治療は診療所での使用に限定されないことが想定される。したがって、無針装置を用いた皮下注射も有利である。皮下送達に関して、ペン送達装置は、本発明の医薬組成物を送達する用途を容易に有する。かかるペン送達装置は、再使用可能又は使い捨て可能であり得る。再使用可能なペン送達装置は、一般に、医薬組成物を含有する交換可能なカートリッジを使用する。カートリッジ内の医薬組成物の全てが投与され、カートリッジが空になると、空のカートリッジは容易に廃棄され、医薬組成物を含有する新しいカートリッジと容易に交換することができる。次いで、ペン送達装置を再使用することができる。使い捨てペン搬送装置には、交換可能なカートリッジはない。むしろ、使い捨てペン送達デバイスには、デバイス内のリザーバに保持された医薬組成物が予め充填されている。リザーバの医薬組成物が空になると、装置全体が廃棄される。数多くの再使用可能なペン及び自己注射器送達装置は、本発明の医薬組成物の皮下送達に用途を有する。例としては、いくつか例を挙げると、AUTOPEN(商標)(Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONIC(商標)ペン(Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25(商標)ペン、HUMALOG(商標)ペン、HUMALIN 70/30(商標)ペン(Eli Lilly and Co., Indianapolis, Ind.), NOVOPE 30(商標)I、II、及びIII(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR(商標)(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD(商標)ペン(Becton Dickinson, Franklin Lakes, N.J.), OPTIPENT(商標)、OPTIPEN PRO(商標)、OPTIPEN STARLET(商標)、及びOPTICLIK(商標)(Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany)が挙げられるが、これらに特に限定されない。本発明の医薬組成物の皮下送達における用途を有する使い捨てペン送達装置の例としては、SOLOSTAR(商標)ペン(Sanofi-Aventis)、FLEXPEN(商標)(Novo Nordisk)、及びKWIKPEN(商標)(Eli Lilly)が挙げられるが、これらに特に限定されない。

【0253】

好都合には、上記の経口又は非経口使用のための医薬組成物は、活性成分の用量に適合するのに適した単位用量の剤形に調製される。単位用量のかかる剤形は、例えば、錠剤、丸剤、カプセル剤、注射剤(アンプル)、坐剤等を含む。前述の抗体の含有量は、単位用量における剤形当たり、通常約5～約500mgであり、特に注射の形態で、前述の抗体は、約5～約100mg、及び他の剤形については約10～約250mgで含有され得る。

【0254】

それを含む抗体、核酸、又は組成物は、医療用容器、例えば薬瓶、シリンジ、静脈内容器、又は注射装置に含有されることができる。一例では、抗体、核酸、又は組成物は、インビトロであり、滅菌容器中であり得る。一例では、本明細書に記載の治療方法における

使用のための抗体、パッケージング、及び使用説明書を含むキットが提供される。

【0255】

本発明の一態様は、抗体又は核酸と、上記に例が列挙されている1つ以上の薬学的に許容される賦形剤と、を含む組成物である。「薬学的に許容される」とは、ヒトを含む動物における使用について、米国連邦政府若しくは州政府の規制機関によって承認されている若しくは承認可能であるか、又は米国薬局方若しくは他の一般的に認識された薬局方に列挙されていることを指す。薬学的に許容される担体、賦形剤、又はアジュバントは、薬剤、例えば、本明細書に記載される任意の抗体又は抗体鎖と一緒に患者に投与されてもよく、それらの薬理活性を損なわず、治療量の薬剤を送達するのに十分な用量で投与された場合に無毒である。

10

【0256】

いくつかの実施形態では、抗ICOS抗体は、本発明による組成物中の唯一の活性成分である。したがって、組成物は、抗体からなり得るか、又は抗体及び1つ以上の薬学的に許容される賦形剤からなり得る。しかしながら、本発明による組成物は、任意選択で、1つ以上の追加の活性成分を含む。抗ICOS抗体が組み合わされ得る薬剤の詳細な説明は、本明細書の他の箇所に提供される。任意選択で、組成物は、例えば、抗ICOS抗体及び1つ以上の他の抗体を含む単一製剤のように、組み合わされた調製物中に複数の抗体(又はコード核酸)を含有する。本発明による抗体又は核酸と共に投与するのに望ましい場合がある他の治療剤には、鎮痛剤が含まれる。任意のかかる薬剤又は薬剤の組合せは、組み合わされるか又は別個の調製物であるかにかかわらず、本発明による抗体又は核酸と組み合わせて投与され得るか、又はそれと共に組成物中に提供される。本発明による抗体又は核酸は、言及されたもの等の別の治療剤(複数可)と共に、別々に連続的に、又は同時に、任意選択で、組み合わされた調製物として投与され得る。

20

【0257】

特定の治療適応症における使用のための抗ICOS抗体は、受け入れられた標準治療と組み合わされてもよい。したがって、抗癌治療の場合、抗体療法は、例えば、化学療法、外科手術、及び/又は放射線療法も含む治療レジメンにおいて用いられ得る。放射線療法は、患部組織に直接、又は全身のいずれかに送達される、単回線量又は分割線量であり得る。

【0258】

複数の組成物が、別個又は同時に投与され得る。別個の投与は、10、20、30若しくは10～60分の間隔で、又は1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12時間の間隔で2つの組成物が投与されることを指す。24時間の間隔で、又はさらに長い間隔で組成物を投与することもできる。代替的には、2つ以上の組成物が、同時に、例えば、10分未満又は5分未満の間隔で投与され得る。いくつかの態様では、同時に投与される組成物は、構成要素の各々について同様又は異なる時間放出機構の有無にかかわらず、混合物として投与され得る。

30

【0259】

抗体及びそれらのコード核酸は、治療剤として使用され得る。本明細書における患者は、一般に、哺乳動物、典型的には、ヒトである。抗体又は核酸は、例えば、本明細書において言及される任意の投与経路によって、哺乳動物に投与され得る。

40

【0260】

投与は通常、「治療有効量」であり、これは、患者に利益を示すのに十分な、投与されるものへの所望の効果を生み出す量である。正確な量は治療の目的に依拠し、既知の技術を使用して当業者によって確認されるであろう(例えば、Lloyd(1999)The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compoundingを参照されたい)。治療の処方、例えば、投薬量の決定等は、一般医師及び他の医師の責任の範囲内であり、治療される疾患の症状の重度及び/又はその進行に依存し得る。抗体又は核酸の治療有効量又は好適な用量は、動物モデルにおけるそのインビトロ活性及びインビボ活性を比較することによって判定することができる。マウス及び他の実験動物における有効投薬量の外挿方法は、既知である。

50

【0261】

本明細書の実施例に記載されるインビボ研究によって示されるように、抗ICOS抗体は、一定範囲の用量で有効であり得る。薬力学研究は、実施例24に報告される。

【0262】

抗ICOS抗体は、1用量当たり、以下の範囲のうちの1つの量で投与され得る：

約10 μ g/体重1kg～約100mg/体重1kg、

約50 μ g/体重1kg～約5mg/体重1kg、

約100 μ g/体重1kg～約10mg/体重1kg、

約100 μ g/体重1kg～約20mg/体重1kg、

約0.5mg/体重1kg～約20mg/体重1kg、又は

約5mg/体重1kg未満、例えば、4mg/kg未満、3mg/kg未満、2mg/kg未満、又は1mg/kgの抗体。

【0263】

最適な治療用量は、ヒトにおいて、0.1～0.5mg/kg、例えば、約0.1mg/kg、0.15mg/kg、0.2mg/kg、0.25mg/kg、0.3mg/kg、0.35mg/kg、0.4mg/kg、0.45mg/kg、又は0.5mg/kgであり得る。成人のヒトにおける固定用量の場合、好適な用量は、8～50mg又は8～25mg、例えば、15mg又は20mgであり得る。

【0264】

本明細書に記載される治療方法において、1回以上の用量が投与され得る。場合によっては、単回用量が長期的な利益を達成するのに有効であり得る。したがって、本方法は、単回用量の抗体、そのコード核酸、又は組成物を投与することを含み得る。代替的には、通常、連続的に、数日、数週、又は数カ月の間隔で別個に、複数回用量が投与されてもよい。抗ICOS抗体は、4～6週間の間隔で、例えば、4週間ごと、5週間ごと、又は6週間ごとの間隔で患者に反復投与され得る。任意選択で、抗ICOS抗体は、1カ月に1回、又はより少ない頻度で、例えば、2カ月ごと又は3カ月ごとに患者に投与され得る。したがって、患者を治療する方法は、抗ICOS抗体の単回用量を患者に投与し、少なくとも1カ月間、少なくとも2カ月間、少なくとも3カ月間この投与を反復せず、任意選択で、少なくとも12カ月間の投与を反復しないことを含み得る。

【0265】

実施例11cにおいて考察したように、抗ICOS抗体の1回又は複数回用量のいずれかを使用して同等の治療効果が得られる場合があり、これは、抗体の単回用量が腫瘍微小環境のリセットに有効であることの結果であり得る。医師は、疾患状態、並びに抗ICOS抗体が組み合わされる任意の他の治療剤及び治療手段(例えば、外科手術、放射線療法等)を考慮に入れて、抗ICOS抗体の投与レジメンを、療法を受ける疾患及び患者に適合させることができる。いくつかの実施形態では、有効用量の抗ICOS抗体は、例えば、3週間ごとに1回、2週間ごとに1回、又は毎週1回等、1カ月に1回よりも多い頻度で投与される。抗ICOS抗体による治療は、少なくとも1カ月、少なくとも6カ月、又は少なくとも1年の期間をかけて投与される複数回用量を含み得る。

【0266】

本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療」、「治療すること」、又は「改善」という用語は、疾患又は障害に関連する状態の進行又は重度を、逆転、軽減、改善、阻害、減速、又は停止することが目的である、治療処置を指す。「治療すること」という用語は、状態、疾患、又は障害の少なくとも1つの副作用又は症状を低減又は改善することを含む。1つ以上の症状又は臨床マーカーが低減した場合、治療は、概して「有効」である。代替的には、疾患の進行が低減又は停止した場合、治療は、「有効」である。つまり、「治療」は、症状又はマーカーの向上だけでなく、治療しない場合に予想されるものと比較した、症状の進行又は悪化の休止又は少なくとも原則を含む。有益な又は所望の臨床結果には、1つ以上の症状(複数可)の軽減、疾患の程度の縮小、疾患の安定した(すなわち、悪化していない)状態、疾患進行の遅延若しくは減速、疾患状態の改善若しくは緩和、寛

10

20

30

40

50

解(部分寛解若しくは完全寛解)、及び/又は検出可能若しくは検出不可能にかかわらない死亡率の減少が含まれるが、これらに限定されない。疾患の「治療」という用語にはまた、疾患の症状又は副作用の軽減を提供すること(緩和療法を含む)も含まれる。治療が有効であるために、根治は企図されない。本方法は、ある特定の態様では、治癒も含み得る。本発明の文脈では、治療は、予防的治療であってもよい。

【0267】

T細胞療法

WO2011/097477は、T細胞集団を、任意選択でIL-1、IL-6、中和抗IFN、及び/又は抗IL-4等のTh17分極剤の存在下で、一次活性化シグナルを提供する第1の薬剤(例えば、抗CD3抗体)及びICOSを活性化させる第2の薬剤(例えば、抗ICOS抗体)と接触させることによって、T細胞を生成及び増殖させるためのICOS抗体の使用について記載した。本明細書に記載される抗ICOS抗体は、T細胞集団を提供するかかる方法において使用され得る。治療活性(例えば、抗腫瘍活性)を有する培養増殖されたT細胞集団が生成され得る。WO2011/097477に記載されるように、かかるT細胞は、免疫療法によって患者を治療する方法において治療上使用され得る。

【0268】

治療候補としての抗ICOS抗体のための形態学的アッセイ

候補治療用抗ICOS抗体が固体表面を固体表面に結合させ、ICOS発現T細胞と接触させると、それらは細胞中に形態変化を誘導することができることが認められた。抗ICOS抗体で内部をコーティングしたウェルへのICOS+ T細胞を添加すると、細胞は、それらの元の丸い形状から変化して紡錘形を採用し、広がって抗体コーティング表面に接着する。この形態変化は、対照抗体では認められなかった。さらに、この効果は、用量依存性であることが見出され、表面上の抗体の濃度が増加するにつれて、より速く及び/又はより明白な形状変化が生じた。この形状変化は、ICOSへのT細胞結合及び/又は抗ICOS抗体によるアゴニズムの代理の指標を提供する。このアッセイを使用して、T細胞表面上のICOSの多量体化を促進する抗体を同定することができる。かかる抗体は、治療用候補アゴニスト抗体を表す。好都合なことに、このアッセイによって提供される視覚的指標は、とりわけ多数の抗体又は細胞をスクリーニングする単純な方法である。このアッセイは、ハイスループットシステムで実行されるように自動化されてもよい。

【0269】

したがって、本発明の一態様は、任意選択で、ICOSアゴニスト抗体を選択するために、ICOSに結合する抗体を選択するためのアッセイであって、

試験ウェル中で基質に固定化(結合又は接着)された抗体のアレイを提供することと、

試験ウェルに、ICOS発現細胞(例えば、活性化初代T細胞又はMJ細胞)を添加することと、

細胞の形態を観察することと、

ウェル内での、丸い形状から基質に対して平坦化された形状への形状変化を検出することであって、形状変化は、抗体が、ICOSに結合する抗体、任意選択でICOSアゴニスト抗体であることを示す、検出することと、

試験ウェルから抗体を選択することと、を含む、アッセイである。

【0270】

このアッセイは、任意選択で並行して、例えば、96ウェルプレートフォーマットで、試験用の異なる抗体を各々含有する複数の試験ウェルで実行されてもよい。基質は、好ましくは、ウェルの内面である。したがって、二次元表面が提供され、それに対する細胞の平坦化が認められ得る。例えば、ウェルの底及び/又は壁が抗体でコーティングされ得る。基質に対する抗体の繋がりは、抗体の定常領域を介したものであり得る。

【0271】

陰性対照が含まれてもよく、かかる抗体は、ICOSに結合しないことが既知であるか、好ましくは、使用されるICOS発現細胞の表面上の抗原に結合しない抗体である。このアッセイは、形態変化の程度を定量化することと、複数の抗体が試験される場合、1つ

10

20

30

40

50

以上の他の試験抗体よりも大きい形態変化を誘導する抗体を選択することと、を含み得る。

【0272】

抗体の選択は、目的の試験ウェル中に存在する抗体をコードする核酸を発現させること、又はその抗体のCDR若しくは抗原結合ドメインを含む抗体を発現させることを含み得る。抗体は、任意選択で、例えば、選択された抗体の抗原結合ドメインを含む抗体、例えば、抗体断片、又は異なる定常領域を含む抗体を提供するために、再フォーマット化されてもよい。選択された抗体は、好ましくは、ヒトIgG1定常領域又は本明細書に記載される他の定常領域を伴う。選択された抗体はさらに、1つ以上の追加の成分を含む組成物中に製剤化されてもよく、好適な薬学的製剤は本明細書の他の箇所に考察される。

【0273】

条項

本発明の実施形態は、以下の付番された条項に記載され、これは明細書の一部である。

【0274】

条項1．ヒト及び/又はマウスICOSの細胞外ドメインに結合する単離された抗体であって、STIM003 VHドメイン(配列番号408)と少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVHドメインと、STIM003 VLドメイン(配列番号415)と少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVLドメインと、を含む、抗体。

【0275】

条項2．VHドメインが、1セットの重鎖相補性決定領域(HCDR) HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含み、

HCDR1が、配列番号405のアミノ酸配列を有するSTIM003 HCDR1であり、

HCDR2が、配列番号406のアミノ酸配列を有するSTIM003 HCDR2であり、

HCDR3が、配列番号407のアミノ酸配列を有するSTIM003 HCDR3である、条項1に記載の抗体。

【0276】

条項3．VLドメインが、1セットの軽鎖相補性判定領域(LCDR) LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含み、

LCDR1が、配列番号412のアミノ酸配列を有するSTIM003 LCDR1であり、

LCDR2が、配列番号413のアミノ酸配列を有するSTIM003 LCDR2であり、

LCDR3が、配列番号414のアミノ酸配列を有するSTIM003 LCDR3である、条項1又は条項2に記載の抗体。

【0277】

条項4．VHドメインのアミノ酸配列が配列番号408であり、及び/又はVLドメインのアミノ酸配列が配列番号415である、条項1に記載の抗体。

【0278】

条項5．ヒト及び/又はマウスICOSの細胞外ドメインに結合する単離された抗体であって、

相補性決定領域(CDR)、HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む抗体VHドメインと、

相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む抗体VLドメインと、を含み、

HCDR1が、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のHCDR1であるか、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有するそのHCDR1を含み、

10

20

30

40

50

HCDR2が、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のHCDR2であるか、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有するそのHCDR2を含み、及び/又は

HCDR3が、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のHCDR3であるか、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有するそのHCDR3を含む、抗体。

【0279】

条項6．抗体重鎖CDRが、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のものであるか、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有する、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009重鎖CDRを含む、条項5に記載の抗体。

10

【0280】

条項7．抗体VHドメインが、STIM003の重鎖CDRを有する、条項6に記載の抗体。

【0281】

条項8．ヒト及び/又はマウスICOSの細胞外ドメインに結合する単離された抗体であって、

20

相補性決定領域HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む抗体VHドメインと、相補性決定領域LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む抗体VLドメインと、を含み、

LCDR1が、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のLCDR1であるか、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有するそのLCDR1を含み、

LCDR2が、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のLCDR2であるか、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有するそのLCDR2を含み、及び/又は

30

LCDR3が、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のLCDR3であるか、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有するそのLCDR3を含む、抗体。

【0282】

条項9．抗体軽鎖CDRが、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009のものであるか、又は1、2、3、4若しくは5個のアミノ酸改変を有する、STIM001、STIM002、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM006、STIM007、STIM008若しくはSTIM009軽鎖CDRを含む、条項5～8のいずれか一項に記載の抗体。

40

【0283】

条項10．抗体VLドメインが、STIM003の軽鎖CDRを有する、条項9に記載の抗体。

【0284】

条項11．ヒト生殖細胞系遺伝子セグメント配列のVH及び/又はVLドメインフレームワーク領域を含む、条項5～10のいずれかに記載の抗体。

50

【 0 2 8 5 】

条項 1 2 .

(i) ヒト重鎖 V 遺伝子セグメント、ヒト重鎖 D 遺伝子セグメント、及びヒト重鎖 J 遺伝子セグメントの組換えに由来する V H ドメインであって、

V セグメントが、I G H V 1 - 1 8 (例えば、V 1 - 1 8 * 0 1)、I G V H 3 - 2 0 (例えば、V 3 - 2 0 * d 0 1)、I G V H 3 - 1 1 (例えば、V 3 - 1 1 * 0 1)若しくは I G V H 2 - 5 (例えば、V 2 - 5 * 1 0)であり、

D 遺伝子セグメントが、I G H D 6 - 1 9 (例えば、I G H D 6 - 1 9 * 0 1)、I G H D 3 - 1 0 (例えば、I G H D 3 - 1 0 * 0 1)若しくは I G H D 3 - 9 (例えば、I G H D 3 - 9 * 0 1)であり、及び/又は

J 遺伝子セグメントが、I G H J 6 (例えば、I G H J 6 * 0 2)、I G H J 4 (例えば、I G H J 4 * 0 2)若しくは I G H J 3 (例えば、I G H J 3 * 0 2)である、V H ドメイン、又は

(i i) フレームワーク領域 F R 1、F R 2、F R 3、及び F R 4 を含む V H ドメインであって、

F R 1 が、1、2、3、4 若しくは 5 個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系 V 遺伝子セグメント I G H V 1 - 1 8 (例えば、V 1 - 1 8 * 0 1)、I G V H 3 - 2 0 (例えば、V 3 - 2 0 * d 0 1)、I G V H 3 - 1 1 (例えば、V 3 - 1 1 * 0 1)若しくは I G V H 2 - 5 (例えば、V 2 - 5 * 1 0)と整列し、

F R 2 が、1、2、3、4 若しくは 5 個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系 V 遺伝子セグメント I G H V 1 - 1 8 (例えば、V 1 - 1 8 * 0 1)、I G V H 3 - 2 0 (例えば、V 3 - 2 0 * d 0 1)、I G V H 3 - 1 1 (例えば、V 3 - 1 1 * 0 1)若しくは I G V H 2 - 5 (例えば、V 2 - 5 * 1 0)と整列し、

F R 3 が、1、2、3、4 若しくは 5 個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系 V 遺伝子セグメント I G H V 1 - 1 8 (例えば、V 1 - 1 8 * 0 1)、I G V H 3 - 2 0 (例えば、V 3 - 2 0 * d 0 1)、I G V H 3 - 1 1 (例えば、V 3 - 1 1 * 0 1)若しくは I G V H 2 - 5 (例えば、V 2 - 5 * 1 0)と整列し、及び/又は

F R 4 が、1、2、3、4 若しくは 5 個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系 V 遺伝子セグメント I G J H 6 (例えば、J H 6 * 0 2)、I G J H 4 (例えば、J H 4 * 0 2)若しくは I G J H 3 (例えば、J H 3 * 0 2)と整列する、V H ドメインを含む、条項 5 ~ 1 1 のいずれかに記載の抗体。

【 0 2 8 6 】

条項 1 3 .

(i) ヒト軽鎖 V 遺伝子セグメント及びヒト軽鎖 J 遺伝子セグメントの組換えに由来する抗体 V L ドメインであって、

V セグメントが、I G K V 2 - 2 8 (例えば、I G K V 2 - 2 8 * 0 1)、I G K V 3 - 2 0 (例えば、I G K V 3 - 2 0 * 0 1)、I G K V 1 D - 3 9 (例えば、I G K V 1 D - 3 9 * 0 1)若しくは I G K V 3 - 1 1 (例えば、I G K V 3 - 1 1 * 0 1)であり、及び/又は

J 遺伝子セグメントが、I G K J 4 (例えば、I G K J 4 * 0 1)、I G K J 2 (例えば、I G K J 2 * 0 4)、I G L J 3 (例えば、I G K J 3 * 0 1)若しくは I G K J 1 (例えば、I G K J 1 * 0 1)である、抗体 V L ドメイン、又は

(i i) フレームワーク領域 F R 1、F R 2、F R 3、及び F R 4 を含む抗体 V L ドメインであって、

F R 1 が、1、2、3、4 若しくは 5 個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系 V 遺伝子セグメント I G K V 2 - 2 8 (例えば、I G K V 2 - 2 8 * 0 1)、I G K V 3 - 2 0 (例えば、I G K V 3 - 2 0 * 0 1)、I G K V 1 D - 3 9 (例えば、I G K V 1 D - 3 9 * 0 1)若しくは I G K V 3 - 1 1 (例えば、I G K V 3 - 1 1 * 0 1)と整列し、

F R 2 が、1、2、3、4 若しくは 5 個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系 V 遺伝子セグメント I G K V 2 - 2 8 (例えば、I G K V 2 - 2 8 * 0 1)、I G K V 3 - 2 0 (例えば、I G K V 3 - 2 0 * 0 1)、I G K V 1 D - 3 9 (例えば、I G K V 1 D

10

20

30

40

50

- 3 9 * 0 1)若しくは I G K V 3 - 1 1 (例えば、I G K V 3 - 1 1 * 0 1)と整列し、
F R 3 が、1、2、3、4 若しくは 5 個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系 V 遺伝子セグメント I G K V 2 - 2 8 (例えば、I G K V 2 - 2 8 * 0 1)、I G K V 3 - 2 0 (例えば、I G K V 3 - 2 0 * 0 1)、I G K V 1 D - 3 9 (例えば、I G K V 1 D - 3 9 * 0 1)若しくは I G K V 3 - 1 1 (例えば、I G K V 3 - 1 1 * 0 1)と整列し、及び/又は

F R 4 が、1、2、3、4 若しくは 5 個のアミノ酸改変を有していてもよいヒト生殖細胞系 V 遺伝子セグメント I G K J 4 (例えば、I G K J 4 * 0 1)、I G K J 2 (例えば、I G K J 2 * 0 4)、I G K J 3 (例えば、I G K J 3 * 0 1)若しくは I G K J 1 (例えば、I G K J 1 * 0 1)と整列する、抗体 V L ドメインを含む、条項 5 ~ 1 2 のいずれかに記載の抗体。

10

【 0 2 8 7 】

条項 1 4 . S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 2、S T I M 0 0 2 - B、S T I M 0 0 3、S T I M 0 0 4、S T I M 0 0 5、S T I M 0 0 6、S T I M 0 0 7、S T I M 0 0 8 若しくは S T I M 0 0 9 の V H ドメインであるか、又は S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 2、S T I M 0 0 2 - B、S T I M 0 0 3、S T I M 0 0 4、S T I M 0 0 5、S T I M 0 0 6、S T I M 0 0 7、S T I M 0 0 8 若しくは S T I M 0 0 9 の抗体 V H ドメイン配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する、抗体 V H ドメインを含む、条項 5 ~ 1 3 のいずれかに記載の抗体。

【 0 2 8 8 】

条項 1 5 . S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 2、S T I M 0 0 2 - B、S T I M 0 0 3、S T I M 0 0 4、S T I M 0 0 5、S T I M 0 0 6、S T I M 0 0 7、S T I M 0 0 8 若しくは S T I M 0 0 9 の V L ドメインであるか、又は S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 2、S T I M 0 0 2 - B、S T I M 0 0 3、S T I M 0 0 4、S T I M 0 0 5、S T I M 0 0 6、S T I M 0 0 7、S T I M 0 0 8 若しくは S T I M 0 0 9 の抗体 V L ドメイン配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する、抗体 V L ドメインを含む、条項 5 ~ 1 3 のいずれかに記載の抗体。

20

【 0 2 8 9 】

条項 1 6 .

S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 2、S T I M 0 0 2 - B、S T I M 0 0 3、S T I M 0 0 4、S T I M 0 0 5、S T I M 0 0 6、S T I M 0 0 7、S T I M 0 0 8 若しくは S T I M 0 0 9 の V H ドメインから選択されるか、又は S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 2、S T I M 0 0 2 - B、S T I M 0 0 3、S T I M 0 0 4、S T I M 0 0 5、S T I M 0 0 6、S T I M 0 0 7、S T I M 0 0 8 若しくは S T I M 0 0 9 の抗体 V H ドメイン配列と少なくとも 9 0 % 同一であるアミノ酸配列を有する、抗体 V H ドメインと、

30

選択された抗体の V L ドメインであるか、又は選択された抗体の抗体 V L ドメイン配列と少なくとも 9 0 % 同一のアミノ酸配列を有する、抗体 V L ドメインと、を含む、条項 1 5 に記載の抗体。

【 0 2 9 0 】

条項 1 7 . S T I M 0 0 3 V H ドメイン及び S T I M 0 0 3 V L ドメインを含む、条項 1 6 に記載の抗体。

40

【 0 2 9 1 】

条項 1 8 . 抗体定常領域を含む、条項 1 ~ 1 7 のいずれかに記載の抗体。

【 0 2 9 2 】

条項 1 9 . 定常領域が、ヒト重鎖及び/又は軽鎖定常領域を含む、条項 1 8 に記載の抗体。

【 0 2 9 3 】

条項 2 0 . 定常領域が、F c エフェクター陽性である、条項 1 8 又は条項 1 9 に記載の抗体。

【 0 2 9 4 】

50

条項 2 1 . 天然のヒト F c 領域と比較して増強した A D C C、A D C P、及び/又は C D C 機能を有する F c 領域を含む、条項 2 0 に記載の抗体。

【 0 2 9 5 】

条項 2 2 . 抗体が、I g G 1 である、条項 1 8 ~ 2 1 のいずれかに記載の抗体。

【 0 2 9 6 】

条項 2 3 . 抗体が、フコシル化されていない、条項 2 1 又は条項 2 2 に記載の抗体。

【 0 2 9 7 】

条項 2 4 . 細胞傷害性薬物又はプロドラッグと接合された、条項 1 ~ 2 3 のいずれかに記載の抗体。

【 0 2 9 8 】

条項 2 5 . 多重特異性抗体である、条項 1 ~ 2 4 のいずれかに記載の抗体。

【 0 2 9 9 】

条項 2 6 . 表面プラズモン共鳴によって判定した場合、5 0 n M 未満の親和性(K_D)でヒト及びマウス I C O S の細胞外ドメインに結合する、単離された抗体。

【 0 3 0 0 】

条項 2 7 . 抗体が、表面プラズモン共鳴によって判定した場合、5 n M 未満の親和性(K_D)でヒト及びマウス I C O S の細胞外ドメインに結合する、条項 2 6 に記載の抗体。

【 0 3 0 1 】

条項 2 8 . ヒト I C O S の細胞外ドメインに結合する K_D が、マウス I C O S の細胞外ドメインに結合する K_D の 1 0 倍以内である、条項 2 6 又は条項 2 7 に記載の抗体。

【 0 3 0 2 】

条項 2 9 . 条項 1 ~ 2 8 のいずれかに記載の単離された抗体と、薬学的に許容される賦形剤と、を含む、組成物。

【 0 3 0 3 】

条項 3 0 . 条項 1 ~ 2 9 のいずれかに記載の抗体をコードする単離された核酸と、薬学的に許容される賦形剤と、を含む、組成物。

【 0 3 0 4 】

条項 3 1 . 制御性 T 細胞(T r e g)とエフェクター T 細胞(T e f f)とのバランスを調節して、患者の T e f f 応答を増加させる方法であって、条項 1 ~ 2 8 のいずれかに記載の抗体、又は条項 2 9 に記載の組成物を患者に投与することを含む、方法。

【 0 3 0 5 】

条項 3 2 . 患者において制御性 T 細胞(T r e g)を枯渇させ、及び/又はエフェクター T 細胞(T e f f)応答を増加させることによって療法を受けることができる疾患又は病的状態を治療する方法であって、条項 1 ~ 2 8 のいずれかに記載の抗体、又は条項 2 9 に記載の組成物を患者に投与することを含む、方法。

【 0 3 0 6 】

条項 3 3 . 療法によるヒトの身体の治療方法において使用するための、条項 1 ~ 2 8 のいずれかに記載の抗体、又は条項 2 9 に記載の組成物。

【 0 3 0 7 】

条項 3 4 . 制御性 T 細胞(T r e g)とエフェクター T 細胞(T e f f)とのバランスを調節して、患者のエフェクター T 細胞応答を増加させることに使用するための、条項 3 3 に記載の使用のための抗体又は組成物。

【 0 3 0 8 】

条項 3 5 . 患者における制御性 T 細胞(T r e g)の枯渇及び/又はエフェクター T 細胞(T e f f)応答の増加による療法を受けることができる疾患又は病的状態の治療における使用のための、条項 3 3 に記載の使用のための抗体又は組成物。

【 0 3 0 9 】

条項 3 6 . 疾患が、癌又は固形腫瘍である、条項 3 2 に記載の方法、又は条項 3 5 に記載の使用のための抗体若しくは組成物。

【 0 3 1 0 】

10

20

30

40

50

条項 37 . ヒト患者の癌を治療する方法における使用のための、条項 1 ~ 28 のいずれかに記載の抗体又は条項 29 に記載の組成物。

【 0 3 1 1 】

条項 38 . ヒト患者の癌を治療する方法であって、条項 1 ~ 28 のいずれかに記載の抗体、又は条項 29 に記載の組成物を、患者に投与することを含む、方法。

【 0 3 1 2 】

条項 39 . 癌が、腎細胞癌、頭頸部癌、黒色腫、非小細胞肺癌、又はびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫である、条項 36 ~ 38 のいずれかに記載の使用のための方法又は抗体若しくは組成物。

【 0 3 1 3 】

条項 40 . 方法が、抗体並びに別の治療剤及び/又は放射線療法を患者に施すことを含む、条項 31 ~ 39 のいずれかに記載の方法又は抗体若しくは組成物。

【 0 3 1 4 】

条項 41 . 治療剤が、抗 PD - L1 抗体である、条項 40 に記載の使用のための方法又は抗体若しくは組成物。

【 0 3 1 5 】

条項 42 . 抗 PD - L1 抗体が、配列番号 299 のアミノ酸配列を有する VH ドメインと、配列番号 300 のアミノ酸配列を有する VL ドメインと、を含む、条項 41 に記載の使用のための方法又は抗体若しくは組成物。

【 0 3 1 6 】

条項 43 . 治療剤が、抗 PD - L1 IL - 2 免疫サイトカインである、条項 41 又は条項 42 に記載の使用のための方法又は抗体若しくは組成物。

【 0 3 1 7 】

条項 44 . 抗 PD - L1 抗体が、ヒト野生型又は変異型 IL - 2 を含む免疫サイトカインである、条項 43 に記載の使用のための方法又は抗体若しくは組成物。

【 0 3 1 8 】

条項 45 . 抗 ICOS 抗体及び前記抗 PD L1 抗体が、ADCC、ADCP、及び/又は CDC を各々媒介することができる、条項 44 に記載の使用のための方法又は抗体若しくは組成物。

【 0 3 1 9 】

条項 46 . 抗 ICOS 抗体が、ヒト Ig G1 抗体であり、抗 PD L1 抗体が、ヒト Ig G1 抗体である、条項 41 ~ 45 のいずれかに記載の使用のための方法又は抗体若しくは組成物。

【 0 3 2 0 】

条項 47 . 治療剤が、抗 PD - 1 抗体である、条項 40 に記載の使用のための方法又は抗体若しくは組成物。

【 0 3 2 1 】

条項 48 . 他の治療剤が、IL - 2 である、条項 40 に記載の使用のための方法又は抗体若しくは組成物。

【 0 3 2 2 】

条項 49 . 方法が、他の治療剤及び/又は放射線療法を施した後に抗 ICOS 抗体を投与することを含む、条項 40 ~ 48 のいずれかに記載の使用のための方法又は抗体若しくは組成物。

【 0 3 2 3 】

条項 50 .

抗 ICOS 抗体が、プロドラッグと接合され、
方法又は使用が、

抗 ICOS 抗体を患者に投与することと、

標的組織部位でプロドラッグを選択的に活性化させることと、を含む、条項 31 ~ 49 のいずれかに記載の方法又は抗体若しくは組成物。

10

20

30

40

50

【 0 3 2 4 】

条項 5 1 . 患者が、固形腫瘍を有し、当該方法が、腫瘍においてプロドラッグを選択的に活性化させることを含む、条項 5 0 に記載の使用のための方法又は抗体若しくは組成物。

【 0 3 2 5 】

条項 5 2 . 光活性化によってプロドラッグを選択的に活性化させることを含む、条項 5 0 又は条項 5 1 に記載の使用のための方法又は抗体若しくは組成物。

【 0 3 2 6 】

条項 5 3 . 患者の癌を治療する方法における使用のための、抗 I C O S ヒト I g G 1 抗体と抗 P D L 1 ヒト I g G 1 抗体との組合せ。

【 0 3 2 7 】

条項 5 4 . 患者の癌を治療する方法であって、抗 I C O S ヒト I g G 1 抗体及び抗 P D - L 1 ヒト I g G 1 抗体を患者に投与することを含む、方法。

【 0 3 2 8 】

条項 5 5 . 患者の癌を治療する方法における使用のための抗 I C O S 抗体であって、当該方法が、抗 I C O S 抗体及び抗 P D - L 1 抗体を患者に投与することを含み、単回用量の抗 I C O S 抗体が投与される、抗 I C O S 抗体。

【 0 3 2 9 】

条項 5 6 . 抗 I C O S 抗体が、ヒト I g G 1 抗体であり、抗 P D - L 1 抗体が、ヒト I g G 1 抗体である、条項 5 5 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体。

【 0 3 3 0 】

条項 5 7 . 癌が、腎細胞癌、頭頸部癌、黒色腫、非小細胞肺癌、又はびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫である、条項 5 3 に記載の組合せ、条項 5 4 に記載の方法、又は条項 5 5 若しくは条項 5 6 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体。

【 0 3 3 1 】

条項 5 8 . 方法が、抗 I C O S 抗体及び抗 P D - L 1 抗体を患者に投与することを含み、単回用量の抗 I C O S 抗体が投与される、条項 4 1 ~ 4 6 又は 5 3 ~ 5 4 のいずれかに記載の使用のための方法又は抗体、組成物若しくは組合せ。

【 0 3 3 2 】

条項 5 9 . 方法が、単回用量の抗 I C O S 抗体、続いて複数回用量の抗 P D - L 1 抗体を投与することを含む、条項 5 8 に記載の使用のための方法又は抗体、組成物若しくは組合せ。

【 0 3 3 3 】

条項 6 0 . 抗 I C O S 抗体及び抗 P D L 1 抗体が、投与のために別々の組成物で提供される、条項 4 1 ~ 4 6 又は 5 3 ~ 5 4 のいずれかに記載の使用のための方法又は抗体、組成物若しくは組合せ。

【 0 3 3 4 】

条項 6 1 . 抗 I C O S 抗体及び/又は抗 P D - L 1 抗体が、配列番号 3 4 0 のアミノ酸配列を含むヒト I g G 1 定常領域を含む、条項 4 1 ~ 4 6 又は 5 3 ~ 6 0 のいずれかに記載の使用のための方法又は抗体、組成物若しくは組合せ。

【 0 3 3 5 】

条項 6 2 . 患者を治療する方法における使用のための抗 I C O S 抗体であって、当該方法が、抗 I C O S 抗体を、別の治療剤での治療後に増加したレベルの I C O S 陽性制御性 T 細胞を有する患者に投与することを含む、方法。

【 0 3 3 6 】

条項 6 3 . 患者を治療する方法であって、当該方法が、抗 I C O S 抗体を、別の治療剤での治療後に増加したレベルの I C O S 陽性制御性 T 細胞を有する患者に投与することを含む、方法。

【 0 3 3 7 】

条項 6 4 . 方法が、治療剤を患者に投与することと、患者が薬剤での治療後に増加したレベルの I C O S 陽性制御性 T 細胞を有すると判定することと、抗 I C O S 抗体を患者に

10

20

30

40

50

投与して制御性T細胞のレベルを低減させることと、を含む、条項62に記載の使用のための抗ICOS抗体、又は条項63に記載の方法。

【0338】

条項65．治療剤が、IL-2又は免疫調節抗体(例えば、抗PD-L1、抗PD-1、又は抗CTLA-1)である、条項62～64のいずれかに記載の使用のための抗ICOS抗体又は方法。

【0339】

条項66．方法が、腫瘍、例えば、転移性黒色腫等の黒色腫を治療することを含む、条項62～65のいずれかに記載の使用のための抗ICOS抗体又は方法。

【0340】

条項67．患者における癌を、患者に自身の癌細胞に対するインビボのワクチン接種を行うことによって治療する方法における使用のための抗ICOS抗体であって、当該方法が、

抗原特異的エフェクターT細胞に対する抗原の提示をもたらす、癌細胞の免疫学的細胞死を引き起こす療法によって患者を治療することと、

抗ICOS抗体を患者に投与することであって、抗ICOS抗体が、抗原特異的エフェクターT細胞応答を増強する、投与することと、を含む、抗ICOS抗体。

【0341】

条項68．患者における癌を、患者に自身の癌細胞に対するインビボのワクチン接種を行うことによって治療する方法であって、当該方法が、

抗原特異的エフェクターT細胞に対する抗原の提示をもたらす、癌細胞の免疫学的細胞死を引き起こす療法によって患者を治療することと、

抗ICOS抗体を患者に投与することであって、抗ICOS抗体が、抗原特異的エフェクターT細胞応答を増強する、投与することと、を含む、方法。

【0342】

条項69．患者における癌を、患者に自身の癌細胞に対するインビボのワクチン接種を行うことによって治療する方法であって、当該方法が、抗ICOS抗体を患者に投与することを含み、

患者が、抗原特異的エフェクターT細胞に対する抗原の提示をもたらす、癌細胞の免疫学的細胞死を引き起こす療法によって以前に治療されている患者であり、そして

抗ICOS抗体が、抗原特異的エフェクターT細胞応答を増強する、方法。

【0343】

条項70．免疫学的細胞死を引き起こす療法が、癌細胞の放射線照射、化学療法剤の投与、及び/又は腫瘍関連抗原に対する抗体の投与である、条項67～69のいずれかに記載の使用のための抗ICOS抗体又は方法。

【0344】

条項71．化学療法剤が、オキサリプラチンである、条項70に記載の使用のための抗ICOS抗体又は方法。

【0345】

条項72．腫瘍関連抗原が、HER2又はCD20である、条項70に記載の使用のための抗ICOS抗体又は方法。

【0346】

条項73．患者の癌を治療する方法における使用のための抗ICOS抗体であって、癌が、ICOSリガンド及び/又はFOX P3の発現について陽性であると特徴付けられるか、又は特徴付けられている、抗ICOS抗体。

【0347】

条項74．患者の癌を治療する方法であって、癌が、ICOSリガンド及び/又はFOX P3の発現について陽性であると特徴付けられるか、又は特徴付けられており、当該方法が、抗ICOS抗体を患者に投与することを含む、方法。

【0348】

10

20

30

40

50

条項 75 . 当該方法が、
患者からの試料を試験して、癌が、ICOS リガンド及び/又は FOXP3 を発現することとを判定することと、
患者を抗 I C O S 抗体による治療のために選択することと、
抗 I C O S 抗体を患者に投与することと、を含む、条項 85 ~ 87 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

【 0 3 4 9 】

条項 76 . 当該方法が、抗 I C O S 抗体を、癌が I C O S リガンド及び/又は FOXP3 の発現について陽性であることを示した試験試料の患者に投与することを含む、条項 73 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は条項 74 に記載の方法。

10

【 0 3 5 0 】

条項 77 . 試料が、固形腫瘍の生検試料である、条項 75 又は条項 76 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

【 0 3 5 1 】

条項 78 . 癌が、免疫腫瘍学的薬物、例えば、抗 CTLA-4 抗体、抗 PD1 抗体、抗 PD-L1 抗体、抗 CD137 抗体、又は抗 GITR 抗体での治療に対して難治性であると特徴付けられるか、又は特徴付けられている、患者の癌を治療する方法における使用のための抗 I C O S 抗体。

【 0 3 5 2 】

条項 79 . 患者の癌を治療する方法であって、癌が、免疫腫瘍学的薬物、例えば、抗 CTLA-4 抗体、抗 PD1 抗体、抗 PD-L1 抗体、抗 CD137 抗体、又は抗 GITR 抗体での治療に対して難治性であると特徴付けられるか、又は特徴付けられており、当該方法が、抗 I C O S 抗体を患者に投与することを含む、方法。

20

【 0 3 5 3 】

条項 80 . 当該方法が、
患者を免疫腫瘍学的薬物で治療することと、
癌が薬物に応答しないことを判定することと、
患者を抗 I C O S 抗体による治療のために選択することと、
抗 I C O S 抗体を患者に投与することと、を含む、条項 78 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は条項 79 に記載の方法。

30

【 0 3 5 4 】

条項 81 . 当該方法が、抗 I C O S 抗体を、癌が免疫腫瘍学的薬物での前治療に応答しなかった患者に投与することを含む、条項 78 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は条項 79 に記載の方法。

【 0 3 5 5 】

条項 82 . 癌が、ICOS リガンドを発現する能力を獲得した細胞に由来する腫瘍である、条項 73 ~ 81 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

【 0 3 5 6 】

条項 83 . 癌が、黒色腫である、条項 82 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

40

【 0 3 5 7 】

条項 84 . 癌が、B リンパ球(例えば、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫等の B 細胞リンパ腫)又は T リンパ球等の抗原提示細胞に由来する、条項 73 ~ 81 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

【 0 3 5 8 】

条項 85 . 癌が、抗 CD20 抗体による治療に耐性である、条項 73 ~ 81 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

【 0 3 5 9 】

条項 86 . 癌が、B 細胞リンパ腫である、条項 85 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

50

【 0 3 6 0 】

条項 8 7 . 抗 C D 2 0 抗体が、リツキシマブである、条項 8 6 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

【 0 3 6 1 】

条項 8 8 . 当該方法が、抗 C D 2 0 抗体で患者を治療することと、
癌が抗 C D 2 0 抗体に应答しないことを判定することと、
患者からの試料を試験して、癌が、I C O S リガンドを発現することを判定することと、
患者を抗 I C O S 抗体による治療のために選択することと、
抗 I C O S 抗体を患者に投与することと、を含む、条項 8 5 ~ 8 7 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

10

【 0 3 6 2 】

条項 8 9 . 当該方法が、抗 I C O S 抗体を、癌が抗 C D - 2 0 抗体での前治療に应答しなかった患者に投与することを含む、条項 8 5 ~ 8 7 のいずれか一項に記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

【 0 3 6 3 】

条項 9 0 . 癌が、固形腫瘍である、条項 6 7 ~ 8 9 のいずれか一項に記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

【 0 3 6 4 】

条項 9 1 . 癌が、血液学的液体腫瘍である、条項 6 7 ~ 8 9 のいずれか一項に記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

20

【 0 3 6 5 】

条項 9 2 . 腫瘍が、制御性 T 細胞に富む、条項 9 0 又は 9 1 に記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

【 0 3 6 6 】

条項 9 3 . 抗 I C O S 抗体が、条項 1 ~ 2 8 のいずれかに定義される通りであるか、又は条項 2 9 に記載の組成物中に提供される、条項 5 3 ~ 9 2 のいずれかに記載の使用のための抗 I C O S 抗体又は方法。

【 0 3 6 7 】

条項 9 4 . ヒト可変領域遺伝子セグメントをコードするヒト又はヒト化免疫グロブリン遺伝子座を含むゲノムを有するトランスジェニック非ヒト哺乳動物であって、当該哺乳動物が、I C O S を発現しない、哺乳動物。

30

【 0 3 6 8 】

条項 9 5 . ヒト及び非ヒト I C O S の細胞外ドメインに結合する抗体を産生する方法であって、

- (a) 条項 9 4 に記載の哺乳動物をヒト I C O S 抗原で免疫付与することと、
- (b) 哺乳動物によって生成された抗体を単離することと、
- (c) ヒト I C O S 及び非ヒト I C O S に結合する能力について抗体を試験することと、
- (d) ヒト I C O S 及び非ヒト I C O S の両方に結合する 1 つ以上の抗体を選択することと、を含む、方法。

【 0 3 6 9 】

40

条項 9 6 . 哺乳動物を、ヒト I C O S を発現する細胞で免疫付与することを含む、条項 9 5 に記載の方法。

【 0 3 7 0 】

条項 9 7 .

- (c) 表面プラズモン共鳴を使用してヒト I C O S 及び非ヒト I C O S に結合する能力について抗体を試験し、結合親和性を判定することと、
- (d) ヒト I C O S に対する結合の K_D が 5 0 n M 未満であり、非ヒト I C O S に対する結合の K_D が 5 0 0 n M 未満である 1 つ以上の抗体を選択することと、を含む、条項 9 5 又は条項 9 6 に記載の方法。

【 0 3 7 1 】

50

条項 9 8 .

(d) ヒト I C O S に対する結合の K_D が 1 0 n M 未満であり、非ヒト I C O S に対する結合の K_D が 1 0 0 n M 未満である 1 つ以上の抗体を選択することを含む、条項 9 7 に記載の方法。

【 0 3 7 2 】

条項 9 9 .

(c) 表面プラズモン共鳴を使用してヒト I C O S 及び非ヒト I C O S に結合する能力について抗体を試験し、結合親和性を判定することと、

(d) ヒト I C O S に対する結合の K_D が非ヒト I C O S に対する結合の K_D の 1 0 倍以内である 1 つ以上の抗体を選択することと、を含む、条項 9 5 ~ 9 8 のいずれかに記載の方法。

10

【 0 3 7 3 】

条項 1 0 0 .

(d) ヒト I C O S に対する結合の K_D が非ヒト I C O に対する結合の K_D の 5 倍以内である 1 つ以上の抗体を選択することを含む、条項 9 9 に記載の方法。

【 0 3 7 4 】

条項 1 0 1 . 哺乳動物と同じ種からの非ヒト I C O S に結合する能力について抗体を試験することを含む、条項 9 5 ~ 1 0 0 のいずれかに記載の方法。

【 0 3 7 5 】

条項 1 0 2 . 哺乳動物とは異なる種からの非ヒト I C O S に結合する能力について抗体を試験することを含む、条項 9 5 ~ 1 0 1 のいずれかに記載の方法。

20

【 0 3 7 6 】

条項 1 0 3 . 哺乳動物が、マウス又はラットである、条項 9 5 ~ 1 0 2 のいずれかに記載の方法。

【 0 3 7 7 】

条項 1 0 4 . 非ヒト I C O S が、マウス I C O S 又はラット I C O S である、条項 9 5 ~ 1 0 3 のいずれかに記載の方法。

【 0 3 7 8 】

条項 1 0 5 . ヒト又はヒト化免疫グロブリン遺伝子座が、内在性定常領域の上流にヒト可変領域遺伝子セグメントを含む、条項 9 5 ~ 1 0 4 のいずれかに記載の方法。

【 0 3 7 9 】

30

条項 1 0 6 .

(a) 条項 9 4 に記載の哺乳動物をヒト I C O S 抗原で免疫付与することであって、哺乳動物が、マウスである、免疫付与することと、

(b) マウスによって生成された抗体を単離することと、

(c) ヒト I C O S 及びマウス I C O S に結合する能力について抗体を試験することと、

(d) ヒト及びマウス I C O S の両方に結合する 1 つ以上の抗体を選択することと、を含む、条項 1 0 5 に記載の方法。

【 0 3 8 0 】

条項 1 0 7 . 抗体重鎖可変ドメイン及び/又は抗体軽鎖可変ドメインをコードする核酸を単離することを含む、条項 9 5 ~ 1 0 6 のいずれかに記載の方法。

40

【 0 3 8 1 】

条項 1 0 8 . 哺乳動物が、ヒト可変領域遺伝子セグメント及び内在性定常領域の組換えによって抗体を生成する、条項 9 5 ~ 1 0 7 のいずれかに記載の方法。

【 0 3 8 2 】

条項 1 0 9 . 重鎖及び/又は軽鎖可変ドメインをコードする核酸を、ヒト重鎖定常領域及び/又はヒト軽鎖定常領域とそれぞれ接合することを含む、条項 1 0 7 又は条項 1 0 8 に記載の方法。

【 0 3 8 3 】

条項 1 1 0 . 核酸を宿主細胞に導入することを含む、条項 1 0 7 ~ 1 0 9 のいずれかに記載の方法。

50

【0384】

条項111．抗体、又は抗体重鎖及び/若しくは軽鎖可変ドメインの発現のための条件下で宿主細胞を培養することを含む、条項110に記載の方法。

【0385】

条項112．条項95～111のいずれかに記載の方法によって産生された、抗体、又は抗体重鎖及び/若しくは軽鎖可変ドメイン。

【0386】

条項113．任意選択で、ICOSアゴニスト抗体を選択するために、ICOSに結合する抗体を選択する方法であって、アッセイが、

試験ウェル中で基質に固定化(結合又は接着)された抗体のアレイを提供することと、

試験ウェルに、ICOS発現細胞(例えば、活性化初代T細胞又はMJ細胞)を添加することと、

細胞の形態を観察することと、

ウェル内での、丸い形状から基質に対して平坦化された形状への細胞の形状変化を検出することであって、形状変化が、抗体が、ICOSに結合する抗体、任意選択でICOSアゴニスト抗体であることを示す、検出することと、

試験ウェルから抗体を選択することと、

選択された抗体のCDRをコードする核酸を発現させることと、

抗体を、1つ以上の追加の成分を含む組成物中に製剤化することと、を含む、方法。

【0387】

本発明の様々なさらなる態様及び実施形態は、本開示を考慮すれば当業者には明らかであろう。言及される任意の特許又は特許出願の公開された米国対応出願を含む、本明細書において言及される全ての文書は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【0388】

実験例

以下の実施例は、抗ICOS抗体の生成、特性評価、及び性能を記載する。ヒト可変ドメインを有する抗体を生成することができるトランスジェニックマウスプラットフォームであるKymouse(商標)を使用して抗体を生成した。Kymouse(商標)からの抗体は、ヒトV(D)及びJセグメントから生成されたヒト可変ドメインと、マウス定常ドメインと、を有する。内因性マウス可変遺伝子は、沈静化され、レパートリーの非常に小さな部分を構成する(全ての重鎖可変領域の0.5%未満がマウス起源である)。Kymouse(商標)システムは、Lee et al 2014[39]、WO2011/004192、WO2011/158009、及びWO2013/061098に記載されている。このプロジェクトでは、重鎖遺伝子座及び軽鎖カップ遺伝子座がヒト化されたKymouse(商標)HK株を用いた。

【0389】

ICOSノックアウトKymouse(商標)に、ICOSタンパク質、又はヒト及びマウスICOSを発現するタンパク質及び細胞の交互のブーストの組合せのいずれかで免疫付与した。

【0390】

ヒトICOSに結合したヒットを同定した。スクリーンの一次選択基準は、ヒト細胞発現ICOS(CHO細胞)への結合及びICOSタンパク質(HTRF)への結合であった。マウスICOSタンパク質及びマウス細胞発現ICOS(CHO細胞)への結合も評価し、一次スクリーンヒットを選択するときに考慮に入れた。これらの基準を使用して、ヒットを2次スクリーンに進めた。二次スクリーニングでは、フローサイトメトリーによってCHO細胞上に発現されたヒト及びマウスICOSに対する結合を測定することにより、ヒットを確認した。

【0391】

スクリーニングされた多数の抗体から、表面プラズモン共鳴及びフローサイトメトリーによって判定された、ヒト/カニクイザル及びマウスICOSに結合する小パネルを同定し

10

20

30

40

50

た。これらの抗体には、S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 2 及びその変異型 S T I M 0 0 2 - B、S T I M 0 0 3、S T I M 0 0 4、並びに S T I M 0 0 5 が含まれた。マウス I C O S との交差反応性は低い、ヒト I C O S 受容体のアゴニズムを示す、さらなる 4 個の抗体 S T I M 0 0 6、S T I M 0 0 7、S T I M 0 0 8、及び S T I M 0 0 9 も選択された。ここに提示するデータは、I C O S 陽性 C D 4 + 細胞株及び初代 T 細胞アッセイにおいて I C O S 受容体のアゴニストとして作用する抗 I C O S 抗体の能力を示し、A D C C アッセイにおける細胞死滅能力、及びインビボで抗腫瘍免疫応答を促進する能力を示す。

【 0 3 9 2 】

実施例 1 : I C O S ノックアウトマウスの生成

K y m o u s e (商標) H K E S 細胞における相同組換えによって、I C O S ノックアウト K y m o u s e (商標) 株を生成した。簡潔には、ピューロマイシン選択をコードする 3 . 5 k b の標的化ベクターを E S 細胞に標的化した。標的化の成功により、マウス I C O S 遺伝子座の小さな領域 (7 2 b p) がピューロマイシンカセットで置換され、遺伝子のシグナルペプチド/開始コドンを経断させた。陽性 E S クローンを増殖させ、マウス胚盤胞に微量注入し、得られたキメラを繁殖させて、ヒト化重鎖及びカッパ免疫グロブリン遺伝子座、並びに修飾された機能的ヌル I C O S 遺伝子座の両方についてホモ接合性の動物を最終的に生成した。

【 0 3 9 3 】

実施例 2 : 抗原及び細胞株の調製

ヒト又はマウス I C O S を発現する、安定的にトランスフェクトされた M E F 及び C H O - S 細胞の生成

合成 D N A 列として注文したヒト及びマウス I C O S をコードする全長 D N A 配列を、哺乳動物発現についてコドン最適化し、C M V プロモーターの制御下で、3 ' 及び 5 ' p i g g y B a c 特異的末端反復配列に隣接した発現ベクターにクローニングし、細胞ゲノム内への安定した組込みを容易にした ([4 0] を参照されたい)。発現ベクターは、安定した細胞株生成を容易にするために、ピューロマイシン選択カセットを含有した。ヒト I C O S 発現細胞株及びマウス I C O S 発現細胞株の生成のために、製造業者の指示に従って F r e e S t y l e M a x トランスフェクション試薬 (I n v i t r o g e n) を使用して、それぞれヒト又はマウス I C O S 発現プラスミドを、マウス胎仔線維芽 (M E F) 細胞株及び C H O - S 細胞に、p i g g y B a c トランスポザラーゼをコードするプラスミドと共に同時トランスフェクトした。C 5 7 B L 6 雌マウスと交配した 1 2 9 S 5 から得られた胚から M E F 細胞を生成した。トランスフェクションの 2 4 時間後に、培地にピューロマイシンを補充し、少なくとも 2 週間成長させて、安定した細胞株を選択した。3 ~ 4 日ごとに細胞培養培地を交換した。それぞれ抗ヒト又は抗マウス I C O S - P E に接合された抗体 (e B i o s c i e n c e) を使用してフローサイトメトリーによってヒト又はマウス I C O S タンパク質の発現を評価した。完全 M E F 培地は、1 0 % v / v のウシ胎仔血清 (G i b c o) を補充したダルベッコ変法イーグル培地 (G i b c o) で構成された。完全 C H O - S 培地は、8 m M の G l u t a m a x (G i b c o) で補充した C D - C H O 培地で構成された。C H O - S 細胞は、カナダ国立研究機構から入手可能な p T T 5 系に含まれる C H O - 3 E 7 細胞株であるが、他の C H O 細胞株を用いてもよい。

【 0 3 9 4 】

マウス免疫付与のための M E F 細胞の調製

細胞培養培地を除去し、細胞を 1 x P B S で 1 回洗浄した。細胞をトリプシンで 5 分間処理して、組織培養表面から細胞を離した。細胞を回収し、1 0 % v / v ウシ胎仔血清 (F C S) を含有する完全 M E F 培地の添加によってトリプシン中和した。次いで、細胞を 1 0 分間、3 0 0 g で遠心分離させ、2 5 m l の 1 x P B S で洗浄した。細胞を計数し、1 x P B S 中、適切な濃度で再懸濁した。

【 0 3 9 5 】

組換えタンパク質のクローニング及び発現

標準分子生物学技術を使用して、ヒト I C O S (N C B I I D : N P _ 0 3 6 2 2 4 .

10

20

30

40

50

1)、マウスICOS(NCBI ID: NP_059508.2)、及びカニクイザル(GenBank ID: EHH55098.1)の細胞外ドメインをコードする合成DNAを、pREP4(Invitrogen)発現プラスミド又はpTT5(カナダ国立研究機構)発現プラスミドのいずれかにクローニングした。構築物はまた、精製及び検出を補助するために、ヒトFc、マウスFc、又はFLAG Hisペプチドモチーフのいずれかを含有した。オーバーラップエクステンションによってこれらをDNA構築物に添加した。それらの正しい配列組成を確実にするために、発現前に全ての構築物を配列決定した。

【0396】

実施例3：免疫付与

表E3に示されるレジメンに従って、ICOSノックアウトHK Kymice(商標)(実施例1を参照されたい)、Kymouse(商標)野生型HK株、及びKymouse(商標)野生型HL株に免疫付与した。Kymouse(商標)野生型HK及びHL株は、野生型マウスICOSを発現する。HK株では、免疫グロブリン重鎖遺伝子座及び軽鎖カッパ遺伝子座がヒト化され、HL株では、免疫グロブリン重鎖遺伝子座及び軽鎖ラムダ遺伝子座がヒト化された。

10

20

30

40

50

【表 1】

レジーム	マウス	プライム	ブースト 1	ブースト 2	ブースト 3	最終ブースト
KM103	ICOS KO	mICOS Fc	hICOS MEF	mICOS Fc	hICOS MEF	mICOS Fc
KM103	ICOS KO	mICOS Fc	hICOS Fc	mICOS Fc	hICOS Fc	N/A
KM111	ICOS KO	mICOS Fc+hICOS Fc	mICOS MEF+hICOS MEF	mICOS Fc+hICOS Fc	mICOS MEF+hICOS MEF	mICOS Fc+hICOS Fc
KM111	ICOS KO	hICOS Fc	hICOS MEF	hICOS Fc	hICOS MEF	hICOS Fc
KM111	ICOS KO	mICOS Fc	mICOS MEF	mICOS Fc	mICOS MEF	mICOS Fc
KM111	HK および HL	hICOS Fc	hICOS MEF	hICOS Fc	hICOS MEF	hICOS Fc
KM135	ICOS KO	mICOS Fc 1 プライムおよび 6 ブースト (RIMMS)				
KM135	ICOS KO	hICOS Fc 1 プライムおよび 6 ブースト (RIMMS)				

表 E 3. K y m o u s e (商標) 株の免疫付与レジメン

表のキー：

m I C O S F c = ヒト F c を有するマウス I C O S タンパク質

h I C O S F c = ヒト F c を有するヒト I C O S タンパク質

m I C O S M E F = M E F 細胞上に発現されたマウス I C O S

h I C O S M E F = M E F 細胞上に発現されたヒト I C O S

m I C O S F c + h I C O S F c = 同時に投与された、ヒト F c を有するマウス I C O S タンパク質 + ヒト F c を有するヒト I C O S タンパク質

m I C O S M E F + h I C O S M E F = 同時に投与された、M E F 細胞上に発現されたマウス I C O S + M E F 細胞上に発現されたヒト I C O S

I C O S K O = I C O S ノックアウト H K K y m o u s e

H K および H L = 野生型 K y m o u s e H K および H L 遺伝子型

【0397】

R I M M S は、修正された皮下免疫付与手順(複数の部位での急速免疫付与) ; K i l p a t r i c k e t a l . [4 1] の後に修正)である。免疫付与レジメン K M 1 0 3 及び K M 1 1 1 は、腹腔内(i . p .)投与によるプライム・レスト・ブーストであった。全ての免疫付与について S i g m a A d j u v a n t S y s t e m を使用し、安静間隔は通常、2 ~ 3 週間であった。アジュバントの不在下で、最終ブーストを静脈内に投与した。

【0398】

フローサイトメトリーによって特異的抗体の存在について連続血液試料又は末端血液試料からの血清を分析し、力価のデータを使用して(可能な場合)、B 細胞分取に使用するマウスを選択した。

【0399】

実施例 4 : I C O S K O 及び野生型マウス間の血清力価の比較

フローサイトメトリーを使用して、免疫付与した I C O S K O 及び免疫付与した野生型 K y m o u s e の血清力価を判定した。I C O S K O マウスでは、ヒト I C O S 抗原

での免疫付与は、CHO細胞上に発現されたヒト及びマウスICOSの両方へのIg結合に対する血清免疫グロブリン応答を誘導した(図1a)。逆に、野生型Kymouse(マウスICOSを発現する)では、同じヒトICOS抗原での免疫付与は、ヒトICOSに対する同じ血清の結合と比較して、マウスICOSに対する結合の著しい低減を示した血清を産生した(図1b)。

【0400】

方法

FACS緩衝液(PBS + 1% w/v BSA + 0.1% w/v アジ化ナトリウム)中に懸濁させた、ヒトICOS若しくはマウスICOSを発現するCHO-S細胞(実施例2を参照されたい)又はトランスフェクトされていないCHO-S細胞(野生型(WT)と称される)を、ウェル当たり 10^5 細胞の密度で96ウェル、V字底プレート(Greiner)に分配した。FACS緩衝液中で試料を希釈して、マウス血清の滴定を調製した。次いで、この滴定の50 µL/ウェルを、細胞プレートに添加した。免疫付与に起因する活性レベルの変化を判定するために、免疫付与前の各動物からの血清をFACS緩衝液中で1/100に希釈し、50 µL/ウェルを細胞に添加した。細胞を4℃で1時間インキュベートした。細胞を150 µLのPBSで2回洗浄し、各洗浄ステップ後に遠心分離させて上清を吸引した($300 \times g$ で3分間遠心分離させた)。抗体結合を検出するために、APCヤギ抗マウスIgG(Jackson ImmunoResearch)を、FACS緩衝液中で1/500に希釈し、50 µLを細胞に添加した。場合によっては、AF647ヤギ抗マウスIgG(Jackson ImmunoResearch)を使用した。細胞を4℃の暗所で1時間インキュベートし、次いで、上記のように150 µLのPBSで2回洗浄した。細胞を固定するために、100 µLの2% v/v パラホルムアルデヒドを添加し、細胞を4℃で30分間インキュベートした。次いで、細胞を $300 \times g$ での遠心分離によってペレット化し、プレートを50 µLのFACS緩衝液中に再懸濁させた。BD FACS Array 器具を使用したフローサイトメトリーによって蛍光シグナル強度(幾何平均)を測定した。

【0401】

実施例5：FACSによる抗原特異的B細胞の分取

WO2015/040401の実施例1に記載されるものと実質的に同様の技術を使用して、抗ICOS抗体を発現するB細胞を免疫付与したマウスから回収した。簡潔には、免疫付与レジームから単離した脾臓細胞及び/又はリンパ節細胞を、目的の細胞(CD19)の選択のためのマーカーを含有する抗体カクテルで染色し、一方で不要な細胞を最終選別集団から排除した(IgM、IgD、7AAD)。CD19⁺ B細胞を蛍光タグ付きヒトICOS ECD-Fc二量体及び蛍光タグ付きマウスICOS ECD-Fcでさらに標識して、抗ICOS抗体を産生するB細胞を検出した。ヒト及びマウスICOSの蛍光標識には、それぞれAlexaFluor647及びAlexaFluor488を用いた(実施例6を参照されたい)。ヒトICOS、又はヒト及びマウスICOSの両方に結合する細胞を選択した。これらの細胞をFACSによって融解緩衝液内に単一細胞分取した。RT-PCR、及びさらに2ラウンドのPCRを使用してV領域配列を回収し、次いで、マウスIgG1定常領域に架橋し、HEK293細胞において発現させた。ICOS結合及び機能的抗体の存在について、HEK293細胞からの上清をスクリーニングした。この方法を、本明細書において以降、BCTと呼ぶ。

【0402】

実施例6：BCTからの抗体のスクリーニング

組換えヒト及びマウスICOS-Fcへの結合についてのBCT上清のHTRFスクリーニング

分泌抗体の、組換えタンパク質として発現されたヒトICOS Fc及びマウスICOS Fcに結合する能力について、実施例5でBCT発現から回収した上清をスクリーニングした。FluoProbes(登録商標)647H(Innova Biosciences)で標識したICOS(本明細書において、それぞれFluoProbes(登録商標)647Hで標識したヒトICOS及びICOSについて647 hICOS又は647 mICO

Sと呼ばれる)を使用して、HTRF(登録商標)(均一時間分解蛍光、Cisbio)アッセイフォーマットによって組換えヒト及びマウスICOSに対する分泌抗体の結合を同定した。5 μ LのBC T上清を白色の384ウェルの低容量非結合表面ポリスチレンプレート(Greiner)に移した。HTRFアッセイ緩衝液中で希釈した5 μ Lの20 nM 647 hICOS又は647 mICOSを全てのウェルに添加した。ヒトICOS結合アッセイについて、参照抗体をBC T培地(Gibco # A14351-01)中で120 nMまで希釈し、5 μ Lをプレートに添加した。ヒトICOS結合アッセイの陰性対照のウェルについては、BC T培地中で120 nMまで希釈した5 μ LのマウスIgG1(Sigma M9269、場合によってはCM7と呼ばれる)。マウスICOS結合アッセイの場合には、参照抗体をBC T培地(Gibco # A14351-01)中で120 nMまで希釈し、5 μ Lをプレートに添加した。ラットIgG2bアイソタイプ対照(R&D systems)を、BC T培地(Gibco # A14351-01)中で120 nMまで希釈した陰性対照ウェル(R&D Systems)に添加し、5 μ Lをプレートに添加した。HTRFアッセイ緩衝液中で1/2000に希釈したユーロピウムクリプテート(Cisbio)で直接標識した10 μ Lのヤギ抗マウスIgG(Southern Biotech)の添加によってヒトICOSに対する分泌抗体の結合を検出した。マウスICOS結合アッセイの場合には、5 μ Lのマウス抗ラットIgG2B-UBLB(Southern Biotech)を陽性及び陰性対照ウェルに添加し、5 μ LのHTRFアッセイ緩衝液をプレートの全ての他のプレートに添加した。次いで、HTRFアッセイ緩衝液中で1/1000に希釈したユーロピウムクリプテート(Cisbio)で直接標識した5 μ Lのヤギ抗マウスIgG(Southern Biotech)を添加して、結合を検出した。EnVisionプレートリーダー(Perkin Elmer)を使用して620 nm及び665 nmの発光波長、100フラッシュで時間分解蛍光を読み取る前に、プレートを暗所で2時間インキュベートさせた。

【0403】

各試料について、それぞれ方程式2及び方程式1に従って665/620比及び効果パーセントを計算することによってデータを分析した。

【0404】

KM103及びKM11-B1について、ヒト及びマウスICOSへの結合に対する5パーセント以上の効果に基づいて一次ヒットを選択した。KM135について、ヒト及びマウスICOSへの結合に対する10パーセント以上の効果に基づいて一次ヒットを選択した。KM111-B2について、ヒトICOSへの結合に対する4パーセント以上の効果及びマウスICOSへの結合に対する3パーセント以上の効果に基づいて一次ヒットを選択した。

【数1】

10

20

30

40

50

方程式 1：一次スクリーン E n v i s i o n 細胞結合および H T R F からの効果パーセンテージの計算

ウェル比の値（方程式 3）または 6 6 5 / 6 2 0 n m 比（方程式 2 を参照されたい）（H T R F）を使用

$$\text{効果パーセント} = \frac{(\text{試料ウェル} - \text{非特異的結合}) \times 100}{(\text{全結合} - \text{非特異的結合})}$$

非特異的結合 = アイソタイプ対照マウス I g G 1 を含有するウェルからの値

全結合 = 参照抗体を含有するウェルからの値

方程式 2：6 6 5 / 6 2 0 比の計算

$$6 6 5 / 6 2 0 \text{ 比} = (\text{試料 } 6 6 5 / 6 2 0 \text{ n m 値}) \times 10,000$$

方程式 3：6 4 7 / F I T C 比の計算

最初に m A b チャンネル（6 4 7）を F I T C（細胞染色）チャンネルで割ることによって細胞数に対してデータを正規化して、「ウェル比の値」を得た。

$$\text{ウェル比の値} = \frac{6 4 7 \text{ チャンネル}}{F I T C \text{ チャンネル}}$$

【 0 4 0 5 】

細胞発現ヒト及びマウス I C O S への結合についての B C T 上清のスクリーニング

分泌抗体の、C H O - S 細胞の表面上に発現されたヒト又はマウス I C O S に結合する能力について、実施例 5 の B C T から回収した上清をスクリーニングした。C H O - S ヒト及びマウス I C O S 結合を判定するために、10%の F B S (G i b c o) を補充した F 1 2 培地 (G i b c o) 中で、組織培養処理した、黒壁の透明底 3 8 4 ウェルプレート (P e r k i n E l m e r) に 4×10^4 / ウェルで細胞をプレーティングし、一晚培養した。培養培地を 3 8 4 ウェルアッセイプレートから除去した。2 μ g / m L で B C T 培地中の少なくとも 5 0 μ L の B C T 上清若しくは 5 0 μ L の参照抗体、又は B C T 培地中に希釈したアイソタイプ I g G 1 対照抗体 (場合によっては C m 7 と呼ばれ、S i g m a M 9 2 6 9、2 μ g / m L の最終濃度) を各ウェルに添加した。プレートを 4 で 1 時間インキュベートした。上清を吸引し、二次抗体緩衝液 (1 \times P B S + 1 % B S A + 0 . 1 % アジ化ナトリウム) 中で 5 0 0 分の 1 に希釈した、鮮やかな緑色に DNA 染色 (L i f e T e c h n o l o g i e s) された 5 μ g / m l の 5 0 μ L のヤギ抗マウス 6 4 7 (J a c k s o n i m m u n o r e s e a r c h) を添加して、抗体結合を検出し、細胞を可視化した。プレートを 4 で 1 時間インキュベートした。上清を吸引し、2 5 μ L の 4 % v / v パラホルムアルデヒドを添加し、プレートを室温で 1 5 分間インキュベートした。プレートを 1 0 0 μ L の P B S で 2 回洗浄し、次いで、洗浄緩衝液を完全に除去した。F I T C (励起 4 9 4 n m、発光 5 2 0 n m) 及び a l e x a f l u o r 6 4 7 (励起 6 5 0 n m、発光 6 6 8 n m) を測定する E n v i s i o n プレートリーダー (P e r k i n E l m e r) を使用して蛍光強度を測定した。方程式 3 に記載されるようにアッセイシグナルを判定し、方程式 1 に記載されるように効果パーセントを判定した。2 μ g / m L の最終アッセイ濃度で参照抗体を使用して全結合を定義した。2 μ g / m L の最終アッセイ濃度でマウス I g G 1 アイソタイプ対照 (S i g m a) を使用して非特異的結合を定義した。ヒット選択のための基準は、アッセイシグナル及び効果パーセントに基づいた。

【 0 4 0 6 】

K M 1 0 3、K M 1 1 1 - B 1、及び K M 1 3 5 について、10 パーセント以上の効果に基づいて一次ヒットを選択した。K M 1 1 1 - B 2 について、4 パーセント以上の効果に基づいて一次ヒットを選択した。

一次スクリーニング結果の要約

【表 2】

実験 I D	スクリーニングされた上清	選択された一次ヒット
KM103	1232	40
KM111-B1	1056	198
KM111-B2	1056	136
KM135	704	31

表 E 6. 免疫付与からスクリーニングされた B C T 上清の数、ならびにヒトおよびマウス I C O S への結合の一時スクリーニング選択基準を満たす上清の数の要約

10

【0407】

細胞発現ヒト及びマウス I C O S への結合についての F A C S スクリーニング

ヒト又はマウス I C O S を発現する C H O - S 細胞に結合する能力について、実施例 5 からの B C T 上清及び H E K 2 9 3 発現抗体を試験した。

【0408】

ヒト又はマウス I C O S を発現する C H O - S 細胞(実施例 2 を参照された)を F A C S 緩衝液(P B S 1 % B S A 0 . 1 % アジ化ナトリウム)中で希釈し、ウェル当たり 1×10^5 細胞の密度で 96 ウェルの V 字底プレート(G r e i n e r)に分配した。細胞を $150 \mu\text{L}$ の P B S で洗浄し、 $300 g$ で 3 分間遠心分離した。上清スクリーニングのために、上清を吸引し、 $150 \mu\text{L}$ の P B S を添加した。この洗浄ステップを繰り返した。B C T 培地中で $5 \mu\text{g}/\text{mL}$ まで希釈した、 $30 \mu\text{L}$ の B C T 未希釈上清、又は $50 \mu\text{L}$ の参照抗体若しくは対照抗体を、洗浄した細胞に添加した。細胞を 4 で 60 分間インキュベートした。 $150 \mu\text{L}$ の F A C S 緩衝液を添加し、細胞を上記のように洗浄した。抗体結合を検出するために、F A C S 緩衝液中で $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ に希釈した $50 \mu\text{L}$ のヤギ抗マウス A P C (J a c k s o n I m m u n o R e s e a r c h) を細胞に添加した。細胞を 4 で 60 分間インキュベートした。細胞を $150 \mu\text{L}$ の F A C S 緩衝液で 2 回洗浄し、各洗浄ステップ後に $300 \times g$ で 3 分間遠心分離させて上清を吸引した。 $25 \mu\text{L}$ の 4 % パラホルムアルデヒドの添加によって細胞を室温で 20 分間固定した。細胞を上記のように 1 回洗浄し、分析のために F A C S 緩衝液中で再懸濁させた。B D F A C S A r r a y 器具を使用したフローサイトメトリーによって A P C シグナル強度(幾何平均)を測定した。さらなる計算を伴わずに幾何平均値としてデータをプロットした。

20

30

【0409】

一次スクリーニングと比較して、このさらなるスクリーニングでにおいて、よりストリンジェントな種交差反応性基準を満たすものとして、抗体の小さいサブセットを選択下。簡潔には：

【0410】

K M 1 0 3 から、h I C O S、m I C O S、及び W T C H O 細胞に対するハイブリッド対照結合の平均幾何平均をとり、 > 4 倍を上回るマウス及びヒトバインダーを同定することによって、4 つの抗体を選択した。これらの 4 つの抗体を、S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 2 - B、S T I M 0 0 7、及び S T I M 0 0 9 と称した。

40

【0411】

K M 1 1 1 - B 1 から、h I C O S、m I C O S、及び W T C H O 細胞に対する陰性対照(アルメニアンハムスター：クローン H T K 8 8 8)結合の幾何平均の平均をとり、 > 10 倍を上回るマウス及びヒトバインダーを同定することによって、4 つの抗体を選択した。

【0412】

K M 1 1 1 - B 2 から、h I C O S、m I C O S、及び W T C H O 細胞に対する陰性

50

対照(アルメニアンハムスター：クローンHTK 888)結合の幾何平均の平均をとり、> 4倍を上回るマウス及びヒトバインダーを同定することによって、4つの抗体を選択した。これらの4つの抗体には、STIM003、STIM004、及びSTIM005が含まれていた。

【0413】

KM135からは、交差反応性抗体は同定されなかった。FACS二次スクリーニング方法の技術的失敗に起因して、SPR及びHTRFを使用したスクリーニングも実施したが、所望の交差反応性レベルを満たす抗体は見出されなかった。

【0414】

結論として、実施例に記載される様々な複数の免疫付与レジメンから、ヒトICOS及びマウスICOSへの結合について4000を超えるBCT上清(ICOS KOマウスのみから)をスクリーニングし、STIM001、STIM002-B、STIM003、STIM004、STIM005、STIM007、及びSTIM009を含む候補の小パネルが、さらなる開発のための最も有望な特徴を有するものとして同定された。これらは、より詳細な特性評価のために進められた。

【0415】

これとは別に、種交差反応性基準を満たさなかった2つの抗体STIM006及びSTIM008も、ヒトICOSに結合するそれらの能力に基づいてさらなる特性評価のために選択した。

【0416】

実施例7：表面プラズモン共鳴(SPR)による親和性判定

ProteOn XPR36(BioRad)を使用したSPRによって、ICOSリードのFab親和性を生成した。一級アミン結合によって抗ヒトIgG捕捉表面をGLCバイオセンサチップ上に作製し、3つの抗ヒトIgG抗体(Jackson Labs 109-005-008、109-006-008、及び309-006-008)を固定化した。ヒトFcタグ付きヒトICOS(hICOS)及びマウスICOS(mICOS)を抗ヒトIgG表面上に個々に捕捉し、精製されたFabを分析物として5000nM、1000nM、200nM、40nM、及び8nMで使用した(1000nM、200nM、40nM、8nM、及び2nMで使用したSTIM003を除いて)。緩衝液注入(すなわち、0nM)を使用して結合センサグラムを二重参照し、ProteOn XPR36分析ソフトウェアに固有の1:1モデルにデータを適合させた。25 で、HBS-EPを泳動用緩衝液として使用してアッセイを行った。

10

20

30

40

50

【表 3】

試料 Ab	リガンド	k_a	k_d	K_D (nM)
STIM006	hICOS	6.67E+05	9.20E-03	13.8
STIM003	hICOS	6.56E+05	8.62E-04	1.3
STIM001	hICOS	2.54E+04	1.12E-03	44.0
STIM002	hICOS	3.20E+04	3.43E-02	1070.0
STIM006	mICOS	1.57E+03	5.00E-04	318.0
STIM003	mICOS	1.29E+06	5.03E-04	0.4
STIM001	mICOS	5.66E+04	2.30E-02	407.0
STIM002	mICOS	弱い	弱い	弱い

表 E 7 - 1. SPRによって測定された、選択された抗体の親和性および動態データ。

【 0 4 1 7 】

さらに、異なる pH 値での抗体：抗原結合親和性の比較を実施した。前と同様に、一級アミン結合によって GLC バイオセンサチップ上に固定化された 3 つの抗体カクテルを使用して、ヒト Fc 領域に融合した ICOS の細胞外ドメインとして提示された二量体ヒト ICOS タンパク質を抗ヒト Fc 捕捉表面上に捕捉した。ProteOn XPR36 Array システム (BioRad) で、組換え発現された抗 ICOS Fab の SPR 分析を実施した。Fab 断片を分析物として使用して、結合センサグラムを生成し、これを緩衝液注入 (すなわち、0 nM) と二重参照した。後続のの参照センサグラムを ProteOn 分析ソフトウェアに固有の 1 : 1 モデルに適合させた。表 E 7 - 2 は、抗体の親和性及び動態データを示し、これらは全て、pH 7.4 / 7.6 の又は pH 5.5 の HBS - EP のいずれかを使用して、指定されない限り 37 °C で実施した。データを 1 : 1 モデルに適合させた。STIM002 のデータは、pH 7.4 及び 5.5 の両方で適合が乏しく、したがって、この抗体の親和性は、表に示されるよりも低い可能性があることに留意されたい。

【表 4】

抗体(Fab)	pH	ka	kd	KD (nM)	
STIM001	7.4	5.08E+04	3.23E-03	63.5	
	5.5	4.90E+04	3.58E-03	73.1	
	7.6	8.29E+04	3.54E-03	42.6	
	5.5	6.77E+04	5.41E-03	80.3	
	7.6(25°C)	2.54E+04	1.12E-03	44	
STIM002	7.4	3.72E+04	8.31E-03	223	10
	5.5	8.79E+04	3.67E-03	4.17	
STIM002-B	7.4	8.28E+04	3.46E-03	41.8	
	5.5	8.64E+04	2.30E-03	26.6	
STIM003	7.4	1.49E+06	2.54E-03	1.71	
	5.5	1.55E+06	1.58E-03	1.02	
	7.6	1.87E+06	3.70E-03	1.98	
	5.5	1.71E+06	1.94E-03	1.15	
	7.6(25°C)	6.65E+06	0.862E-03	1.31	20

表E 7－2. 指定される場合を除いて37°Cでの、組換えヒトICOSに対するSTIM001、STIM002、STIM002-B、およびSTIM003 Fabの相対親和性。

【0418】

異なるpH値での親和性データの比較は、抗体が、生理学的pH範囲にわたってそれらの標的への結合を保持することを示した。腫瘍微小環境は、血液と比較して相対的に酸性であり得、したがって、低pHでの親和性の維持は、腫瘍内T-reg枯渇を改善するためのインビボでの潜在的な利点である。

30

【0419】

実施例8：HTRFによってアッセイされたICOS受容体へのICOSリガンド結合の中和

均一性時間分解蛍光法(HTRF)を使用して、ICOSに対するICOSリガンド(B7-H2)結合を中和するそれらの能力について、選択されたICOS抗体をさらに評価した。mAbのヒトIgG1及びヒトIgG4・PE(ヌル-エフェクター)アイソタイプを、ヒトICOSに対するヒトB7-H2結合の中和のためのHTRFアッセイ、及びマウスICOSに対するマウスB7-H2結合の中和のためのHTRFアッセイにおいて評価した。

【0420】

40

抗ICOS抗体C398.4A(いずれの場合もハムスターIgG)を比較のために含めた。

【0421】

ヒト及び/又はマウスICOS受容体-リガンド結合に対して高い中和効力を有する多くの抗体が見出され、結果は、これらの抗体のうちのいくつかが、良好な交差反応性を示したことを示した。抗体アイソタイプは有意な効果を有さず、IgG1及びIgG4・PEアッセイ間の結果の差は実験誤差内であった。

【0422】

IgG1

ヒトIgG1アッセイでは、抗体C398.4Aは、ヒトICOSリガンドの中和につ

50

いて、 1.2 ± 0.30 nMのIC50を生成し、マウスICOSリガンドの中和について、 0.14 ± 0.01 nMのIC50を生成した。

【0423】

IgG1 mAb STIM001、STIM002、STIM003、及びSTIM005は、ヒトICOSリガンド中和システムを使用するC398.4Aと同様のIC50を生成し、交差反応性でもあり、マウスICOS受容体に対するマウスICOSリガンドの結合を中和させた。

【0424】

2つのさらなる交差反応性mAb STIM002-B及びSTIM004は、より弱いヒト及びマウスICOSリガンド中和を示した。

【0425】

STIM006、STIM007、STIM008、及びSTIM009は、ヒトICOSリガンドの中和を示したが、マウスICOSリガンド中和システムでは有意な交差反応性を示さなかった。これらの抗体については、マウスB7-H2リガンドの中和IC50値を計算することができなかった。

【表5】

	平均IC50 (nM)	SD (nM) (n=4)
STIM001	2.2	1.3
STIM002	1.9	0.8
STIM002-B	3.6	3.5
STIM003	1.3	0.5
STIM004	233	123
STIM005	2.5	0.8
STIM006	2.2	1.5
STIM007	1.1	0.5
STIM008	1.6	1.4
STIM009	30.5	53
C398.4A	1.2	0.3

表E8-1. ヒトB7-H2に対するヒトICOS受容体結合の中和のヒトIgG1アイソタイプのIC50値図2も参照されたい。

【表6】

	平均IC50 (nM)	SD (nM) (n=3)
STIM001	6.5	2.5
STIM002	6.9	2.1
STIM002-B	30	11.4
STIM003	0.1	0
STIM004	22.1	15.4
STIM005	0.3	0.2
C398.4A	0.1	0

表E8-2. マウスB7-H2に対するマウスICOS受容体結合の中和のヒトIgG1アイソタイプのIC50値図3も参照されたい。

【 0 4 2 6 】

I g G 4 . P E

予想通り、I g G 4 . P E m A b は、I g G 1 アイソタイプと同様の結果を生成した。

【 0 4 2 7 】

S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 3、及びS T I M 0 0 5は、ヒトI C O S リガンド中和システムを使用するC 3 9 8 . 4 Aと同様のI C 5 0 値を示した。これらのm A b はまた、マウスI C O S リガンドの中和において交差反応性であった。S T I M 0 0 2 - B 及びS T I M 0 0 4 は、ヒトI C O S B 7 - H 2 中和及びマウスB 7 - H 2 リガンドについてより弱いI C 5 0 を生成した。S T I M 0 0 7、S T I M 0 0 8、及びS T I M 0 0 9 は、ヒトI C O S 受容体に対するヒトI C O S リガンド結合の中和を示したが、マウスB 7 - H 2 リガンドについての中和I C 5 0 値はこれらのアッセイでは計算することができなかった。

【 0 4 2 8 】

S T I M 0 0 6 及びS T I M 0 0 2 のI g G 4 . P E アイソタイプはアッセイしなかった。

【表 7】

	平均 I C 5 0 (nM)	S D (nM) (別途指定されない限り、n = 4)
S T I M 0 0 1	1 . 3	0 . 2
S T I M 0 0 2 - B	3 . 4	1 . 8
S T I M 0 0 3	1 . 2	0 . 3
S T I M 0 0 4	1 6 1	1 5 2 (n = 3)
S T I M 0 0 5	1 . 6	0 . 2
S T I M 0 0 6	0 . 8	(n = 1)
S T I M 0 0 7	0 . 8	0 . 1
S T I M 0 0 8	0 . 8	0 . 1
S T I M 0 0 9	4 . 6	2 . 2
C 3 9 8 . 4 A	2 . 8	3 . 8

表E 8 - 3. ヒトB 7 - H 2 に対するヒトI C O S 受容体結合の中和のヒトI g G 4 . P E アイソタイプのI C 5 0 値図 4 も参照されたい。

【表 8】

	平均 I C 5 0 (nM)	S D (nM) (n = 3)
S T I M 0 0 1	4 . 7	2 . 1
S T I M 0 0 2 - B	4 3 . 9	2 5 . 7
S T I M 0 0 3	0 . 2	0 . 1
S T I M 0 0 4	3 0	1 4
S T I M 0 0 5	0 . 3	0 . 1
C 3 9 8 . 4 A	0 . 2	0 . 1

表E 8 - 4. マウスB 7 - H 2 に対するマウスI C O S 受容体結合の中和のヒトI g G 4 . P E アイソタイプのI C 5 0 値図 5 も参照されたい。

10

20

30

40

50

【0429】

材料及び方法

試験抗体及びアイソタイプ対照を、最大で4 μM、1 μM最終の開始使用濃度から、0.002 nM、5.64 e-4 nM最終まで、11点滴定、3分の1希釈で、アッセイ緩衝液(0.53 Mフッ化カリウム(KF)、1×PBS中0.1%ウシ血清アルブミン(BSA))中で希釈した。5 μlの抗体の滴定を384wの白壁アッセイプレート(Greiner Bio-One)に添加した。陽性対照ウェルには、5 μlのアッセイ緩衝液のみを与えた。

【0430】

5 μlのICOS受容体(ヒトICOS-mFc、20 nM、5 nM最終、又はマウスICOS-mFc 4 nM、1 nM最終(Chimerigen))を必要なウェルに添加した。プレートを室温(RT)で1時間インキュベートした。インキュベーション後、Alexa 647(Innova Bioscience)と接合したマウス又はヒトICOSリガンド(B7-H2、R&D Systems)のいずれか5 μlを、ヒトB7-H2については32 nM(8 nM最終)、又はマウスB7-H2については30 nM、7.5 nM最終のいずれかまで希釈し、5 μlのアッセイ緩衝液を代わりに与えた陰性対照ウェルを除く、アッセイプレートの全てのウェルに添加した。

【0431】

最後に、ユーロピウムクリプテート(Cis Bio)で標識された5 μlの抗マウスIgGドナーmAb(Southern Biotech)(40 nM、10 nM最終の)を各ウェルに添加し、アッセイをRTで暗所に置いて、さらに2時間インキュベートさせた。インキュベーション後、標準HTRFプロトコルを使用してアッセイをEnvisionプレートリーダー(Perkin Elmer)上で読み取った。620 nm及び665 nmチャネル値をMicrosoft Excel(Microsoft)にエクスポートし、Delta-F%及び中和%の計算を実施した。Graphpad(Prism)を使用して、滴定曲線及びIC50値[M]をプロットした。方程式 $X = \text{Log}(X)$ を使用してデータを最初に変換することによって、IC50値を計算した。次いで、適合アルゴリズムlog(阻害剤)対応答-可変スロープ(4パラメータ)を使用する非線形回帰を使用して、変換したデータを適合させた。

【数2】

Delta-F%の計算：

比率計量データ低減のための665/620比。

$$\text{Delta-F\%} = \frac{(665/620 \text{ nm ウェルシグナル比} - \text{シグナル陰性対照})}{(\text{シグナル陰性対照})} * 100$$

シグナル陰性対照＝最小シグナル比の平均。

中和%：

$$\text{最大\% (中和)} = \frac{(\text{試料ウェルのDelta-F\%} - \text{陰性対照})}{(\text{陽性対照} - \text{陰性対照})} * 100$$

【0432】

実施例9a：T細胞活性化

ヒト初代T細胞活性化アッセイにおいて、プレート結合及び可溶性形態でサイトカイン産生へのSTIM001及びSTIM003アゴニスト潜在性を試験し、抗CD3及び抗CD28 Abを抗ICOS Abと同時に添加して、エフェクターT細胞上のICOS発現を誘導した。これらの活性化T細胞によって産生されたIFNのレベルに対するICOS同時刺激の効果を、活性化の72時間後にELISAを使用して評価した。

【0433】

10

20

30

40

50

材料及び方法

T細胞活性化アッセイ1:

ヒト末梢血(PBMC)からの単核細胞の単離:

健康なドナーから白血球コーンを回収し、それらの内容物を、リン酸緩衝生理食塩水(PBS、Gibco)で最大で50ml希釈し、2つの遠心管内で、15mLのFicoll-Paque(GE Healthcare)の上に重ねた。密度勾配遠心分離(ブレーキなしで40分間、400g)によってPBMCを分離し、清潔な遠心管に移し、その後、300gで5分間、2回遠心分離させ、200gで5分間、2回遠心分離させることにより50mLのPBSで洗浄した。次いで、PBMCをR10培地(RPMI + 10%の熱失活したウシ胎仔血清、いずれもGibco)中で再懸濁させ、それらの細胞数及び生存能力をEVE(商標)Automated Cell Counter(NanoEntek)で評価した。

10

【0434】

ICOS抗体(Ab)の調製及び希釈:

STIM001及びSTIM003を3つのフォーマットで試験した: プレート結合、可溶性、又は抗ICOS Absと架橋する可溶性プラスF(ab')₂断片(Jackson Immuno Researchの109-006-170)。

【0435】

プレート結合フォーマットの場合: 抗ICOS Ab及びそれらのアイソタイプ対照をPBS中で1:3に連続希釈して、45~0.19µg/mLの範囲の最終抗体濃度を得た。100µLの希釈した抗体を、96ウェルの高結合平底プレート(Corning EIA/RIAプレート)内に4で一晩、二連でコーティングした。次いで、プレートをPBSで洗浄し、125µLのR10を各ウェルに添加した。

20

【0436】

可溶性フォーマットの場合: 抗ICOS Ab及びそれらのアイソタイプ対照をR10培地中で1:3に連続希釈して、90~0.38µg/mLの範囲の2X Abストック濃度を得た。125µLの希釈したAbを、96ウェルの平底プレート内に二連でピペティングした。

【0437】

架橋した可溶性フォーマットの場合: 抗ICOS抗体及びそれらのアイソタイプ対照を、1M対1Mの比でF(ab')₂断片と混合した。次いで、Ab/F(ab')₂断片をR10培地中で1:3に連続希釈して、90~0.38µg/mL、及びF(ab')₂断片について60~0.24µg/mLの範囲の2X Ab濃度を得た。125µLの希釈したAbを、96ウェルの平底プレート内に二連でピペティングした。

30

【0438】

T細胞単離、培養、及びIFN-γ 定量化:

EasySep Human T Cell Isolation Kit(Stemcell Technologies)を使用してT細胞をPBMCから陰性単離し、40µL/mLのDynabeads Human T-Activator CD3/CD28(Life Technologies)を補充したR10培地中で 2×10^6 /mLで再懸濁させた。

40

【0439】

125µLのT細胞懸濁液をAb含有プレートに添加して、 1×10^6 細胞/mLの最終細胞濃度を得、37及び5% CO₂で72時間培養した。次いで、細胞不含上清を回収し、ELISA(R&Dからのデュオセットキット)による分泌IFN-γの分析まで-20で保管した。

【0440】

この実験を、6人の独立ドナーから単離したT細胞上で繰り返し、各アッセイ条件について2つの技術的複製が含まれた。

【0441】

50

T細胞活性化アッセイ2 (STIM001 - REST - STIMアッセイ) :

サイトカイン放出へのSTIM001及びSTIM003アゴニスト潜在性も、ヒトT細胞アッセイにおいてプレート結合で試験し、T細胞を、抗CD3及び抗CD28 Abで3日間、事前刺激して、ICOS発現を誘導した後に、それらの活性化レベルを低減させるために3日間休止させた。刺激後(3日目)及び休止後(6日目)にFACS染色によってICOS発現を確認した。次いで、これらの刺激され、休止したT細胞を、CD3 Abの存在又は不在下で、STIM001又はSTIM003と共に培養して、TCR関与の必要条件を評価した。培養中に存在するIFN γ 、TNF α 、及びIL-2のレベルに対するICOS同時刺激の効果を評価した。

【0442】

10

ICOS Abの希釈及びコーティング :

抗ヒトCD3(eBioscienceからのクローンUCHT1)を、10 μ g/mLの2X Ab濃度までPBS中で希釈した。50 μ lのPBS又は50 μ lの希釈したCD3 Abを、96ウェルの高結合平底プレート内にピペティングした。STIM001、STIM003、及びそれらのアイソタイプ対照をPBS中で1:2に連続希釈して、20~0.62 μ g/mLの範囲の最終2X抗体濃度を得た。PBS(TCR関与なし)又は希釈したCD3 Ab(TCR関与)のいずれかを含有するウェルに50 μ Lの希釈した抗ICOS Abを添加した。プレートを4 $^{\circ}$ Cで一晩コーティングした。

【0443】

T細胞単離、培養、及びIFN γ 定量化 :

20

T細胞活性化アッセイ1に記載されるように、白血球コーン由来のPBMCを得た。EasySep Human T Cell Isolation Kit(Stemcell Technologies)を使用してT細胞をこのPBMCから陰性単離した。20 μ l/mLのDynabeads Human T-Activator CD3/CD28(Life Technologies)を補充したR10培地中で、T細胞を1 \times 10⁶/mLで再懸濁させ、37 $^{\circ}$ C及び5% CO₂(刺激)で3日間培養した。3日目に、ダイナビーズを培養から除去した。次いで、T細胞を洗浄し(300gで5分間)、計数し、R10培地中で1.5 \times 10⁶/mLで再懸濁させ、37 $^{\circ}$ C及び5% CO₂でさらに3日間培養した(休止期間)。

【0444】

30

6日目に、刺激された休止T細胞を洗浄し(300gで5分間)、計数し、R10培地中で1 \times 10⁶/mLで再懸濁させ、250 μ lのT細胞懸濁液をICOS Abでコーティングされたプレートに添加し、37 $^{\circ}$ C及び5% CO₂で72時間培養した。次いで、細胞不含上清を回収し、MSDプラットフォーム上での分泌サイトカインの分析まで-20 $^{\circ}$ Cで保管した。この実験を、5人の独立ドナーから単離したT細胞で繰り返し、各アッセイ条件について3つの技術的複製が含まれた。

【0445】

結果

STIM001及びSTIM003の両方が、IFN γ 発現の誘導について陽性であると試験され、したがって、両方のアッセイにおいてアゴニズムを実証した。

40

【0446】

実施例9b : T細胞活性化アッセイ1 データ

8人の独立ドナーから単離したT細胞を使用して、実施例9aに記載されるようにT細胞活性化アッセイ1を実施し、STIM001及びSTIM003の各々をヒトIgG1フォーマットで試験した。比較のために、ハムスター抗ICOS抗体C398.4A及びハムスター抗体アイソタイプ対照を含めた。各アッセイ条件について2つの技術的複製が含まれた。

【0447】

結果は、図16、図17、及び図18に示される。前述のように、STIM001及びSTIM003の両方が、IFN γ 発現の誘導について陽性であると試験され、したがっ

50

て、ヒト初代T細胞に対するアゴニスト効果を実証した。

【0448】

可溶性抗体又は対象と比較して、Fc結合Fab'断片の存在下でのIFN誘導の強い増強によって示されるように、架橋性抗体は、T細胞活性化のアゴニストとして作用した。T細胞におけるIFN発現は、架橋性STIM001又はSTIM003の濃度の増加と共に増加した(図16、下部パネル)。抗体の濃度の増加に伴うT細胞において認められるIFN発現の増加によって示されるように、プレート結合形態のSTIM001及びSTIM003の両方について、及びより弱く、ハムスター抗体C398.4Aについて、アゴニズムも認められた(図16、上部パネル)。

【0449】

IFN応答の大きさは、異なるドナーから得られたT細胞間で変動したが、STIM001は一貫して、対照抗体(HC IgG1)で認められたIFN発現と比較した、T細胞におけるIFN発現の増加を生成した。8人全てのドナーからのT細胞でのアッセイからのデータを考慮すると、STIM001でのT細胞の治療は、プレート結合形態、可溶性形態、及び架橋性形態において、アイソタイプ対照抗体での治療と比較して、IFN発現を有意に増加させたことが見られる(図17)。したがって、STIM001は、3つ全てのフォーマットにおいてT細胞活性化のアゴニストとして挙動した。

【0450】

同様の効果がSTIM003で認められた(図18)。8人の独立ドナーについて、アッセイにおける所与の用量の抗体で、STIM003 h IgG1によって誘導されたIFNのレベルを、そのアイソタイプ対照(HC IgG1)によって誘導されたIFNのレベルと比較した。ドナー間の変動性にもかかわらず、STIM003によって誘導されたIFNレベルの平均増加は、HC IgG1と比較して有意であった。STIM001、及びここに記載される他のSTIM抗体が、インビボでT細胞活性を同様に促進する潜在性を有することが提案される。前述のように、活性化ICOS発現T細胞のアゴニズムは、T細胞表面上のICOS受容体に結合し、その多量体化を誘導する抗ICOS抗体によって媒介され得る。実施例9c：T細胞活性化アッセイ2データ

【0451】

実施例9aに記載されるようにT細胞活性化アッセイ2を実施した。

【0452】

TCR関与の不在下(抗CD3抗体なし)で、初代T細胞から産生されたサイトカインのレベルは低く、10 µg/mlの最高濃度でさえも、STIM001(h IgG1)、STIM003(h IgG1)、又は抗体C398.4Aによって増加は誘導されなかった。対照的に、抗CD3抗体と組み合わせて抗ICOS抗体がT細胞に添加されると、STIM001(h IgG1)、STIM003(h IgG1)、及びC398.4Aの各々は、IFN、TNFの発現、及びより低い程度でIL-2の発現の増加の用量依存性の傾向を示した。

【0453】

TCR関与の条件下で、抗ICOS抗体で処置された初代T細胞からのデータは、図19に示される。STIM001、STIM003、及びC389.4Aの各々について、それらのそれぞれのアイソタイプ対照と比べてサイトカイン発現の著しい増加が認められたものの、その差は、このアッセイにおいて統計学的に有意な差には達しなかった。より多くのドナーからの応答性初代T細胞を用いたアッセイのさらなる複製は、統計学的に有意な結果を生成すると予想される。

【0454】

実施例10a：ADCCアッセイ

ヒト初代NK細胞をエフェクターとして、及びICOS高MJ細胞株(ATCC、CRL-8294)を標的細胞として使用して、Delfia BATDA細胞傷害性アッセイ(Perkin Elmer)において、STIM001及びSTIM003のADCCを介して殺滅する潜在性を試験した。MJ細胞は、高レベルのICOSタンパク質を発現するヒ

10

20

30

40

50

トCD4 Tリンパ球細胞である。

【0455】

この方法は、細胞膜を急速に貫通する蛍光増強リガンド(BATDA)のアセトキシメチルエステルを標的細胞に装填することに基づく。細胞内で、エステル結合は加水分解されて、親水性リガンド(TDA)を形成し、これはもはや膜を通過しない。細胞溶解後、リガンドは放出され、BATDAと共に高度蛍光で安定なキレート(EuTDA)を形成するユーロピウムの添加によって検出され得る。測定されたシグナルは、溶解した細胞の量と直接相関する。

【0456】

材料及び方法

10

標的細胞標識：

製造業者の指示に従って、MJ細胞を 10^6 /mLでアッセイ培地(RPMI + 10%超低IgG FBS、Gibco)中で再懸濁させ、5 μ L/mLのDelfia BATDA試薬(Perkin Elmer)を37 で30分間装填した。次いで、MJ細胞を50 mLのPBS(300gで5分)で3回洗浄し、2 mMのプロベネシド(Life technologies)で補充したアッセイ培地中で 8×10^5 /mLで再懸濁させて、細胞からのBATDAの自然放出を低減させた。

【0457】

ICOS Ab希釈：

STIM001、STIM003、及びそれらのアイソタイプ対照を、アッセイ培地 + 2 mMプロベネシド中で1 : 4に連続希釈して、最小で80 pg/mLの範囲の最終4 X 抗体濃度を得た。

20

【0458】

NK細胞の単離及び培養：

T細胞活性化アッセイ1に記載されるように、白血球コーン由来のPBMCを得た。EasySep Human T Cell Isolation Kit(Stemcell Technologies)を使用してNK細胞をこのPBMCから陰性単離し、R10培地 + 2 mMプロベネシド中で 4×10^6 /mLで再懸濁させた。CD3 - /CD56 + について、NK細胞の純度が90%を上回ることを染色によって確認した。

【0459】

30

50 μ Lの希釈したAb、50 μ LのBATDA担持MJ細胞、50 μ LのNK細胞、及び50 μ Lのアッセイ培地 + 2 mMプロベネシド(200 μ L/ウェルの最終体積)を各ウェルに添加して、最小で20 pg/mLの範囲の最終Ab濃度及び5 : 1のエフェクター : 標的比を得た。MJ細胞のみ、又はMJ細胞 + delfia溶解緩衝液(Perkin Elmer)を含有するウェルを使用して、自然放出及び100% BATDA放出を判定する。

【0460】

アッセイを37、5% CO₂で2時間実施した後、50 μ Lの細胞不含上清をDELFLIA微量滴定プレート(Perkin Elmer)に移した。200 μ LのDelfiaユーロピウム溶液(Perkin Elmer)を上清に添加し、室温で15分間インキュベートした。次いで、蛍光シグナルをEnVision Multilabel Reader(Perkin Elmer)で定量化した。

40

【0461】

キットの説明書に従い、STIM001及びSTIM003によって誘導された特異的放出を計算した。この実験を、独立ドナーからのNK細胞で繰り返し、各アッセイ条件について3つの技術的複製が含まれた。

【0462】

結果

抗ICOS抗体STIM001(hIgG1)及びSTIM003(hIgG1)は、初代NK依存性ADCCアッセイにおいてICOS陽性ヒトMJ細胞を殺滅する(2時間時点)

50

。図 6 a も参照されたい。試験した両方の分子について、このアッセイにおいてナノモル以下の EC 50 を達成した。

【表 9】

EC 50	ドナー 1	ドナー 2
STIM001	1. 21 e - 10	5. 29 e - 10

表 E 10 - 1 : 2 人のドナーからの NK 初代細胞 ADCC アッセイにおける STIM001 の EC 50 (モル単位) (2 時間時点)

10

【0463】

実施例 10b : MJ 標的細胞による ADCC アッセイ

実施例 10a に記載される材料及び方法に従って実験を実施した。STIM001、STIM003、及びそれらのアイソタイプ対照を、アッセイ培地 + 2 mM プロベネシド中で 1 : 4 に連続希釈して、40 µg/mL ~ 80 pg/mL の範囲の最終 4 X 抗体濃度を得た。50 µl の希釈した Ab、50 µl の BATDA 担持 MJ 細胞、50 µl の NK 細胞、及び 50 µL のアッセイ培地 + 2 mM プロベネシド (200 µl / ウェルの最終体積) を各ウェルに添加して、10 µg/mL ~ 20 pg/mL の範囲の最終 Ab 濃度及び 5 : 1 のエ

20

【0464】

結果は、図 6 (b ~ d) 及び以下の表に示される。STIM001 (hIgG1) 及び STIM003 (hIgG1) は、2 時間時点で測定した初代 NK 依存性 ADCC アッセイにおいて ICOS 陽性ヒト MJ 細胞を殺滅した。

【表 10】

EC 50	ドナー 1	ドナー 2	ドナー 3
STIM001	1. 21 e - 10 (0. 121 nM)	5. 29 e - 10 (0. 529 nM)	2. 92 e - 09 (2. 92 nM)
STIM003	2. 33 e - 12 (2. 33 pM)	3. 58 - e - 11 (35. 8 pM)	1. 01 e - 10 (0. 101 nM)

表 E 10 - 2 : 3 人のドナーからの NK 初代細胞 ADCC アッセイにおける STIM001 および STIM003 の EC 50 (モル単位) (2 時間時点)

30

【0465】

実施例 10c : ICOS トランスフェクト CCRF - CEM 標的細胞による ADCC アッセイ

ヒト初代 NK 細胞をエフェクターとして、及び ICOS トランスフェクト CCRF - CEM 細胞 (ATCC、CRL - 119) を標的細胞として使用して、Delfia BATDA 細胞傷害性アッセイ (Perkin Elmer) において、STIM001 及び STIM003 hIgG1 の ADCC を介して殺滅する潜在性をさらに試験した。CCRF - CEM は、急性リンパ芽球性白血病患者からの末梢血に由来するヒト T リンパ芽球株である。このアッセイにおいて、STIM001 及び STIM003 の両方について、CCRF - CEM 細胞の抗体媒介性殺滅が確認された。

40

【0466】

材料及び方法

材料及び方法は、実施例 10a に記載される通りであったが、MJ 細胞ではなく、AT

50

CC(ATCC CCL-119)から得たCCRF-CEM細胞を標的細胞として使用し、4時間のインキュベーション時間を使用した。

【0467】

CCRF-CEM細胞をICOSでトランスフェクトした。哺乳動物発現についてコドン最適化された全長ヒトICOS(添付の配列表に示されるようにシグナルペプチドを有する)をコードする合成DNA列を、CMVプロモーターの制御下で、3'及び5' piggyBac特異的末端反復配列に隣接した発現ベクターにクローニングし、細胞ゲノム内への安定した組込みを容易にした([40]を参照されたい)。発現ベクターは、安定した細胞株生成を容易にするために、ピューロマイシン選択カセットを含有した。ヒトICOS発現プラスミドを、piggyBacトランスポザラーゼをコードするプラスミドと共に、電気穿孔によってCEM CCRF細胞内に同時トランスフェクトした。トランスフェクションの24時間後に、培地にピューロマイシンを補充し、培地を3~4日ごとに交換しながら少なくとも2週間成長させて、安定した細胞株を選択した。抗ヒトICOS-PEに接合された抗体(eBioscience)を使用してフローサイトメトリーによってヒトICOSの発現を評価した。完全CEM培地は、10%(v/v)FBS及び2mMのGlutamaxを含有するAdvanced RPMI Mediumで構成された。

【0468】

STIM001(hIgG1)、STIM003(hIgG1)、及びそれらのアイソタイプ対照抗体(HC IgG1)を、アッセイ培地中で連続希釈して、20µg/mL~80pg/mLの範囲の最終4X抗体濃度を得た。

【0469】

50µlの希釈したAb、50µlのBATDA担持ICOSTランスフェクトCEM細胞、50µlのNK細胞、及び50µlのアッセイ培地(200µl/ウェルの最終体積)を各ウェルに添加して、5µg/mL~20pg/mLの範囲の最終Ab濃度及び5:1のエフェクター:標的比を得た。

【0470】

結果

STIM001(hIgG1)及びSTIM003(hIgG1)は、4時間時点で測定した初代NK依存性ADCCアッセイにおいてICOSTランスフェクトCCRF-CEM細胞を殺滅した。結果は、図6(e~g)及び以下の表に示される。

【表11】

EC50	ドナー4	ドナー5	ドナー6
STIM001	3.92e-12 (3.92pM)	3.95e-12 (3.95pM)	3.75e-12 (3.75pM)
STIM003	約3pM*	8.95e-13 (0.895pM)	1.03e-12 (1.03pM)

*不完全な曲線から推定された値。

表E10-3: 3人のドナーからのNK初代細胞ADCCアッセイにおけるSTIM001およびSTIM003のEC50(モル単位)(4時間時点)

【0471】

実施例11a: CT26同系モデル

抗ICOS(STIM001 mIgG2a、エフェクター可能化)を抗PDL1(10F9G2)と組み合わせることによって、CT26同系モデルにおいて改善された抗腫瘍インビボ有効性が示された。

【0472】

材料及び方法

皮下CT26結腸癌モデル(ATCC、CRL-2638)を使用して、Balb/cマウスにおいて有効性試験を実施した。このモデルはPD1/PDL1遮断に対して感受性が乏しく、10F9.G2(抗PDL1)及びRMT1-14(抗PD1)単独療法に应答して腫瘍成長遅延のみ(不変又は治癒なし)が通常認められる。したがって、このモデルは、抗PD1、抗PDL1に固有の抵抗性を考察するための関連モデルとなる。UK Animal(Scientific Procedures)Act 1986及びEU Directive 86/609に従い、UK Home Office Project Licence下で全てのインビボ実験を実施し、これは、Babraham Institute Animal Welfare and Ethical Review Bodyによって承認された。

10

【0473】

6～8週齢及び>18gのBalb/cマウスは、Charles River UKによって供給され、特定病原体感染防止条件下で収容された。合計 1×10^5 個のCT26細胞(P20未満の継代数)をマウスの左脇腹に皮下注射した。別途記載されない限り、腫瘍細胞注射後6日目に処置を開始した。Accutase(Sigma)を使用してCT26細胞をインビトロで継代し、PBS中で2回洗浄し、10%ウシ胎仔血清で補充したRPMI中に再懸濁させた。細胞生存率は、腫瘍細胞注射時に90%を上回ることが確認された。

【0474】

インビボ研究のために、STIM001抗ICOSアゴニスト(マウスICOSタンパク質に対して交差反応性)をマウスIgG1及びマウスIgG2aとして再フォーマット化して、同等エフェクター機能ヌル及び同等エフェクター機能可能をそれぞれ試験した。抗PDL1は、Biolegend(Cat.no:124325)から供給された。ハイブリッド対照は、Kymab(mIgG2aアイソタイプ)から生成されたか、又は商業的供給源(ハムスターアイソタイプHTK888、Biolegend(Part No92257、Lot B215504))からのものであった。単独療法として、又は抗PDL1を抗ICOS抗体と組み合わせることによって、10mg/kg(0.9%生理食塩水中1mg/ml)で、6日目から週に3回、全ての抗体を腹腔内(IP)投与した(6～18日目にかけて2週間の投与)。動物の体重及び腫瘍体積を腫瘍細胞注射の日から週に3回測定した。腫瘍体積は、修正された楕円式(modified ellipsoid formula)1/2(長さ×幅²)の使用によって計算された。マウスは、それらの腫瘍が12mm³の平均直径に達するまで、又はまれに、腫瘍潰瘍の発生が認められる(福祉)まで、研究を続けた。50日目に実験を停止した。ヒトエンドポイント生存統計は、Prismを用いるKaplan-Meier法を使用して計算した。このアプローチを使用して、特定の処置が生存の改善に関連付けられるかどうかを判定した。

20

30

40

50

【表 1 2】

群	動物の数	処置 (T. I. W、6日目から I P)
1	10	10 mg/kg の m I g G 2 a および 10 mg/kg の I g G アイソタイプ対照 (HTK888)
2	10	10 mg/kg の抗 I C O S S T I M 0 0 1 m I g G 1
3	10	10 mg/kg の抗 I C O S S T I M 0 0 1 m I g G 2 a
4	10	10 mg/kg の抗 P D - L 1 (10F9. G2)
5	10	10 mg/kg の抗 P D - L 1 および 10 mg/kg の抗 I C O S S T I M 0 0 1 m I g G 1
6	10	10 mg/kg の抗 P D - L 1 および 10 mg/kg の抗 I C O S S T I M 0 0 1 m I g G 2 a

表 E 1 1 - 1 : 処置群

【0475】

結果

図7、図8、及び図9に示されるように、I C O S アゴニストは、単独療法として、又は抗 P D L 1 と併用して、疾患進行を遅延させ、一定の割合の動物を C T - 2 6 皮下腫瘍から治癒させることができる。抗 P D L 1 単独療法は、腫瘍成長遅延を誘導したが、不変又は治癒の潜在性は認められなかった。併用は、腫瘍の治療において抗 I C O S 単独療法よりも有効であった。この研究はまた、このモデルにおいて抗腫瘍応答を引き起こすのに、マウス I g G 2 a フォーマット(エフェクター機能可能化)の S T I M 0 0 1 がマウス I g G 1 (エフェクターナル)フォーマットよりも強力であることを強調した。

【0476】

実施例 1 1 b : 抗 I C O S m I g G 2 a の抗 P D L 1 m I g G 2 a との併用のための C T 2 6 同系モデルにおけるインピボでの強い抗腫瘍有効性

A b W と呼ばれるマウス交差反応性抗ヒト P D L 1 抗体と共に S T I M 0 0 1 を用いてインピボ併用研究を実施した。このインピボ研究のために、S T I M 0 0 1 をマウス I g G 1 及びマウス I g G 2 a として再フォーマット化して、その有効性を低エフェクター機能又は同等エフェクター機能可能化分子とそれぞれ比較した。抗 P D L 1 A b W を同じフォーマット(マウス I g G 1 及びマウス I g G 2 A)で生成した。

【0477】

皮下 C T 2 6 結腸癌モデル(A T C C、C R L - 2 6 3 8)を使用して、B a l b / c マウスにおいて有効性試験を実施した。6 ~ 8 週齢及び > 1 8 g の B a l b / c マウスは、C h a r l e s R i v e r U K によって供給され、特定病原体感染防止条件下で収容された。合計 1 x 1 0 E 5 個の C T 2 6 細胞(P 2 0 未満の継代数)をマウスの右脇腹に皮下注射した。別途記載されない限り、腫瘍細胞注射後 6 日目に処置を開始した。T r y p L E (商標) E x p r e s s E n z y m e (T h e r m o f i s h e r) を使用して C T 2 6 細胞をインピトロで継代し、P B S 中で 2 回洗浄し、1 0 % ウシ胎仔血清で補充した R P M I 中に再懸濁させた。細胞生存率は、腫瘍細胞注射時に 9 0 % を上回ることが確認された。

【0478】

腫瘍細胞移植後 6 日目から週に 3 回、S T I M 0 0 1 及び抗 P D L 1 抗体を組み合わせ、各々 2 0 0 μ g (0 . 9 % 生理食塩水中 1 m g / m l) で同時に腹腔内(I P)投与した(6 ~ 1 7 日目の間、2 週間の投与)。腫瘍成長を監視し、アイソタイプ対照抗体(m I g G 1 及び m I g G 2 A)の混合物で処置した動物の腫瘍と比較した。動物の体重及び腫瘍体積を腫瘍細胞注射の日から週に 3 回測定した。腫瘍体積は、修正された楕円式 1 / 2 (長さ x 幅 2) の使用によって計算された。マウスは、それらの腫瘍が 1 2 m m 3 の平均直径に達す

るまで、又はまれに、腫瘍潰瘍の発生が認められる(福祉)まで、研究を続けた。50日目に実験を停止した。ヒトエンドポイント生存統計は、Prismを用いるKaplan-Meier法を使用して計算した。このアプローチを使用して、特定の処置が生存の改善に関連付けられるかどうかを判定した。

【表13】

群	動物の数	治療レジメン (週に3回、2週間)
1	10	mIgG2a+mIgG1アイソタイプ各200 μ g
2	10	抗ICOS mIgG1 STIM001+抗PD-L1 mIgG1 (AbW) 各200 μ g
3	10	抗ICOS mIgG2a STIM001+抗PD-L1 mIgG2a (AbW) 各200 μ g
4	10	抗ICOS mIgG2a STIM001+抗PD-L1 mIgG1 (AbW) 各200 μ g
5	10	抗ICOS mIgG1 STIM001+抗PD-L1 mIgG2a (AbW) 各200 μ g

表E11-2: STIM001 2 \times 2組み合わせの処置群

【0479】

結果は、図10に示される。全ての抗体の組合せは、アイソタイプ対照で処置した動物と比較したとき、処置した動物の腫瘍成長を遅延させ、生存期間(ヒトエンドポイントに達するまでの時間)を延長した。興味深いことに、抗PD-L1と組み合わせた場合(そのフォーマットmIgG1又はmIgG2aとは無関係に)、STIM001 mIgG2a抗体は、腫瘍成長の阻害においてmIgG1フォーマットのSTIM001よりも有効であった。これらのデータは、抗腫瘍有効性を最大化するエフェクター機能を有する抗ICOS抗体の利点を示す。特に、aPD-L1 mIgG2aと組み合わせたSTIM001 mIgG2aは、最も強い腫瘍有効性及び改善された生存期間を実証した(動物の90%が応答を示し、60%が60日目に疾患から治癒した)。

【0480】

同様に、STIM003 mIgG1及びmIgG2aを、単独療法として、又は抗PD-L1(AbW)mIgG2aと組み合わせて、同じCT26腫瘍モデルにおいて試験した。腫瘍細胞移植後6日目から週に3回、STIM001及び抗PD-L1抗体を組み合わせて、各々200 μ g(0.9%生理食塩水中1mg/ml)で同時に腹腔内(IP)投与した(6~17日目の間、2週間の投与)。この実験では、腫瘍サイズを41日間監視した。ヒトエンドポイント生存統計は、Prismを用いるKaplan-Meier法を使用して計算した。このアプローチを使用して、特定の処置が生存の改善に関連付けられるかどうかを判定した。

10

20

30

40

50

【表 1 4】

群	動物の数	治療レジメン（6日目から2週間、週に3回）
1	10	m I g G 2 a + m I g G 1 アイソタイプ対照各 200 μ g
2	10	抗PD-L1 m I g G 2 a (A b W) 200 μ g
3	10	S T I M 0 0 3 m I g G 1 200 μ g
4	10	S T I M 0 0 3 m I g G 2 a 200 μ g
5	10	S T I M 0 0 3 m I g G 1 + 抗PD-L1 m I g G 2 a (A b W) 各200 μ g
6	10	S T I M 0 0 3 m I g G 2 a + 抗PD-L1 m I g G 2 a (A b W) 各200 μ g

表E11-3：抗PD-L1 A b W I g G 2 a とのS T I M 0 0 3 組み合わせのための処置群

【0481】

結果は、図11に示される。a P D L 1 (A b W) 及び S T I M 0 0 3 m I g G 2 a を使用する単独療法は、軽度の抗腫瘍活性を実証した(各群において1匹の動物が疾患から治癒した)。a P D L 1 (A b W) m I g G 2 a との S T I M 0 0 3 m I g G 1 又は m I g G 2 a の組合せは、強い抗腫瘍有効性を示した。興味深いことに、a P D L 1 m I g G 2 a と組み合わせられた場合、41日目までに、S T I M 0 0 3 m I g G 2 a は、腫瘍成長の阻害において S T I M 0 0 3 m I g G 1 よりも強力であった(それぞれ60%対30%の動物が疾患から治癒した)。このデータは、抗腫瘍有効性を最大化する抗 I C O S 抗体のエフェクターフォーマットの利点をさらに強調した。

【0482】

総じて、これらのデータは、抗PD-L1との抗ICOS抗体S T I M 0 0 1 又は S T I M 0 0 3 の組合せは、両方の抗体がエフェクター可能化機能を有する場合に最も強い抗腫瘍応答をもたらすことを実証する。好適な対応するヒト抗体アイソタイプには、ヒト I g G 1、任意選択で、さらに増強したエフェクター機能を有するもの、例えば、フコシル化されていない I g G 1 が含まれる。

【0483】

抗PD-L1 m I g G 2 a 及び S T I M 0 0 3 m I g G 2 a で処置したマウス、及び個々の各薬剤の K a p l a n M e i e r 曲線は、図29に示される。

【0484】

実施例11c：S T I M 0 0 3 抗体の単一用量は、腫瘍微小環境(TME)をリセットし、連続的な抗PD-L1投与と組み合わせる強い抗腫瘍有効性をもたらす

この研究では、S T I M 0 0 3 m I g G 2 A の単回対複数回投与を抗PD-L1抗体(A b W)の複数回投与と比較した。このデータは、抗ICOS抗体の単一用量が、抗PD-L1抗体がより大きい効果を発揮することを可能にするように腫瘍微小環境を改変し得る。これは、抗ICOS抗体によるTMEの「リセット」として想定され得る。

【0485】

前と同様に、これらの皮下C T 2 6 結腸癌モデル(A T C C、C R L - 2 6 3 8)を使用して、B a l b / c マウスにおいて有効性試験を実施した。6~8週齢及び>18gのB a l b / c マウスは、C h a r l e s R i v e r U K によって供給され、特定病原体感染防止条件下で収容された。合計1 x 10⁵個のC T 2 6 細胞(P20未満の継代数)をマウスの右脇腹に皮下注射した。別途記載されない限り、腫瘍細胞注射後6日目に処置を開始した。T r y p l e (商標) E x p r e s s E n z y m e (T h e r m o f i s h e r) を使用してC T 2 6 細胞をインピトロで継代し、P B S 中で2回洗浄し、10%ウシ胎仔血

10

20

30

40

50

清で補充した R P M I 中に再懸濁させた。細胞生存率は、腫瘍細胞注射時に 90 % を上回ることが確認された。

【0486】

処置群は、表 E 1 1 - 4 に示される。10 mg / kg (0.9 % 生理食塩水中 1 mg / ml) で、S T I M 0 0 3 及び抗 P D L 1 抗体を腹腔内 (I P) 投与した。腫瘍細胞移植後 6 日目から処置を開始した。腫瘍成長を監視し、生理食塩水で処置した動物の腫瘍と比較した。動物の体重及び腫瘍体積を腫瘍細胞注射の日から週に 3 回測定した。腫瘍体積は、修正された楕円式 (modified ellipsoid formula) $1/2$ (長さ × 幅²) の使用によって計算された。マウスは、それらの腫瘍が 12 mm³ の平均直径に達するまで、又はまれに、腫瘍潰瘍の発生が認められる (福祉) まで、研究を続けた。55 日目に実験を停止した。

【0487】

データは、図 3 4 に示される。6 日目から 6 用量の S T I M 0 0 3 及び抗 P D L 1 の同時投与は、C T 2 6 モデルにおいて強い抗腫瘍有効性をもたらし、5/8 の動物が研究終了時 (55 日目) に腫瘍がなくなった。興味深いことに、単独療法として、S T I M 0 0 3 の単一用量に続く抗 P D L 1 の複数回用量により、同様の抗腫瘍有効性が達成された。抗 P D L 1 m I g G 2 a と組み合わせられた場合、S T I M 0 0 3 を 1 回投与することと (C) 6 回投与することと (B) の間で同様の全体的な有効性が認められた。1 匹の動物のみが自然発生腫瘍拒絶 (このモデルではまれ) を有した生理食塩水処置分 (A) と比較した場合、組み合わせられた薬物で処置された群は、実験の終了時 (55 日目) までに動物の 62.5 % において完全腫瘍拒絶を有した。このデータは、S T I M 0 0 3 抗体を使用して腫瘍微小環境をリセットすることができること、及び抗体が免疫チェックポイント抵抗性腫瘍を抗 P D L 1 に対して感受性にさせることを示す。先に示されたように (実施例 1 1 b)、C T 2 6 腫瘍細胞株は、抗 P D L 1 単独療法に対して強く応答性ではない。S T I M 0 0 3 は、抗 P D L 1 療法の抗腫瘍活性を促進させる変化を引き起こすと考えられる。

【0488】

実施例 1 2 : 抗体配列分析

抗体 S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 2、S T I M 0 0 2 - B、S T I M 0 0 3、S T I M 0 0 4、S T I M 0 0 5、S T I M 0 0 6、S T I M 0 0 7、S T I M 0 0 8、及び S T I M 0 0 9 のフレームワーク領域をヒト生殖細胞系遺伝子セグメントと比較して、最も近い一致を同定した。表 E 1 2 - 1 及び表 E 1 2 - 2 を参照されたい。

【表 1 5】

重鎖	V	D	J
STIM001	IGHV1-18*01	IGHD6-19*01	IGHJ6*02
STIM002	IGHV1-18*01	IGHD3-10*01	IGHJ6*02
STIM002-B	IGHV1-18*01	IGHD3-10*01	IGHJ6*02
STIM003	IGHV3-20*d01	IGHD3-10*01	IGHJ4*02
STIM004	IGHV3-20*d01	IGHD3-10*01	IGHJ4*02
STIM005	IGHV1-18*01	IGHD3-9*01	IGHJ3*02
STIM006	IGHV3-11*01	IGHD3-10*01	IGHJ6*02
STIM007	IGHV2-5*10	IGHD3-10*01	IGHJ6*02
STIM008	IGHV2-5*10	IGHD3-10*01	IGHJ6*02
STIM009	IGHV3-11*01	IGHD3-9*01	IGHJ6*02

表 E 1 2 - 1. 抗 I C O S A b の重鎖生殖細胞系遺伝子セグメント

10

20

30

40

50

【表 1 6】

軽鎖	V	J
STIM001	IGKV2-28*01	IGKJ4*01
STIM002	IGKV2-28*01	IGKJ2*04
STIM002-B	IGKV2-28*01	IGKJ2*04
STIM003	IGKV3-20*01	IGKJ3*01
STIM004	IGKV3-20*01	IGKJ3*01
STIM005	IGKV1D-39*01	IGKJ1*01
STIM006	IGKV2-28*01	IGKJ2*04
STIM007	IGKV3-11*01	IGKJ4*01
STIM008	IGKV3-11*01	IGKJ4*01
STIM009	IGKV2-28*01	IGKJ1*01

表 E 1 2 - 2. 抗 I C O S A b のカップ軽鎖生殖細胞系遺伝子セグメント

【 0 4 8 9】

実施例 3 に記載される免疫付与したマウスから分取したさらなる I C O S 特異的細胞からの P C R 増幅抗体 D N A の次世代配列決定によってさらなる抗体配列を得た。これは、それらの重鎖及び軽鎖 v 及び j 遺伝子セグメント並びに C D R 3 の長さに基づき、S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 2、又は S T I M 0 0 3 と共に群分けしてクラスター化され得る多数の抗体を同定した。C L - 6 1 0 9 1 は S T I M 0 0 1 とクラスター化され、C L - 6 4 5 3 6、C L - 6 4 8 3 7、C L - 6 4 8 4 1、及び C L - 6 4 9 1 2 は S T I M 0 0 2 とクラスター化され、C L - 7 1 6 4 2 及び C L - 7 4 5 7 0 は S T I M 0 0 3 とクラスター化された。抗体 V H 及び V L ドメインの配列アライメントは、図 3 5 ~ 3 7 に示される。

【表 1 7】

抗体	VH_ V_G	VH_J _GE	VH_CDR 3_NT_LE	VL_V _GEN	VL_J _GEN	VL_CDR3_ NT_LEN
STIM001、CL-61091	ENE	NE	NGTH	E	E	H
STIM002、CL-64536、CL-64837、CL-64841、CL-64912	1-18	6	42	2-28	4	27
STIM003、CL-71642、CL-74570	1-18	6	51	2-28	2	27
STIM004	3-20	4	51	3-20	3	27
STIM005	3-20	4	51	3-20	3	24
STIM006	1-18	3	51	1D-39	1	24
STIM007、STIM008	3-11	6	63	2-28	2	30
STIM009	2-5	6	48	3-11	4	27
	3-11	6	60	2-28	1	27

表 E 1 2 - 3. 抗体は、配列によってクラスター化されている。

【 0 4 9 0】

実施例 1 3 : ピーズ結合抗体による I C O S 発現 M J 細胞のアゴニズム

抗体STIM001、STIM002、及びSTIM003、抗ICOS抗体C398・4A、並びにICOSリガンド(ICOSL-Fc)をビーズと各々共有結合させ、培養中で成長させたMJ細胞からのサイトカインIFN- γ の発現を誘導するそれらの能力について評価した。ビーズに結合したヒトIgG1及びクローンC398・4Aアイソタイプ対照を並行して評価した。

【0491】

データは、以下の図12及び表E13に示される。

【0492】

抗ICOS抗体は各々、このアッセイにおいてアゴニズムを実証し、アッセイのダイナミックレンジ内のそれらの同起源のアイソタイプ対照によって認められたものを有意に上回るIFN- γ 定量化によって判定されるようにMJ細胞を刺激した。

【0493】

STIM003及びクローンC398・4Aは、STIM001(上位95%CI: 7.21~8.88及びLogEC50 95%CI: -8.82~-8.63)及びSTIM002(上位95%CI: 5.38~6.95及びLogEC50 95%CI: -9.00~-8.74)と比較して、より低い上位漸近線値(それぞれ95%CI: 3.79~5.13及び3.07~4.22)を生成したが、より強力なLogEC50値(それぞれ95%CI: -9.40~-9.11及び-9.56~-9.23)を生成した。ICOSL-Fc及びC398・4Aアイソタイプ対照について不完全な曲線(上位がアッセイのダイナミックレンジ外)が生成されたため、適合した上位及びLogEC50値は、信頼できるものとして扱われなかった。ヒトIgG1ハイブリッド対照は完全な曲線を生成したが、曲線下の領域は0と有意に異ならなかったため、アゴニストと見なされなかった。

【表18】

ベストフィット値 95%CI	STIM001- ビーズ	STIM002- ビーズ	STIM003- ビーズ	ヒトIgG1 ハイブリッド対照 ビーズ	クローン C398.4A- ビーズ	クローン C398.4AIC -ビーズ	ICOSL-Fc- ビーズ
下位	-0.24~ 0.36	-0.38~ 0.56	-0.39~ 0.34	-0.26~ 0.06	-0.37~ 0.42	-0.20~- 0.09	-0.62~0.49
上位	7.21~8.88	5.38~6.95	3.79~5.13	-0.04~ 0.20	3.07~4.22	NA	-45.66~ 65.37
LogEC50	-8.82~- 8.63	-9.00~- 8.74	-9.40~- 9.11	-10.43~- 8.60	-9.56~- 9.23	NA	-12.80~- 2.37
ヒルスロー ープ	0.89~1.38	0.82~1.85	0.69~1.56	-3.47~ 6.61	0.64~1.90	NA	-0.38~1.88

表E13. ビーズ結合MJ細胞インビトロ活性化アッセイの要約表。NA-該当なし。

【0494】

MJ細胞活性化アッセイ材料及び方法 - ビーズ結合

目的のタンパク質の磁性粒子への結合

抗ICOS抗体、対照抗体、及びICOSL-Fcを以下のようにビーズに結合させた。

【0495】

Dynabeads M-450 Tosylactivated(Invitrogen、約 2×10^8 ビーズ/試料)を100 μ gの各タンパク質試料と共に室温で一晩、攪拌しながらインキュベートした。ビーズをDPBS(Gibco)で3回洗浄し、1MのTris-HCl(pH8.0)(UltraPure(商標)、Gibco)と共に室温で1時間

、攪拌しながらインキュベートして、未結合の反応部位を遮断した。再度ビーズをDPBSで3回洗浄し、0.5 mlのDPBS/試料中で最終的に再懸濁させた。

【0496】

次いで、ビーズ上の目的の各タンパク質の量を以下のように判定した。黒色平底の高結合ELISAプレート(Greiner)を、DPBS中4 µg/ml、50 µl/ウェルで、抗ヒトIgG(Southern Biotech)又は抗アルミニウムハムスターIgG(Jackson ImmunoResearch)捕捉抗体によって4で一晩コーティングした。次いで、200 µl/ウェルのDPBS+0.1% Tweenでウェルを洗浄し、200 µl/ウェルのDPBS+1% BSAで、室温で1時間遮断した。再度ウェルをDPBS+0.1% Tweenで3回洗浄した。ストックタンパク質試料を分光測定により定量化し、ビーズを細胞カウンターで計数した。次いで、タンパク質試料及びビーズの希釈系列を50 µl/ウェルで、室温で1時間プレート中でインキュベートした後、再度DPBS+0.1% Tweenで3回洗浄した。DPBS+0.1% BSA中の、50 µl/ウェルのビオチニル化抗アルミニウムハムスター抗体又は抗ヒトIgG-ユーロピウムのいずれかを添加し、室温で1時間インキュベートした。ビオチニル化アルミニウムハムスター抗体C398.4Aを添加した場合、アッセイ緩衝液(Perkin Elmer)中で1:500に希釈された50 µl/ウェルのストレプトアビジン-ユーロピウム(Perkin Elmer)との別のインキュベーションステップを追加し、室温で1時間インキュベートした。ウェルを200 µl/ウェルのTBS+0.1% Tweenで3回洗浄した後、50 µl/ウェルのDelfia増強溶液(Perkin Elmer)の添加、室温で10分間のインキュベーション、及びEnVision Multilabel Plate Reader上で615 nmで発光した蛍光を測定することによってアッセイを進めた。未結合タンパク質試料の既知の濃度から得られたシグナルからの値を外挿することによって、ビーズ上のタンパク質の量を判定した。

【0497】

MJ細胞インビトロ活性化アッセイ-ビーズ結合

20%の熱不活性化FBSで補充したIMDM(Gibco又はATCC)中で、MJ[G11]細胞株(ATCC CRL-8294)を成長させた。細胞を計数し、15000細胞/ウェル(50 µl/ウェル)の細胞懸濁液を96ウェルの透明平底ポリスチレン滅菌TC処理マイクロプレートに添加した。ビーズを計数し、 1.5×10^6 ビーズ/ウェル~約5860 ビーズ/ウェル(50 µl/ウェル)の範囲の連続1:2希釈を二連又は三連で細胞に添加した。バックグラウンドを説明するために、プレートのいくつかのウェルは、MJ細胞のみ(100 µl/ウェル)を含有した。細胞及びビーズをプレート中で、37及び5%CO₂で3日間共培養した後、遠心分離によって上清を採取し、IFN-含量判定のために回収した。

【0498】

IFN-レベルの測定

Human IFN-γ DuoSet ELISAキット(R&D systems)の修正を使用して、各ウェル中のIFN-含量を判定した。黒色平底高結合プレート(Greiner)上で、捕捉抗体(50 µl/ウェル)をDPBS中4 µg/mlで一晩コーティングした。ウェルを200 µl/ウェルのDPBS+0.1% Tweenで3回洗浄した。ウェルを200 µl/ウェルのDPBS(w/v)中1% BSAで遮断し、200 µl/ウェルのDPBS+0.1% Tweenで洗浄し、次いで、50 µl/ウェルの、RPMI中のIFN-標準溶液又は未希釈の細胞上清のいずれかを各ウェルに添加し、室温で1時間インキュベートした。ウェルを200 µl/ウェルのDPBS+0.1% Tweenで3回洗浄した後、DPBS+0.1% BSA中で50 µl/ウェルのビオチニル化検出抗体を200 ng/mlで添加し、室温で1時間インキュベートした。ウェルを200 µl/ウェルのDPBS+0.1% Tweenで3回洗浄した後、アッセイ緩衝液(Perkin Elmer)中で1:500に希釈された、50 µl/ウェルのストレプトアビジンユーロピウム(Perkin Elmer)を200 ng/mlで添加し、室温で1

時間インキュベートした。ウェルを200 μ l/ウェルのTBS+0.1% Tweenで3回洗浄した後、50 μ l/ウェルのDelfia増強溶液(Perkin Elmer)の添加、室温で10分間のインキュベーション、及びEnvision Multilabel Plate Reader上で615 nmで発光した蛍光を測定することによってアッセイを進めた。

【0499】

データ分析

各ウェルのIFN- γ 値を標準曲線から内挿し、細胞のみのウェルからの平均バックグラウンドレベルを減算した。次いで、バックグラウンド修正値をGraphPadプリズムに使用して、4パラメータログロジスティック濃度反応曲線を適合させた。

10

【0500】

実施例14：プレート結合抗体によるICOS発現MJ細胞のアゴニズム

ICOS発現T細胞のアゴニズムのための代替的なアッセイは、プレート結合フォーマットの抗体を使用する。

【0501】

MJ細胞活性化アッセイ材料及び方法 - プレート結合

抗体コーティング：96ウェルの平らな滅菌高結合プレート(Costar)を、DPBS(Gibco)中で、100 μ l/ウェルの目的のタンパク質(抗ICOS抗体、対照抗体、及びICOSL-Fc)の連続1:2希釈によって10 μ g/ml~0.02 μ g/mlの範囲で二連又は三連で、4で一晩コーティングした。バックグラウンドを説明するために、プレートのいくつかのウェルは、DPBSのみでコーティングした。プレートを200 μ l/ウェルのDPBSで3回洗浄した後、細胞を添加した。

20

【0502】

細胞刺激：20%の熱不活性化FBSで補充したIMDM(Gibco又はATCC)中で、MJ[G11]細胞株(ATCC CRL-8294)を成長させた。細胞を計数し、15000細胞/ウェル(100 μ l/ウェル)の細胞懸濁液を、タンパク質でコーティングされたプレートに添加した。細胞を37℃及び5%CO₂で3日間培養した。細胞を遠心分離によって培地から分離し、IFN- γ 含量判定のために上清を回収した。

【0503】

IFN- γ レベルの測定及びデータ分析は、実施例13に記載の通りであった。

30

【0504】

結果

結果は、図13及び表E14-1に示される。要約すると、STIM001、STIM002、及びSTIM003は全て、IFN- γ 分泌によって測定される強力なアゴニズムを示し、同様のLogEC50値(それぞれLogEC50 95%CI: -7.76~-7.64、-7.79~-7.70、及び7.82~-7.73)及び上位値(それぞれ上位95%CI: 2.06~2.54、2.44~2.93、及び2.01~2.41)を有した。クローンC398.4Aは、同様のLogEC50値(LogEC50 95%CI: -7.78~-7.60)を示したが、STIM001~STIM003よりも低い上位値(上位95%CI: 1.22~1.63)を示した。STIM004も、このアッセイにおいてアゴニズムを示したが、より強力ではなく、中等度の上位値(上位95%CI: 0.16~0.82)に達し、同様のLogEC50値(LogEC50 95%CI: -7.91~-7.21)を有した。STIM001、STIM002、及びSTIM003は、ICOSL-Fc(LogEC50 95%CI: -7.85~-7.31及び上位95%CI: 0.87~2.45)よりも強いアゴニストであった。

40

【表 19】

ベストフ ィット値 95%CI	STIM001	STIM002	STIM003	STIM004	IgG1	クローン C398.4A	ICOSL-Fc	クローン C398.4A IC
下位	-0.03～ 0.13	-0.08～ 0.11	-0.10～ 0.07	-0.06～ 0.07	NA	-0.03～ 0.11	-0.16～ 0.09	-0.07～ 0.04
上位	2.06～ 2.54	2.44～ 2.93	2.01～ 2.41	0.16～ 0.82	NA	1.22～ 1.63	0.87～ 2.45	0.05～ 0.29
LogEC50	-7.76～- 7.64	-7.79～- 7.70	-7.82～- 7.73	-7.91～- 7.21	NA	-7.78～- 7.60	-7.85～- 7.31	NA
ヒルスロ ープ	2.06～ 5.38	0.16～ 10.88	1.77～6.5	-1.46～ 6.77	NA	1.24～ 8.20	0.26～ 3.97	NA

表E14-1. プレート結合MJ細胞インビトロ活性化アッセイの要約。IgG1=ヒトIgG1ハイブリッド対照抗体。

【0505】

実施例15：可溶性形態の抗体によるICOS発現MJ細胞のアゴニズム

固体表面上に配列した抗体を使用した実施例13及び実施例14に記載されるアッセイとは対照的に、この阿世知は、可溶性形態の抗体がICOS発現T細胞のアゴニストとして働くかどうかを判定する。

【0506】

MJ細胞活性化アッセイ材料及び方法 - 可溶性

20%の熱不活性化FBSで補充したIMDM(Gibco又はATCC)中で、MJ[G11]細胞株(ATCC CRL-8294)を成長させた。細胞を計数し、15000細胞/ウェル(50μl/ウェル)の細胞懸濁液を96ウェルの透明平底ポリスチレン滅菌TC処理マイクロプレートに添加した。単独の、又は架橋試薬(AffiniPure F(ab')₂断片ヤギ抗ヒトIgG、Fc断片特異的; Jackson ImmunoResearch)を添加した、10μg/ml～0.01953125μg/mlの範囲の目的のタンパク質の連続1:2希釈を二連又は三連で細胞に添加した(50μl/ウェル)。バックグラウンドを説明するために、プレートのいくつかの壁は、MJ細胞のみ(100μl/ウェル)を含有した。細胞及びビーズをプレート中で、37℃及び5%CO₂で3日間共培養した後、遠心分離によって上清を採取し、IFN-γ含量判定のために回収した。

【0507】

IFN-γレベルの測定及びデータ分析は、実施例13に記載の通りであった。

【0508】

結果

STIM001及びSTIM002はいずれも、ヒトIgG4・PEハイブリッド対照と比較したIFN-γ分泌によって測定される有意な可溶性アゴニズムを示した。ヤギ抗ヒトIgG Fc F(ab')₂断片を介したMAb架橋は、分泌IFN-γレベルをより一層増加させた。

【0509】

実施例16：活性化T細胞への抗体の結合

A. ヒトICOS

抗ICOS抗体がその天然状況において活性化初代ヒトT細胞の表面上でICOS細胞

10

20

30

40

50

外ドメインを認識する能力をこのアッセイで確認する。

【0510】

汎T細胞(CD3細胞)を単離し、CD3/CD28ダイナビーズ(ThermoFisher)を用いて3日間培養して、それらの表面上でICOS発現を誘導した。2つの方法、すなわち、事前標識した抗体(AF647と直接接合した抗体)の直接結合後の検出によって、又は二次AF647ヤギ抗ヒトFc抗体の使用によって間接的に、STIM001、STIM003、及びhIgG1ハイブリッド対照(HC IgG1)の表面染色を判定した。染色した細胞をAttune上で泳動し、染色強度が平均蛍光強度(MFI)として提示された。GraphPad Prismを使用してEC50を判定した。

【0511】

結果は、図14に示される。いったん活性化されると、汎CD3 T細胞は、STIM001及びSTIM003 hIgG1の両方によって明確に染色された。特に、活性化T細胞へのSTIM003結合の飽和は、STIM001よりも低い濃度で生じ、これは、ヒトICOSに対するSTIM003のより高い親和性を示す。STIM003のEC50は、STIM001よりもおよそ100倍低かった(間接結合アッセイについて、0.148 nM対17 nM)。

【0512】

B. 非ヒト霊長類由来のICOS

抗ICOS抗体がその天然状況において非ヒト霊長類(NHP)由来の活性化初代T細胞の表面上でICOS細胞外ドメインを認識する能力をこのアッセイで確認する。

【0513】

2匹のモリシャスカニクイザル(Wickham Laboratories)の全血由来のPBMCを勾配遠心分離によって単離し、CD2/CD3/CD28 MACS beads(Miltenyi)を用いて3日間培養して、それらの表面上でICOS発現を誘導した。AF647で事前標識した抗体(80 µg ~ 8 pg/ml)の直接結合後に、STIM001、STIM003、及びhIgG1ハイブリッド対照(HC IgG1)の表面染色を判定した。T細胞サブセット上の染色を評価するために、細胞をV450-CD3でも標識した。染色した細胞をAttune(ThermoFisher)上で泳動し、染色強度が平均蛍光強度(MFI)として提示された。GraphPad Prismを使用してEC50を判定した。

【0514】

結果は、図28に示される。いったん活性化されると、T細胞は、STIM001及びSTIM003 hIgG1の両方によって明確に染色された。ヒトT細胞への結合で認められたように、活性化NHP T細胞へのSTIM003結合の飽和は、STIM001よりも低い濃度で生じ、これは、STIM003がこれらの2つの抗体ICOSのより高い親和性を有することを示す。NHP ICOSへの結合のEC50値は、ヒトICOSへの結合について得られたものと同様であった。

【表20】

汎T細胞	EC50	カニクイザルドナー1	カニクイザルドナー2
NHP	STIM001	2.224e-7	未検証
	STIM003	4.581e-9	4.830e-9
ヒト	STIM001	2.209e-7	1.207e-7
	STIM003	2.293e-9	8.953e-10

表E16. 活性化NHP T細胞上でのICOSへの抗体結合について計算されたEC50 (モル)

【0515】

実施例 17：腫瘍浸潤リンパ球及び末梢 T 細胞間の T 細胞亜集団の分析

薬力学研究により、m I g G 2 a アイソタイプの抗 I C O S 抗体 S T I M 0 0 1 及び S T I M 0 0 3 が、であることが T R e g を著しく枯渇させ、C D 4 + エフェクター細胞のパーセンテージを増加させ、腫瘍微小環境 (T M E) 内の C D 4 + エフェクター / T R e g 比及び C D 8 + / T R e g 比を増加させることが明かされた。

【 0 5 1 6 】

T M E 内の C D 8 + / T R e g 比の増加及び C D 4 + エフェクター細胞の数の増加は合わせて、S T I M 0 0 1 & S T I M 0 0 3 有効性研究 (実施例 11) のいてこれらの抗 I C O S 抗体を抗 P D L 1 抗体と同時注射したときに認められた C T 2 6 腫瘍クリアランスに寄与する。

【 0 5 1 7 】

方法

薬力学研究を、C T - 2 6 マウス結腸癌細胞 (A T C C、C R L - 2 6 3 8) を保有する雌の B a l b / c マウスで行った。B a l b / c マウスは、C h a r l e s R i v e r U K から供給され、6 ~ 8 週齢、1 8 g 超であり、特定の病原体のない条件下で飼育された。合計 1×10^5 の C T - 2 6 腫瘍細胞 (継代数：P 8) を右脇腹に皮下注射した。全ての C T - 2 6 腫瘍保有動物を 6 群に割り当て (表 E 1 7 - 1)、個々のマウスに $200 \mu\text{g}$ の抗体又は生理食塩水を 2 回 (腫瘍細胞移植後 13 日目及び 15 日目に) 投与した。C T - 2 6 腫瘍保有動物由来の C D 3 + T 細胞を、腫瘍細胞移植から 16 日目に F A C S により分析した。

【表 2 1】

群	動物の数	処置レジメン (腫瘍細胞移植から 13 日目および 15 日目)
1	10	生理食塩水
2	10	抗 I C O S (S T I M 0 0 1) m I g G 1 各 $200 \mu\text{g}$
3	10	抗 I C O S (S T I M 0 0 1) m I g G 2 a 各 $200 \mu\text{g}$
4	10	抗 I C O S (S T I M 0 0 3) m I g G 1 各 $200 \mu\text{g}$
5	10	抗 I C O S (S T I M 0 0 3) m I g G 2 a 各 $200 \mu\text{g}$
6	10	抗 C T L A - 4 (9 H 1 0) 各 $200 \mu\text{g}$

表 E 1 7 - 1：処置群

【 0 5 1 8 】

結果

m I g G 2 a アイソタイプ中の S T I M 0 0 1 及び S T I M 0 0 3 で処置した動物は、生理食塩水処置群 (図 15 A) と比較した場合、腫瘍部位での C D 4 + C D 3 + C D 4 5 + 細胞のパーセンテージが低かったが、S T I M 0 0 1 又は S T I M 0 0 3 処置による腫瘍部位での C D 8 + C D 3 + C D 4 5 + 細胞のパーセンテージの影響は、極めて僅かであった (図 15 B)。C D 4 + T 細胞の減少は、S T I M 0 0 1 及び S T I M 0 0 3 抗体で処置した全ての群における T 制御性細胞のパーセンテージの著しい減少に起因し得る。とりわけ、m I g G 2 a アイソタイプ中の S T I M 0 0 1 及び S T I M 0 0 3 で処置した動物は、T M E 内の T - R e g (C D 4 + F o x p 3 + C D 2 5 +) の劇的な減少を示したが、m I g G 1 アイソタイプ中の S T I M 0 0 1 及び S T I M 0 0 3 は、T M E 中の T - R e g 含有量にひかえめに影響しただけであった。加えて、m I g G 2 a アイソタイプ中の S T I M 0 0 1 及び S T I M 0 0 3 で処置した動物は、T - R e g を枯渇させることが知られている [4 2] 市販の抗 C T L A - 4 (9 H 1 0、B i o l e g e n d カタログ # 1 0 6 2 0 8) 抗体で処置した動物と比較して T M E 中の T - R e g が減少したが、この結果は統計学的有意性に達しなかった (図 15 C)。T - R e g コンパートメントに対する m I g G 1 アイソタイプ又は m I g G 2 a アイソタイプのいずれかにおける S T I M 0 0 1 及

び S T I M 0 0 3 の効果は、腫瘍浸潤リンパ球 (T I L) でより特異的であった。末梢に T - r e g 枯渇は観察されなかった (抗 C T L A 4 について以前に記載された通り [4 3]) (図 1 5 D)。T - R e g 含有量の変化はまた、腫瘍内 C D 4 エフェクター細胞 (C D 4 + F o x p 3 - C D 2 5 -) のパーセンテージを有意に増加させ (図 1 5 E)、同様に、m I g G 2 a 中の S T I M 0 0 1 及び S T I M 0 0 3 で処置した動物における C D 4 エフェクター / T - R e g 比及び C D 8 / T - R e g 比も、T M E 内で有意に増加した (図 1 5 F 及び 図 1 5 G)。

【 0 5 1 9 】

実施例 1 8 : C T 2 6 腫瘍及び脾臓における I C O S 発現 T 細胞のレベルに対する抗 I C O S 抗体の効果

抗 I C O S 抗体 S T I M 0 0 1 又は S T I M 0 0 3 で処置した後、腫瘍及び脾臓組織中の全免疫細胞を分析することによって、脾臓と比較した腫瘍内の免疫細胞のパーセンテージを定量するための分析を行った。S T I M 0 0 1 及び S T I M 0 0 3 m I g G 2 a の各々は、腫瘍内の T r e g の有意な減少を引き起こしたが、脾臓においてそれを引き起こすことはなかったため、腫瘍選択的効果が示された。この枯渇は、他の T 細胞サブタイプと比較して T r e g に対して選択的であった。ここに示した結果により、S T I M 抗体の免疫構造に対する効果についての理解が助けられ、エフェクター機能に対応する F c 領域を有する抗 I C O S 抗体が T R e g を強力に枯渇させ得ることが確認される。

【 0 5 2 0 】

材料及び方法

C T 2 6 腫瘍を保有するマウスに、S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 3、又は抗 C T L A 4 抗体 (9 H 1 0) を 2 回投薬した。抗 C T L A 4 抗体は腫瘍中の T r e g を選択的に減少させることが以前に示されていたので、これを T r e g 枯渇の陽性対照として含めた [4 3]。

【 0 5 2 1 】

腫瘍内の免疫構造及び処置動物の脾臓を組織解離後に F A C S によって分析した。

【 0 5 2 2 】

この研究で用いた F A C S 抗体の詳細を表 E 1 8 に示す。全ての F A C S 抗体は、供給業者が推奨する濃度で使用した。A t t u n e N x T フローサイトメーターを用いて F A C S データを取得し、F l o w J o ソフトウェアを用いてデータを分析した。

【 表 2 2 】

マーカー	供給業者	カタログ番号	ロット番号	フルオロフォア
Live/dead	Life technologies	L-34959	1784156	Fixable Yellow
CD45	E-bioscience	45-0451-82	E08336-1636	PerCp-Cy5.5
CD3	E-bioscience	48-0032-82	4278794	eFlour 450
CD4	E-bioscience	11-0042-86	E0084-1633	FITC
CD8	E-bioscience	12-0081-85	E01039-1635	PE
Foxp3	E-bioscience	17-5773-82	4291991	APC
CD25	E-bioscience	47-0251-82	4277960	APC eF 780
ICOS	E-bioscience	25-9942-82	E17665-103	PE-CY7
Fc/Block	E-bioscience	16-0161-86	E06357-1633	-----

表 E 1 8 . F A C S 抗体

【 0 5 2 3 】

結果

CT26腫瘍及び腫瘍保有動物の脾臓においてICOS発現を測定した。ICOSタンパク質を発現する腫瘍浸潤免疫細胞のパーセンテージの増加が観察され(図20)、これにより、腫瘍中の免疫細胞が、末梢における免疫細胞よりも頻繁にICOS発現に対して陽性であることが示される。未処置動物の腫瘍におけるTRegは、ICOS発現についてほぼ全て(90%超)陽性であったが、腫瘍中のCD8+エフェクターT細胞は陽性ではなかった(約60%)。腫瘍中のT細胞亜集団(ここでも未処置マウスにおいて)を脾臓のものと比較すると、脾臓におけるTregsと比較して有意に高い($p < 0.0001$)パーセンテージの腫瘍内TregがICOS陽性であり、脾臓におけるCD4+Teff細胞と比較して有意に高い($p < 0.001$)パーセンテージの腫瘍内CD4+Teff細胞がICOS陽性であった。

10

【0524】

処置前のマウスでも、CT26腫瘍の微小環境における免疫細胞では、脾臓における免疫細胞と比較して、ICOS発現のレベルがはるかに高かった(図21)。腫瘍微小環境において分析された全ての免疫細胞サブセット(CD8+T-エフェクター、CD4+T-エフェクター、及びCD4/FoxP3+TReg細胞)の表面上でICOS発現が増加した。腫瘍及び脾臓の免疫細胞は両方ともICOSを発現しているが、腫瘍の免疫細胞は、脾臓の細胞(より低いMFIによって示される、図21)よりも有意に大きくICOSを発現している(より高いMFIによって示される、図21)。重要なことに、腫瘍中のTRegは、以前報告されているように[11]、最高レベルのICOSを発現している。

【0525】

20

CT26腫瘍保有動物を、2用量の抗体STIM001又はSTIM003、及び抗CTLA-4抗体で処置した。STIM抗体は、mIgG1フォーマット又はmIgG2フォーマットのいずれかで使用された場合、腫瘍中のCD45陽性細胞(免疫細胞に対するマーカー)全体のパーセンテージに影響を与えなかった。これらの抗体による処置は、CT26腫瘍におけるCD8エフェクターT細胞のパーセンテージに有意に影響しなかった(図22)。mIgG2aアイソタイプ中のSTIM001を用いた処置により、CD4+エフェクターT細胞の有意な($p < 0.05$)枯渇が導かれたが、STIM001 mIgG1、STIM003 mIgG1、及びSTIM003 mIgG2aのいずれも、CD4+エフェクターT細胞のパーセンテージに影響しなかった。

【0526】

30

抗CTLA-4処置により、TME中のCD45+細胞及びCD8+エフェクターT細胞の著しい(統計的に有意ではないが)増加が生じたが、CD4+エフェクターT細胞には影響しなかった(図22)。

【0527】

STIM抗体は、腫瘍中の制御性T細胞に有意に影響した。図23に示されるように、STIM001 mIgG2a及びSTIM003 mIgG2aは、腫瘍微小環境におけるTReg(ICOS発現について高い)を有意で選択的に枯渇させた。興味深いことに、抗CTLA4抗体は、この実験においてTReg枯渇の陽性対照として含まれているにもかかわらず、枯渇TRegを枯渇させることにおいてSTIM mIgG2a抗体よりも効果的ではなかった。

40

【0528】

この選択的なTRegの枯渇により、腫瘍におけるCD8エフェクターT細胞のTRegに対する比の増加、及び腫瘍におけるCD4エフェクターT細胞のTRegに対する比の増加がもたらされ、これらは両方とも抗腫瘍免疫に有利であるはず。比のデータを図24に示す。

【0529】

STIM001 mIgG2a及びSTIM003 mIgG2aによる腫瘍内TRegの枯渇とは対照的に、脾臓におけるTRegに対しては、そのような効果は観察されなかった(図25、図26、図27)。これは、抗ICOS抗体のTReg枯渇の枯渇に対する効果が全組織における全身的なものではなかったことを示している。そのような選択性は

50

、腫瘍微小環境における T r e g の優先的枯渇が、抗腫瘍エフェクター T 細胞の抑制を選択的に緩和しながら、体内の他の部位における副作用を最小限に抑えることができるため、患者の腫瘍の治療において治療用抗 I C O S 抗体にとって有利であり得る。したがって、抗 I C O S 抗体は、治療を制限する自己免疫有害事象を引き起こし得るより幅広い T 細胞応答の望ましくない活性化のリスクが低い、免疫系における抗腫瘍応答を促進し得る。

【 0 5 3 0 】

実施例 1 9 : 抗体安定性

S T I M 0 0 3 ヒト I g G 1 を、保存、凍結/解凍、及び精製中の安定性について試験すると、全ての試験条件下でその安定性が維持されることが判明した。凝集%を H P L C によって判定した。

【 0 5 3 1 】

緩衝液(1 0 m M のリン酸ナトリウム、4 0 m M の塩化ナトリウム、p H 7 . 0)中、4 で 3 ヶ月間保存した後の単量体のパーセンテージ(9 9 %)に有意な変化はなかった。

【 0 5 3 2 】

熱変性試験では、全ての試料(n = 1 5)が、同じ T m を有し(アリコート間の有意差なし)、同等の熱変性曲線を有した。

【 0 5 3 3 】

3 サイクルの凍結及び解凍後、T m (約 7 0 . 3)、単量体のパーセンテージ、又は S D S - P A G E 上のプロファイルに有意な変化はなかった。

【 0 5 3 4 】

室温で 7 日間保存した後、T m (約 7 0 . 3)、単量体のパーセンテージ、又は S D S - P A G E 上のプロファイルに有意な変化はなかった。

【 0 5 3 5 】

タンパク質 A 精製後、回収率は 9 0 % であった。

【 0 5 3 6 】

実施例 2 0 : マウスにおける A 2 0 腫瘍増殖に対する抗 I C O S A b の単剤療法効果

抗 I C O S 抗体 S T I M 0 0 1 m I g G 2 a 及び S T I M 0 0 3 m I g G 2 a は、各々、マウス A 2 0 同系モデルにおけるインビボでの単剤療法として使用された場合、強い抗腫瘍効果を示した。

【 0 5 3 7 】

材料及び方法

有効性試験は、皮下 A 2 0 細胞肉腫モデル(A T C C、T I B - 2 0 8)を使用して B A L B / c マウスで行った。A 2 0 細胞株は、古い B A L B / c A n N マウスに見られる自然発生細胞腫瘍に由来する B A L B / c B 細胞リンパ腫株である。この細胞株は、I C O S L に対して陽性であると報告されている。

【 0 5 3 8 】

B A L B / c マウスは C h a r l e s R i v e r U K から供給され、1 8 g 超であり、特定の病原体のない条件下で飼育された。合計 5 x 1 0 e 5 の A 2 0 腫瘍細胞(P 2 0 未満の継代数)をマウスの右脇腹に皮下注射した。A 2 0 細胞をインビトロで継代し、P B S 中で 2 回洗浄し、1 0 % のウシ胎児血清を補充した R P M I に再懸濁した。細胞生存率は、腫瘍細胞注入時に 8 5 % を上回ることが確認された。別途記載されない限り、抗体又はアイソタイプ投与は、腫瘍細胞注射後 8 日目から開始した。

【 0 5 3 9 】

S T I M 0 0 1 及び S T I M 0 0 3 抗 I C O S 抗体を、マウス I g G 2 a アイソタイプフォーマットで生成した。マウス交差反応性抗 P D - L 1 抗体(A b W)も同じアイソタイプフォーマット(マウス I g G 2 a)で生成した。S T I M 0 0 1、S T I M 0 0 3、及び抗 P D - L 1 抗体を、腫瘍細胞移植後 8 日目から開始して週 2 回(8 ~ 2 9 日目の 3 週間投薬)、各抗体 2 0 0 µ g で腹腔内(I P)投与した。動物の体重及び腫瘍体積を、腫瘍細胞注射の日から週 3 回測定した。腫瘍体積は、修正された楕円の方程式 1 / 2 (長さ x 幅 2)を使用して計算した。腫瘍が平均直径 1 2 m m に達するまでマウスを研究し続けた。腫瘍細胞移

10

20

30

40

50

植後43日目に実験を中止した。腫瘍増殖をモニタリングし、アイソタイプ対照(m I g G 2 a)抗体で処置した動物の腫瘍と比較した。処置群を以下の表E 2 0に示す。

【表 2 3】

群	動物の数	処置レジメン (3週の間、週2回、7回投薬)
1	8	m I g G 2 a アイソタイプ対照 2 0 0 μ g / マウス / 各投薬
2	8	抗 P D - L 1 m I G g 2 a (A b W) 2 0 0 μ g / マウス / 各投薬
3	8	抗 I C O S m I g G 2 a S T I M 0 0 1 2 0 0 μ g / マウス、各投薬
4	8	抗 I C O S m I g G 2 a S T I M 0 0 3 2 0 0 μ g / マウス / 各投薬

表E 2 0. A 2 0試験の処置群

【 0 5 4 0 】

結果

A 2 0腫瘍モデルにおいてS T I M 0 0 1又はS T I M 0 0 3(m I g G 2 a)の単剤療法を施すことで、完全な抗腫瘍応答が生じた(図32、図33)。S T I M 0 0 1又はS T I M 0 0 3のいずれかを投与した全動物の疾患が治癒した。これは、アイソタイプ対照及びP D - L 1 m I g G 2 a群の結果と対照的である(図30、図31)。まれなケースでは、アイソタイプ対照(自然退行)及び抗 P D L - 1群において数匹の動物で腫瘍の退行が観察されたが、抗 I C O S抗体を用いた処置では、有意により大きな有効性が生じた。試験の最後では、8匹の対照動物のうち3匹及び8匹の抗 P D L - 1処置動物のうち2匹が腫瘍を有していなかった。しかしながら、S T I M 0 0 1又はS T I M 0 0 3のいずれかで処置した全ての動物が試験の最後に腫瘍がなく(両方の群で8匹のマウスのうち8匹)、抗 I C O S抗体を使用して100%の治癒が示された。

【 0 5 4 1 】

実施例21：抗 I C O S抗体及び抗 P D - L 1抗体の組合せに関するJ 5 5 8骨髓腫同系モデルにおけるインピボでの強力な抗腫瘍効果

抗 I C O S抗体S T I M 0 0 3 m I g G 2 a及び抗 P D - L 1抗体A b W m I g G 2 aを、J 5 5 8腫瘍モデルにおいて、個別に及び組み合わせて投与した。これは骨髓腫の同系マウスモデルである。抗 I C O S抗体は、単剤療法として、又は抗 P D - L 1と組み合わせて投与した場合、腫瘍増殖を阻害することが分かった。

【 0 5 4 2 】

材料及び方法

皮下J 5 5 8形質細胞腫：骨髓腫細胞株(A T C C、T I B - 6)を使用して、B a l b / cマウスで抗腫瘍有効性試験を行った。B a l b / cマウスは、C h a r l e s R i v e r U Kから供給され、6～8週齢、18g超であり、特定の病原体のない条件下で飼育された。合計 5×10^6 の細胞(P 1 5未満の継代数)をマウスの右脇腹に皮下注射(100 μ l)した。別途記載されない限り、腫瘍細胞注射後11日目に、動物を腫瘍サイズに基づいてランダム化し、処置を開始した。J 5 5 8細胞を、T r y p L E(商標)E x p r e s s E n z y m e(T h e r m o f i s h e r)を使用してインピトロで継代し、P B S中で2回洗浄し、10%のウシ胎児血清を補充したD M E Mに再懸濁した。細胞生存率は、腫瘍細胞注入時に90%を上回ることが確認された。

【 0 5 4 3 】

腫瘍が約140 mm³の平均体積に達したときに処置を開始した。次いで、同様の平均腫瘍サイズを有する4つの群に動物を割り振った(投薬群については表E - 2 1を参照されたい)。福祉(まれ)又は腫瘍サイズを理由に試験から動物を除く必要がない限り、マウス

交差反応性である両方の抗体を、11日目(腫瘍細胞移植後)から3週間、週2回でIP投与した(図38)。対照として、同時に、一群の動物($n = 10$)に生理食塩水を投与した。併用群では、STIM003抗体及び抗PD-L1抗体の両方を、それぞれ $60 \mu\text{g}$ 及び $200 \mu\text{g}$ (0.9%の生理食塩水中)で同時にIP投与した。腫瘍増殖を37日間にわたってモニタリングし、生理食塩水で処置した動物の腫瘍と比較した。動物の体重及び腫瘍体積を腫瘍細胞注入の日から週3回測定した。腫瘍体積は、修正された楕円の方程式 $1/2(\text{長さ} \times \text{幅}^2)$ の使用によって計算した。腫瘍が平均直径 12 mm^3 に達するまで、又はまれな場合に腫瘍潰瘍の発生が観察されるまで(福祉)、マウスを研究し続けた。

【表24】

群	動物の数	11日目からの週2回の処置レジメン
1	10	生理食塩水
2	8	抗PD-L1 mIgG2a $200 \mu\text{g}$ (AbW)
3	8	抗ICOS STIM003 mIgG2a / 抗PD-L1 mIgG2a (AbW) の組み合わせ $60 \mu\text{g} / 200 \mu\text{g}$ (それぞれ)
4	8	抗ICOS STIM003 mIgG2a $60 \mu\text{g}$

表E21. J558有効性試験の処置群

【0544】

結果

J558同系腫瘍は非常に侵襲性であり、生理食塩水対照群の全ての動物($n = 10$)を、腫瘍サイズを理由に21日までに研究から除く必要があった。抗STIM003 mIgG2a及び抗PD-L1 mIgG2aの両方は、このモデルにいて単剤療法として良好な有効性を示し、それぞれ、37.5%及び75%の動物が疾患治癒した。重要なことに、2つの抗体の組合せにより、100%の動物が37日目までに形質細胞腫瘍を拒絶した。データを図38に示す。

【0545】

実施例22：抗PD-1の投与により、抗PD-L1抗体よりも有意に大きくTIL上のICOS発現が増加する

腫瘍浸潤リンパ球(TIL)のサブセットにおけるICOS発現に対する抗PD-L1又は抗PD-1抗体による処置の効果を評価するために、確立されたCT26腫瘍を宿主動物で薬力学研究を行った。以下の抗体を比較した：

抗PD-L1 AbW mIgG1 [限定されたエフェクター機能]

抗PD-L1 AbW mIgG2a [エフェクター機能あり]

抗PD-L1 10F9.G2ラットIgG2b [エフェクター機能あり]

抗PD-1抗体RMT1-14ラットIgG2a [エフェクターナル]。

【0546】

処置したマウスの腫瘍を単離し、単一細胞に解離させ、CD45、CD3、CD4、CD8、FOXP3、及びICOSについて染色した。

【0547】

材料及び方法

ラット抗PD-1 RMP1-14 IgG2a(BioXCell、カタログ番号：BE0146)、ラット抗PD-L1 10F9.G2 IgG2b(Bio-Legend、カタログ番号：124325)、並びに抗PD-L1 AbW mIgG1及びmIgG2aを、腫瘍細胞移植後13日目及び15日目に $130 \mu\text{g}$ で腹腔内投与することによって、CT26腫瘍モデルにおいて試験した。16日目に、動物を選び出し、FACS分析のためにマウス腫瘍を採取した。マウス腫瘍解離キット(Miltenyi Biotec)を

使用して腫瘍を解離させ、均質化した。得られた細胞懸濁液を70 µMのフィルターを通して清澄化し、ペレット化し、96ウェルプレート中200万細胞/ウェルでFACS緩衝液に再懸濁した。この細胞懸濁液を抗16/32 mAb(eBioscience)と共にインキュベートし、全てeBioscience Ltdから入手したCD3(17A2)、CD45(30-F11)、CD4(RM4-5)、CD8(53-6.7)、及びICOS(7E.17G9)に特異的なFACS抗体で染色した。細胞を、LiveDead Yellow固定性生存率解析用色素(Life technologies)でも染色した。Foxp3細胞内染色のために、試料を固定し、透過処理し、Foxp3に特異的な抗体(eBioscience、FJK-16s)で染色した。試料をPBS中に再懸濁し、データをAttuneフローサイトメーター(Invitrogen)で取得し、FlowJo V10ソフトウェア(TreeStar)を使用して分析した。

10

【0548】

結果

抗PD1抗体及び抗PD-L1抗体を用いた処置では、測定された時点でICOSを発現しているCD8細胞及びT Regに対するパーセンテージは僅かしか増加しなかった。しかし、抗PD1ラットIgG2aに应答して、ICOS陽性CD8細胞の表面上で、ICOS発現の明白で有意な(生理食塩水処置群と比べた)増加(dMFIの増加)が観察された。ICOS発現はまた、CD4エフェクター及びCD4 T Reg細胞で上方調節されることが示されたが、これは統計的に有意ではなかった。この抗PD1抗体により、抗PD-L1 mIgG2aではほとんど見られなかったCD8エフェクター細胞上のICOS発現の顕著な増加が誘導された。同様に、異なる形式の抗PD-L1抗体を比較すると、処置された動物の数匹において、最も低いエフェクター機能を有する抗体(mIgG1)が、エフェクターCD8及びCD4細胞上のより高いICOS発現(これをほとんど示さなかったエフェクター機能を有する抗体(mIgG2a及びrat IgG2b)と比較して)と関連したことが観察された。図39を参照されたい。

20

【0549】

エフェクターCD8/CD4 T細胞上のICOS発現の増加は、これらの細胞を抗ICOS抗体による枯渇(例えば、STIM003 mIgG2aを用いたマウスの処置)に対しより感受性にする効果を有し得る。エフェクターCD8及びCD4 T細胞においてより低いICOS誘導を呈する抗体は、抗ICOS抗体と組み合わせて使用するのが好ましくてもよい。この研究のデータにより、本明細書の他の実施例で報告する抗PDL1 mIgG2aとSTIM003 mIgG2aとを組み合わせた場合に観察される抗腫瘍有効性を反映して、抗PD-L1エフェクター陽性抗体が抗ICOSエフェクター陽性抗体との組合せに特に好適であり得ることが示される。

30

【0550】

実施例23：B細胞リンパ腫同系モデルにおけるインビボでの単回用量抗ICOS抗体単剤療法の強力な抗腫瘍有効性

この実験では、単剤療法としてのSTIM003 mIgG2aの抗腫瘍有効性を確認する。強力な抗腫瘍有効性が、STIM003 mIgG2aの短時間曝露後に実証された。

40

【0551】

材料及び方法

有効性試験は、皮下A20細胞肉腫モデル(ATCC番号CRL-TIB-208)を使用してBALB/cマウスで行った。BALB/cマウスは、Charles River UKから供給され、6~8週齢、18g超であり、特定の病原体のない条件下で飼育された。合計5×10⁵のA20腫瘍細胞(P20未満の継代数)をマウスの右脇腹に皮下注射した。以下の表に示すように、腫瘍細胞注入後8日目に処置を開始した。A20細胞を、TrypLE(商標)Express Enzyme(ThermoFisher)を使用してインビトロで継代し、PBS中で2回洗浄し、10%のウシ胎児血清を補充したRPMIに再懸濁した。細胞生存率は、腫瘍細胞注入時に85%を上回ることが確認され

50

た。STIM003 mIgG2aは、 $60\mu\text{g}$ (20g の動物では 3mg/kg に相当)の単回用量(SD)又は $60\mu\text{g}$ の複数回用量(MD、週2回3週間)のいずれかとして使用した。2つのスケジュールに应答して観察された抗腫瘍有効性を、生理食塩水で「処置」した(MD、週2回3週間)動物の有効性と比較した。抗体を0.9%の生理食塩水中 1mg/ml として腹腔内(IP)投与した。動物の体重及び腫瘍体積を腫瘍細胞注入の日から週3回測定した。腫瘍体積は、修正された楕円の方程式 $1/2(\text{長さ} \times \text{幅}^2)$ の使用によって計算した。腫瘍が平均直径 12mm に達するまで、又はまれに腫瘍潰瘍の発生が観察されるまで(福祉)、マウスを研究し続けた。

【表25】

群	動物の数	処置レジメン (IP注射)
1	10	生理食塩水 (8日目から複数回投与、週2回3週間)
2	10	STIM003 mIgG2A (8日目から複数回投与、週2回3週間)
3	10	STIM003 mIgG2A (8日目の単回投与)

表E23-1. 処置群

【0552】

結果

STIM003 mIgG2aの複数回投与及び単回投与の両方により、終点(41日目)に腫瘍増殖の徴候のない動物の数によって示されるように、強力で有意な単剤療法の抗腫瘍効果がもたらされた。SDにより、10匹の動物のうち7匹が疾患から治癒した一方、複数回用量では、A20 B細胞リンパ芽球を注射した10匹の動物のうち9匹が治癒した。生理食塩水処置群の全ての動物を、腫瘍サイズを理由に40日目までに研究から除く必要があった。図40を参照されたい。

【0553】

人道的エンドポイント生存率統計を、GraphPad Prism V7.0を使用してKaplan-Meier曲線(図41)から計算した。このアプローチを使用して、処置が改善された生存と関連しているかどうかを判定した。ハザード比(Mantel-Haenszel)値及びそれらに関連するP値(Log-Rank Mantel-Cox)を以下の表に示す。

【表26】

ハザード比 (Mantel-Haenszel)	MD 対生理食塩水	SD 対生理食塩水	MD 対 SD
比 (およびその逆数)	0.09995	0.1076	0.5314
比の95%CI	0.02604~0.3837	0.02856~0.4052	0.05522~5.115
P値	0.0008	0.001	0.5842

表E23-1. 図41のKaplan-Meier曲線に対応するハザード比 (Mantel-Haenszel) 値およびそれらの関連するP値 (Log-Rank Mantel-Cox)

【0554】

実施例24: CT-26腫瘍保有動物における抗ICOS抗体の時間及び用量依存的効果
この実施例は、CT-26腫瘍を保有するマウスにおける免疫細胞に対する抗ICOS抗体の効果を評価する薬力学研究の結果を提示する。異なる組織由来のT細胞サブタイプ

及びB細胞サブタイプを、S T I M 0 0 3 m I g G 2 aの単回投与後にF A C Sによって分析した。

【 0 5 5 5 】

方法

C T - 2 6 腫瘍保有動物に、腫瘍細胞移植後12日目に200 µg、60 µg、又は6 µgの生理食塩水又はS T I M 0 0 3のいずれかを腹腔内投与した。処置後1、2、3、4、及び8日目に、腫瘍組織、血液、腫瘍流入領域リンパ節(T D L N)、及び脾臓を採取した。マウス腫瘍解離キット(M i l t e n y i B i o t e c)を使用して腫瘍を解離させて、単一細胞懸濁液を作製した。脾臓組織を穏やかなM A C S解離を使用して解離させ、R B C溶解緩衝液を使用して赤血球を溶解させた。腫瘍流入領域リンパ節を機械的に分解して、単一細胞懸濁液を作製した。得られた細胞懸濁液を、組織に応じて70 µM又は40 µMいずれかのフィルターを通して清澄化し、次に細胞をR M P I完全培地で2回洗浄し、最後に氷冷F A C S緩衝液中に再懸濁した。プラズマ管に全血を集め、R B C溶解緩衝液を使用して赤血球を溶解させ、細胞をR M P I完全培地で2回洗浄し、最後に氷冷F A C S緩衝液中に再懸濁した。全組織からの単一細胞懸濁液をF A C S分析のために深い96ウェルプレートに分配した。細胞を生死に敏感な黄色生存性染料 L i v e D e a d F i x a b l e Y e l l o w生存率解析用色素(L i f e t e c h n o l o g i e s)で染色した。細胞懸濁液を、抗C D 1 6 / C D 3 2 m A b(e B i o s c i e n c e)と共にインキュベートし、全てe B i o s c i e n c e L t dから入手したC D 3(17 A 2)、C D 4 5(30 - F 1 1)、C D 4(RM 4 - 5)、C D 8(53 - 6 . 7)、C D 2 5(P C 6 1 . 5)、I C O S L(HK 5 . 3)、B 2 2 0(RA 3 - 6 B 2)、K i - 6 7(S o l A 1 5)、C D 1 0 7 a(e B i o 1 D 4 B)、I F N - (X M G 1 . 2)、T N F - (M P 6 - X T 2 2)、F o x p 3(F J K - 1 6 s)、及びI C O S(7 E . 1 7 G 9)に特異的なF A C S抗体で染色した。F A C Sによるサイトカイン読出しのために、腫瘍由来の単一細胞懸濁液をB r e f e l d i n - Aの存在下で4時間かけて24ウェルプレートにプレートした。細胞内染色のために、試料を固定し、透過処理し、特異的抗体で染色した。最後に、試料をP B S中に再懸濁し、データをA t t u n eフローサイトメーター(I n v i t r o g e n)で取得し、F l o w J o V 1 0ソフトウェア(T r e e s t a r)を使用して分析した。

【 0 5 5 6 】

結果を以下に提示し、考察する。

【 0 5 5 7 】

I C O S発現は、C T 2 6モデルにおいて腫瘍内T - r e g上で高い。

I C O Sを発現する腫瘍浸潤リンパ球(T I L)のパーセンテージを、脾臓、血液、及びT D L N中の免疫細胞のパーセンテージと比較すると、他の組織に比べて、C T - 2 6腫瘍の微小環境におけるより多くの免疫細胞がI C O Sを発現したことが示された。より重要なことに、全ての組織及び全ての時点におけるI C O S陽性T - r e g細胞のパーセンテージは、I C O S陽性のC D 4又はC D 8エフェクターT細胞のパーセンテージよりも高かった。重要なことに、I C O Sのd M F I(相対的発現)もまた、発現において同様の順位に従い、腫瘍内T r e gが、他のT I Lサブタイプに比べてI C O S発現について高度に陽性であった。興味深いことに、この実験の期間内にI C O S⁺ T I Lのパーセンテージに顕著な変化はなかった。脾臓及びT D L Nにおいても同様の結果が見られた。一方、血液中では、実験の経過中、I C O S発現はTエフェクター細胞上では比較的安定であるが、T - r e g上では増加する。まとめると、データにより、より多くの細胞が腫瘍微小環境においてI C O Sを発現し、これらの陽性細胞はまた、その表面により多くのI C O S分子を発現することが実証された。より重要なことに、T I LにおけるT r e gは、I C O Sについて高度に陽性である。図42を参照されたい。

【 0 5 5 8 】

S T I M 0 0 3投与に応答した腫瘍内T r e g細胞の強力な枯渇

S T I M 0 0 3 m I g G 2 a抗体に反応して、T M E中のT - r e g細胞(C D 4 + C

D 2 5 + F o x p 3)の強力で急速な枯渇があった。T r e gは他のT細胞サブセットと比較して高いI C O S発現を有するので、エフェクター機能を有する抗I C O S抗体がこれらの細胞を優先的に枯渇させ得ると予想される。低用量のS T I M 0 0 3 (2 0 gの動物についての0 . 3 m g / k gに相当する6 μ g)では、T - r e gの継続した枯渇があり、3日目までにT - r e gのほとんどがT M Eから枯渇した。興味深いことに、8日目までに、T - r e g細胞はT M Eで再増殖し、続いて生理食塩水で処置した動物において観察されるレベルよりもわずかに高いレベルに達する。低用量のT - r e g細胞の再増殖は、K i - 6 7 + C D 4 T細胞の観察された増加によって証明されるように、T M Eにおける増殖するC D 4 T細胞の増加に起因し得る。6 μ gより高い用量では、本研究で分析した最後の時点(8日目)までの完全なT R e g枯渇によって示されるように、T M EにおけるT r e g細胞の長期枯渇があった。血液中では、全ての用量でT r e g細胞が一時的に枯渇した。重要なことに、8日目までに、生理食塩水で処置した動物と比較した場合、処置した全ての動物が、血液中のT - r e g細胞と同等の(又は6 μ g用量についてはより高い)レベルを有した。データを図43に示す。とりわけ、またC T L A - 4抗体の枯渇に関して以前に公開されたデータと同様、脾臓又はT D L N組織におけるT - r e g細胞のパーセンテージに有意な変化はなく、T - r e g細胞がこれらの器官において枯渇から保護され得ることを示唆している。

【0559】

要約すると、T M EにおけるT - r e g細胞の強力な枯渇は、動物1匹あたり6 μ gという低用量でC T - 2 6モデルにおいて達成された。しかしながら、6 0 μ gの用量により、S T I M 0 0 3 m I g G 2 a注射後8日目までの長期間の枯渇がもたらされた。これは、より高い用量(2 0 0 μ g)を使用することによっては改善されなかった。

【0560】

S T I M 0 0 3 m I g G 2 aにより、C D 8 : T R e g比及びC D 4 : T R e g比が増加した

T - e f f : T - r e g比に対するS T I M 0 0 3の効果を図44に示す。

【0561】

S T I M 0 0 3 m I g G 2 aにより、C D 8 : T - r e g比及びC D 4 e f f : T - r e g比が増加した。全ての処置用量がT - e f f対T - r e g比の増加と関連していたが、中間用量6 0 μ g(2 0 gの動物についての3 m g / k gに相当する量)が、処置後8日目までの最も高い比と関連していた。

【0562】

興味深いことに、6 μ g用量では、比は4日目まで高かったが、治療後8日目には生理食塩水処置動物の比と一致した。これは、治療後8日目までにこの用量について観察されたT R e gの再増殖によって説明され得る。一方、用量6 0又は2 0 0 μ gでは、T e f f対T - r e g比は全ての時点で高いままであった。これは、これらの用量におけるT r e gの長期間の枯渇によって説明される。とりわけ、高用量(2 0 0 μ g)では、長期間のT r e g枯渇にもかかわらず、その比は8日目までに穏やかにしか改善しなかった。これは、高濃度のS T I M 0 0 3でのI C O S^{IN}Tエフェクター細胞のいくらかの枯渇によって説明され得る。

【0563】

まとめると、データにより、試験した全ての用量で、T R e g枯渇及びエフェクター : T r e g比の増加が実証された。しかしながら、6 0 μ g(約3 m g / k g)の最適用量は、T - r e gの長期間の枯渇と、抗腫瘍免疫応答を開始するのに最も好ましい免疫状況に関連するT - e f f対T - r e g比との両方を達成した。興味深いことに、類似のパターンが血液で観察され、6 0 μ gの中間用量が最も高いT - e f f対T - r e g比に関連していた。重要なことに、血液中では、より早い時点(3日目~4日目)で比の改善が観察された。

【0564】

S T I M 0 0 3に応答するエフェクター細胞の活性化

腫瘍浸潤Tエフェクター細胞上のCD107aの表面発現は、活性化され、細胞傷害活性を発揮する細胞の信頼できるマーカーとして以前に同定された[44]。本研究では、このマーカーを用いて、STIM003が、Tregを枯渇させることに加えて、TMEにおけるエフェクターT細胞の細胞傷害活性を刺激し得ることを確認した。興味深いことに、処置後8日目に、STIM003の全ての用量でCD4エフェクターT細胞コンパートメント及びCD8エフェクターT細胞コンパートメント両方においてCD107aの表面発現が増加した。さらに、CD4 T細胞及びCD8 T細胞両方の表面におけるCD107a発現のこの上方調節は、動物に60 µgを投与したときにプラトーに見え、これは200 µgの投薬で改善が見られなかったためである。

【0565】

10

TMEにおけるエフェクター細胞の活性化をさらに実証するために、CD4 TIL及びCD8 TILによるサイトカイン放出をFACSによって分析した。予期した通り、また本明細書の先の実施例で提示したインビトロのアゴニズムデータと一致して、STIM003 mIgG2aは、全ての用量で、エフェクターCD4及びCD8 T細胞による炎症誘発性サイトカインIFN- 及びTNF- 産生を促進した。炎症誘発性サイトカイン産生の誘導は、最適用量60 µgで高いようであった。実際に、60 µgのSTIM003により、CD4 T細胞によるサイトカイン産生が有意に増加した。TME中のエフェクターCD8 T細胞による炎症誘発性サイトカインIFN- 及びTNF- 産生についても同様の傾向が見られた。データを図45に示す。

【0566】

20

要約すると、STIM003は、全ての用量で、(1)表面上の脱顆粒マーカーCD107aの存在、及び(2)T細胞によるTh1サイトカイン(IFN- 及びTNF-)の産生によって示される、TMEにおけるT細胞活性化をもたらした。これにより、STIM003がTMEの免疫状況に強く影響し、Treg細胞を枯渇させ、Tエフェクター細胞の殺滅活性を刺激するという二重の役割を果たすことが示される。

【0567】

ヒト用量の推定

マウスに見られる前臨床有効性データを基にして、対応する生物学的表面積(BSA)に基づき、ヒト患者に適切な臨床用量の最初の予測を行うことができる[45]。

【0568】

30

例えば、マウスにおける最適な抗ICOS IgG用量を3 mg/kg(60 µg)とし、参照方法[45]に従うと、ヒトのための対応する用量は0.25 mg/kgである。

【0569】

Mostellerの公式を使用すると、60 kg及び1.70 mの個体については、BSAは1.68 m²である。単位mg/kgの用量に35.7(60/1.68)の因数を掛けると、15 mgの固定用量が得られる。80 kgの個体については、対応する固定用量は20 mgであろう。

【0570】

用量は、安全で有効な処置レジメンを決定するために、臨床試験においてヒト療法のために最適化され得る。

40

【0571】

実施例25：腫瘍試料からのデータのバイオインフォマティクス分析

本発明に従う癌の1つの標的群は、比較的高レベルのICOS+免疫抑制性Tregと関連する癌である。

【0572】

高含有量のTregに関連する癌種を同定するために、Cancer Genome Atlas(TCGA)公開データセットからトランスクリプトームデータを得て、ICOS及びFOX P3発現レベルについて分析した。TCGAは、多数の異なるタイプの癌種について蓄積されたゲノム及びトランスクリプトームデータを目録にした大規模研究であり、膨大なサンプルメタデータを伴って、突然変異、コピー数変異、mRNA及びmiRNA

50

A 遺伝子発現、並びに DNA メチル化を含む。

【0573】

遺伝子セット富化分析(GSEA)を以下のように実施した。TCGAコンソーシアムの一部として収集された遺伝子発現RNA配列データを、UCSC Xena Functional Genomics Browserから $\log_2(\text{normalized_count} + 1)$ としてダウンロードした。非腫瘍組織試料をデータセットから取り出し、9732個の試料に由来する20530個の遺伝子のデータを残した。指定の遺伝子セット内の遺伝子についての富化スコアを計算する[46]におけるアルゴリズム及び[47]におけるその実施を使用して、各試料について遺伝子レベルカウントを遺伝子セットスコアに転置した。目的の遺伝子セットは、ICOS及びFOX P3の両方を含むものと定義した。試料を主な疾患によって群分けし、各群のssGSEAスコアを33個の主な疾患群にわたって比較した。最も高い中央値スコアを示した疾患群は、リンパ系腫瘍びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、胸腺腫、頭頸部扁平上皮癌であることが分かったが、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫はスコアの多峰性分布を示し、スコアは、サブセットで高く、残りは群の中央値を下回った。

10

【0574】

ICOS及びFOX P3発現のssGSEAスコアの最高値から最低値の順位で、上位15種類の癌は次の通りであった。

【表27】

D L B C (n = 48)	リンパ系腫瘍びまん性大細胞型B細胞リンパ腫
T H Y M (n = 120)	胸腺腫
H N S C (n = 522)	頭頸部扁平上皮癌
T G C T (n = 156)	精巣性胚細胞腫瘍
S T A D (n = 415)	胃腺癌
S K C M (n = 473)	肌の皮膚黒色腫
C E S C (n = 305)	子宮頸部扁平上皮癌および子宮頸部腺癌
L U A D (n = 517)	肺腺癌
L A M L (n = 173)	急性骨髄性白血病
E S C A (n = 185)	食道癌
L U S C (n = 502)	肺扁平上皮癌
R E A D (n = 95)	直腸腺癌
C O A D (n = 288)	結腸腺癌
B R C A (n = 1104)	浸潤性乳癌
L I H C (n = 373)	肝臓の肝細胞癌

20

30

【0575】

ここで、nは、TCGAデータセットにおけるその癌種の患者試料の数である。本明細書に記載される抗ICOS抗体は、これら及び他の癌の治療に使用され得る。

【0576】

比較的高レベルのICOS + 免疫抑制性Tregに関連し、PD-L1をさらに発現する癌は、抗ICOS抗体及び抗PD-L1抗体の組合せによる治療に特に良好に応答し得る。この目的に適切な治療レジメン及び抗体は、前述の記載において既に詳述されている。

【0577】

以前のようにTCGAデータセットを使用して、ICOS及びFOX P3の富化スコアを、スピアマンの順位相関を使用してPD-L1の発現レベルと相関させ、主な疾患の徴

40

50

候によって群分けした。各群についてP値を計算し、0.05のp値(ボンフェローニの多重比較補正を使用)を統計学的に有意とした。ICOS/FOXP3発現とPD-L1発現との間の相関が最も高い疾患群は以下の通りであった。

【表28】

TGCT (n=156)	精巣性胚細胞腫瘍
COAD (n=288)	結腸腺癌
READ (n=95)	直腸腺癌
BLCA (n=407)	膀胱尿路上皮癌
OV (n=308)	卵巣漿液性嚢胞腺癌
BRCA (n=1104)	浸潤性乳癌
SKCM (n=473)	肌の皮膚黒色腫
CESC (n=305)	子宮頸部扁平上皮癌および子宮頸部腺癌
STAD (n=415)	胃腺癌
LUAD (n=517)	肺腺癌

10

【0578】

患者は、その癌が、ICOS+免疫抑制性Treg、及びPD-L1の発現と関連していることを判定するアッセイの後に、治療のために選択され得る。上記のように相関スコアが高い癌種については、ICOS+免疫抑制性Treg及びPD-L1の発現のいずれかが存在する(例えば、閾値を超える)と判定することで十分であり得る。この状況では、PD-L1免疫組織化学アッセイを使用してもよい。

20

【0579】

実施例26：さらなる抗ICOS抗体の評価

実施例12で同定したCL-74570及びCL-61091抗体配列を合成し、HEK細胞においてIgG1フォーマットで発現させた。

【0580】

これらの抗体の機能的特徴付けは、実施例6に記載のものと類似したHTRFアッセイを用いて行ったが、BCT上清ではなく精製したIgG1の使用にアッセイを適合させる改変を伴った。HEK細胞から発現されたヒトIgG1抗体を含有する5µLの上清をBCT上清の代わりに使用し、以前のようにHTRF緩衝液を使用して、総体積をウェル当たり最大20µlとした。陰性対照としてヒトIgG1抗体を使用した。両方の抗体は、式1を使用して計算して、ヒト及びマウスICOSに対する結合について5%を超える効果を呈したため、このアッセイにおいて陽性であることが確認された。

30

【0581】

CHO-S細胞の表面上に発現されたヒト及びマウスICOSに結合するこれらの抗体の能力を、Mirrorballアッセイを使用してさらに確認した。このアッセイでは、抗ICOS IgG1を含有する5µlの上清を、384個のミラーボールブラックプレート(Corning)の各ウェルに移した。全てのウェルに0.8mg/mlの濃度でアッセイ緩衝液(PBS+1%BSA+0.1%アジ化ナトリウム)中で希釈したヤギ抗ヒト488(Jackson ImmunoResearch)10µlを添加することにより、抗ICOS抗体の結合を検出した。

40

【0582】

陽性対照ウェルについては、アッセイ培地で2.2µg/mlに希釈した5µLの参照抗体をプレートに加えた。陰性対照ウェルについては、アッセイ培地で2.2µg/mlに希釈した5µlのハイブリッド対照IgG1をプレートに加えた。10µMのDRAQ5(Thermoscientific)を、アッセイ緩衝液に再懸濁した0.4×10⁶/mlの細胞に加え、5µlを全ウェルに加えた。プレートを4度で2時間インキュベートした。

50

【0583】

Mirrorballプレートリーダー(TTP Labtech)を使用し、500～700個の単一細胞の集団からAlexafluor 488(励起493nm、発光519nm)を測定することで、蛍光強度を測定した。アッセイシグナルを、中央(FL2)平均強度として測定した。

【0584】

参照抗体を2.2μg/mLのアッセイ濃度で使用して、全結合を定義した。ハイブリッド対照hIgG1を2.22μg/mLのアッセイ濃度で使用して、非特異的結合を定義した。両方の抗体は、1パーセントを超える効果を呈したため、このアッセイにおいて陽性であることが確認された。

10

【数3】

$$\text{効果パーセント} = \frac{(\text{試料ウェル-非特異的結合})}{(\text{全結合-非特異的結合})} \times 100$$

【0585】

CL-74570及びCL-61091の各々はまた、フローサイトメトリーによって判定して、CHO-S細胞上に発現されるヒト及びマウスICOSに対する結合を示した。FACSスクリーニングは、実施例6に記載の方法と類似した方法を用いて行ったが、BCT上清ではなく精製したIgG1の使用にアッセイを適合させる改変を伴った。両方の抗体が、hICOS、mICOS、及びWT CHO細胞に対する陰性対照の結合の幾何平均の算術平均を10倍超上回る結合を呈した。

20

【表29】

1次スクリーニング				2次スクリーニング		
HTRF (タンパク質)		ミラーボール (ICOS CHO 細胞)		FACS		
ヒト 1:100 希 釈	マウス 1:100 希 釈	ヒト 1:100 希 釈	マウス 1:100 希 釈	ヒト ICOS CHO (1:10 希 釈)	マウス ICOS CHO (1:10 希釈)	
効果パー セン ト[%]	効果パー セント [%]	効果パー セント [%]	効果パー セント [%]	結合%-APC	結合%-APC	クローン ID
94.42	60.86	107.02	127.03	122.97	96.41	CL-74570
83.43	76.65	54.14	113.10	19.08	62.94	CL-61091

30

表E26-1. CL-74570およびCL-61091の機能的特徴付け

40

【0586】

参考文献

- Hutloff A, et al. ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28. Nature. 1999 Jan 21; 397(6716): 263-6.
- Beier KC, et al. Induction, binding specificity and function of human ICOS. Eur J Immunol. 2000 Dec; 30(12): 3707-17.

50

3 Coyle AJ, et al. The CD28-related molecule ICOS is required for effective T cell-dependent immune responses. *Immunity*. 2000 Jul; 13(1): 95 - 105.

4 Dong C, et al. ICOS co-stimulatory receptor is essential for T-cell activation and function. *Nature*. 2001 Jan 4; 409(6816): 97 - 101.

5 Mak TW, et al. Costimulation through the inducible costimulator ligand is essential for both T helper and B cell functions in T cell-dependent B cell responses. *Nat Immunol*. 2003 Aug; 4(8): 765 - 72.

10

6 Swallow MM, Wallin JJ, Sha WC. B7h, a novel costimulatory homolog of B7.1 and B7.2, is induced by TNFalpha. *Immunity*. 1999 Oct; 11(4): 423 - 32.

7 Wang S, et al. Costimulation of T cells by B7-H2, a B7-like molecule that binds ICOS. *Blood*. 2000 Oct 15; 96(8): 2808 - 13.

20

8 Conrad C, Gilliet M. Plasmacytoid dendritic cells and regulatory T cells in the tumor microenvironment: A dangerous liaison. *Oncoimmunology*. 2013 May 1; 2(5): e2388.

9 Simpson et al., Fc-dependent depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells co-defines the efficacy of anti-CTLA-4 therapy against melanoma. *J. Exp. Med.* 210(9): 1695 - 1710 2013

10 Fu T, He Q, Sharma P. The ICOS/ICOSL pathway is required for optimal antitumor responses mediated by anti-CTLA-4 therapy. *Cancer Res*. 2011 Aug 15; 71(16): 5445 - 54.

30

11 Fan X, Quezada SA, Sepulveda MA, Sharma P, Allison JP. Engagement of the ICOS pathway markedly enhances efficacy of CTLA-4 blockade in cancer immunotherapy. *J Exp Med*. 2014 Apr 7; 211(4): 715 - 25.

12 Carthon, B.C., et al. Preoperative CTLA-4 blockade: Tolerability and immune monitoring in the setting of a presurgical clinical trial. *Clin. Cancer Res*. 16: 2861 - 2871.

40

13 Liakou CI, et al. CTLA-4 blockade increases IFNgamma-producing CD4+ICOShi cells to shift the ratio of effector to regulatory T cells in cancer patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Sep 30; 105(39): 14987 - 92.

14 Vonderheide, R.H., et al. 2010. Tremelimumab in combination with exemestane in patients with advanced breast cancer and treatm

50

ent-associated modulation of inducible co stimulator expression on patient T cells. Clin. Cancer Res. 16:3485-3494.

15 Preston CC, et al., The ratios of CD8+ T cells to CD4+CD25+ FOXP3+ and FOXP3- T cells correlate with poor clinical outcome in human serous ovarian cancer. PLoS One Nov 14; 8(11):e80063.

16 Hodi FS, et al., Immunologic and clinical effects of antibody blockade of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 in previously vaccinated cancer patients. PNAS 2008 Feb 26; 105(8):3005-10

10

17 Chattopadhyay et al., Structural Basis of Inducible Costimulatory Ligand Function: Determination of the Cell Surface Oligomeric State and Functional Mapping of the Receptor Binding Site of the Protein, J. Immunol. 177(6):3920-3929 2006

18 Lefranc MP, IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains, Dev Comp Immunol. 27(1):55-77 2003

20

19 Gul et al., "Antibody-Dependent Phagocytosis of Tumor Cells by Macrophages: A Potent Effector Mechanism of Monoclonal Antibody Therapy of Cancer", Cancer Res., 75(23), December 1, 2015

20 Lazar et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., Mar 14; 103(11):4005-10

30

21 Dall et al., Immunol 2002; 169:5171-5180

22 Natsume et al., 2009, Drug Des. Devel. Ther., 3:7-16 or by Zhou Q., Biotechnol. Bioeng., 2008, Feb 15, 99(3):652-65)

23 Shields et al., 2001, J. Biol. Chem., Mar 2; 276(9):6591-604)

24 Idusogie et al., J. Immunol., 2001, 166:2571-2575

25 Natsume et al., 2008, Cancer Res., 68: 3863-3872

40

26 Alexandrov LB, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. Nature. 2013 Aug 22; 500(7463):415-21

27 Martin-Orozco et al., Melanoma Cells Express ICOS Ligand to Promote the Activation and Expansion of T-Regulatory Cells, Cancer Research 70(23):9581-9590 2010

28 Houot et al., Therapeutic effect of CD137 immunomodulation in lymphoma and its enhancement by Treg depletion, Blood 114:3431

50

- 3 4 3 8 2 0 0 9

29 Baruch K. et al. PD-1 immune checkpoint blockade reduces pathology and improves memory in mouse models of Alzheimer's disease. *Nat Med* 22(2):137-137 2016

30 Curran et al., PD01 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumours, *PNAS* 107(9):4275-4280 2010

10

31 Sim et al., IL-2 therapy promotes suppressive ICOS+ Treg expansion in melanoma patients, *J Clin Invest* 2014

32 Sim et al., IL-2 variant circumvents ICOS+ regulatory T cell expansion and promotes NK cell activation, *Cancer Immunol Res* 2016

33 Kroemer et al. Immunologic Cell Death in Cancer Therapy, *Ann Rev Immunol* 31:51-72 2013

34 Galluzzi, Zitvogel & Kroemer *Canc. Imm. Res.* 4:895-902 2016

20

35 Bos et al., Transient regulatory T cell ablation deters oncogene-driven breast cancer and enhances radiotherapy, *J Exp Med* 210(11):2434-2446 2013

36 Sato et al., Spatially selective depletion of tumor-associated regulatory T cells with near-infrared photoimmunotherapy, *Science Translational Medicine* 8(352) 2016

37 Crotty S. T follicular helper cell differentiation, function, and roles in disease. *Immunity* 2014 Oct 16; 41(4):529-42.

30

38 Shields et al. (2002) *JBC* 277:26733

39 Lee et al, *Nature Biotechnology*, 32:6-363, 2014

40 Yusa K, Zhou L, Li MA, Bradley A, Craig NL. A hyperactive piggyBac transposase for mammalian applications, *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011 Jan 25

41 Kilpatrick et al., Rapid development of affinity matured monoclonal antibodies using RIMMS; Hybridoma; 16(4):381-9 Aug 1997

40

42 Simpson, T. R. et al., Fc-dependent depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells co-defines the efficacy of anti-CTLA-4 therapy against melanoma. *The Journal of experimental medicine*, 210(9):1695-710 2013

43 Selby, M. J. et al., Anti-CTLA-4 antibodies of IgG2a isotype enhance antitumor activity through reduction of intratumoral reg

50

ulatory T cells. Cancer immunology research, 1(1): 32 - 42 2013.

44 Rubio V., et al. Ex vivo identification, isolation and analysis of tumor-cytolytic T cells. Nat Med. 2003 Nov; 9(11): 1377 - 82.

45 Nair & Jacob., A simple practice guide for dose conversion between animals and human. J Basic Clin Pharma 2016; 7: 27 - 31

46 D.A. Barbie, et al., "Systematic RNA interference reveals that oncogenic KRAS-driven cancers require TBK1.", Nature, vol. 462, no. 7269, pp. 108 - 12, 2009

47 S. Hanzelmann, R. Castelo, and J. Guinney, "GSEA: gene set variation analysis for microarray and RNA-Seq data," BMC Bioinformatics, vol. 14, no. 1, p. 7, 2013

【0587】

配列

抗体STIM001

VHドメインヌクレオチド配列：配列番号367

CAGGTTTCAGGTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGC
CTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTA
CACCTTTTCCACCTTTGGTATCACCTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAATGGATGGGATGGATCAGCGCTT
ACAATGGTGACACAACTATGCACAGAATCTCCAGGGCAG
AGTCATCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTTT
ATTACTGTGCGAGGAGCAGTGGCCACTACTACTACGG
TATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCAACCGTCTCC
TCA

VHドメインアミノ酸配列：配列番号366

QVQVVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSTFGITWVRQA
PGQGLEWMGWISAYNGDTNYAQNLQGRVIMTTDTSTSTAY
MELRSLRSDDTAVYYCARSSGHYYYYYGMDVWGQGTTVTVSS

VH CDR1アミノ酸配列：GYTFSTFG 配列番号363

VH CDR2アミノ酸配列：ISAYNGDT 配列番号364

VH CDR3アミノ酸配列：ARSSGHYYYYYGMDV 配列番号365

VLドメインヌクレオチド配列：配列番号374

GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCA
CCCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCA
GAGCCTCCTGCATAGTAATGAATACAACCTATTTGGATTGG
TACCTGCAGAAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCT
TTTTTGGGTCTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTT
CAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC
ACCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGAATTTATTACTGCA
TGCAATCTCTACAACTCCGCTCACTTTTCGGCGGAGGGAC
CAAGGTGGAGATCAAA

VLドメインアミノ酸配列：配列番号373

DIVMTQSPVLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSHSNEYNYLDW
YLQKPGQSPQLLIFLGSNRASGVPRFSGSGSGTDFTLKI

TRVEAEDVGIIYYCMQSLQTPLTFGGGTKVEIK
VL CDR1アミノ酸配列：QSL LHSNEYNY 配列番号370
VL CDR2アミノ酸配列：LGS 配列番号371
VL CDR3アミノ酸配列：MQSLQTPLT 配列番号372
【0588】

抗体STIM002

VHドメインヌクレオチド配列：配列番号381

CAGGTTTCAACTGGTGCA GTCTCTGGAGGTGAGGTGAAGAAGC
CTGGGGGCCCTCAGTGAAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTTGTTA
CACCTTTTACCAGCTATGGTTTTCAGCTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGACTAGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTT
ACAATGGTAACACA AACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCAG
AGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGGAGCTTGAGATCTGACGACACGGGCCGTGT
ATTACTGTGCGAGATCTACGTATTTCTATGGTTTCGGGGAC
CCTCTACGGTATGGACGTCTGGGGGCCAAGGGACCCACGGTC
ACCGTCTCCTCA

10

VHドメインアミノ酸配列：配列番号380

QVQLVQSGGEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGFSWVRQA
PGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAY
MELRSLRSDDTAVYYCARSTYFYGSGTLYGMDVWGQGTTV
TVSS

20

VH CDR1アミノ酸配列：GYTFTSYG 配列番号377

VH CDR2アミノ酸配列：ISAYNGNT 配列番号378

VH CDR3アミノ酸配列：ARSTYFYGSGTLYGMDV 配列番号379

VLドメインヌクレオチド配列：388

GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCA
CCCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCA
GAGCCTCCTGCATAGTGATGGATACA AACTGTTTGGATTGG
TACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCT
ATTTGGGTTCCTACTCGGGCCTCCGGGTTCCTGACAGGTT
CAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC
AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCA
TGCAAGCTCTACA AACTCCGTGCA GTTTTGGCCAGGGGAC
CAAGCTGGAGATCAAA

30

修正STIM002 VLドメインヌクレオチド配列：配列番号519

GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCA
CCCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCA
GAGCCTCCTGCATAGTGATGGATACA AACTATTTGGATTGG
TACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCT
ATTTGGGTTCCTACTCGGGCCTCCGGGTTCCTGACAGGTT
CAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC
AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCA
TGCAAGCTCTACA AACTCCGTGCA GTTTTGGCCAGGGGAC
CAAGCTGGAGATCAAA

40

VLドメインアミノ酸配列：配列番号387

DIVMTQSP LSLPVT PGEPASISCRSSQSL LHS DGYNYLDW
YLQKPGQSPQL LIYLGSTRASGF PDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVG VYYCMQALQTPLSFGQG TKLEIK

VL CDR1アミノ酸配列：QSL LHS DGYNY 配列番号384

50

V L CDR2 アミノ酸配列：L G S 配列番号 385

V L CDR3 アミノ酸配列：M Q A L Q T P L S 配列番号 386

【0589】

抗体 S T I M 002 - B

V H ドメインヌクレオチド配列：配列番号 395

C A G G T T C A A C T G G T G C A G T C T G G A G G T G A G G T G A A G A A G C
C T G G G G C C T C A G T G A A G G T C T C C T G C A A G G C T T C T G G T T A
C A C C T T T A C C A G C T A T G G T T T C A G C T G G G T G C G A C A G G C C
C C T G G A C A A G G A C T A G A G T G G A T G G G A T G G A T C A G C G C T T
A C A A T G G T A A C A C A A A C T A T G C A C A G A A G C T C C A G G G C A G
A G T C A C C A T G A C C A C A G A C A C A T C C A C G A G C A C A G C C T A C
A T G G A G C T G A G G A G C T T G A G A T C T G A C G A C A C G G C C G T G T
A T T A C T G T G C G A G A T C T A C G T A T T T C T A T G G T T C G G G G A C
C C T C T A C G G T A T G G A C G T C T G G G G C C A A G G G A C C A C G G T C
A C C G T C T C C T C A

10

V H ドメインアミノ酸配列：配列番号 394

Q V Q L V Q S G G E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T S Y G F S W V R Q A
P G Q G L E W M G W I S A Y N G N T N Y A Q K L Q G R V T M T T D T S T S T A Y
M E L R S L R S D D T A V Y Y C A R S T Y F Y G S G T L Y G M D V W G Q G T T V
T V S S

20

V H CDR1 アミノ酸配列：G Y T F T S Y G 配列番号 391

V H CDR2 アミノ酸配列：I S A Y N G N T 配列番号 392

V H CDR3 アミノ酸配列：A R S T Y F Y G S G T L Y G M D V 配列番号 393

V L ドメインヌクレオチド配列：配列番号 402

G A T A T T G T G A T G A C T C A G T C T C C A C T C T C C C T G C C C G T C A
C C C C T G G A G A G C C G G C C T C C A T C T C C T G C A G G T C T A G T C A
G A G C C T C C T G C A T A G T G A T G G A T A C A A C T G T T T G G A T T G G
T A C C T G C A G A A G C C A G G G C A G T C T C C A C A G C T C C T G A T C T
A T T T G G G T T C T A C T C G G G C C T C C G G G T T C C C T G A C A G G T T
C A G T G G C A G T G G A T C A G G C A C A G A T T T T A C A C T G A A A A T C
A G C A G A G T G G A G G C T G A G G A T G T T G G G G T T T A T T A C T G C A
T G C A A G C T C T A C A A A C T C C G T G C A G T T T T G G C C A G G G G A C
C A A G C T G G A G A T C A A A

30

V L ドメインアミノ酸配列：配列番号 401

D I V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S D G Y N C L D W
Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S T R A S G F P D R F S G S G S G T D F T L K I
S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P C S F G Q G T K L E I K

V L CDR1 アミノ酸配列：Q S L L H S D G Y N C 配列番号 398

V L CDR2 アミノ酸配列：L G S 配列番号 399

V L CDR3 アミノ酸配列：M Q A L Q T P C S 配列番号 400

40

【0590】

抗体 S T I M 003

V H ドメインヌクレオチド配列：配列番号 409

G A G G T G C A G C T G G T G G A G T C T G G G G G A G G T G T G G T A C G G C
C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G T A G C C T C T G G A G T
C A C C T T T G A T G A T T A T G G C A T G A G C T G G G T C C G C C A A G C T
C C A G G G A A G G G G C T G G A R T G G G T C T C T G G T A T T A A T T G G A
A T G G T G G C G A C A C A G A T T A T T C A G A C T C T G T G A A G G G C C G
A T T C A C C A T C T C C A G A G A C A A C G C C A A G A A C T C C C T G T A T
C T A C A A A T G A A T A G T C T G A G A G C C G A G G A C A C G G C C T T G T

50

ATTACTGTGCGAGGGATTCTATGGTTCGGGGAGTTATTA
TCACGTTCCCTTTTGA CTACTGGGGCCAGGGAATCCTGGTC
ACCGTCTCCTCA

修正STIM003 VHドメインヌクレオチド配列：配列番号521

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGTGTGGTACGGC
CTGGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGTAGCCTCTGGAGT
CACCTTTGATGATTATGGCATGAGCTGGGTCCGCCAAGCT
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCTGGTATTAATTGGA
ATGGTGGCGACACAGATTATTCAGACTCTGTGAAGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAT
CTACAAATGAATAGTCTGAGAGCCGAGGACACGGGCCTTGT
ATTACTGTGCGAGGGATTCTATGGTTCGGGGAGTTATTA
TCACGTTCCCTTTTGA CTACTGGGGCCAGGGAATCCTGGTC
ACCGTCTCCTCA

10

VHドメインアミノ酸配列：配列番号408

EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCVASGVTFDDYGMSSWVRQA
PGKGLEWVSGINWNGGDTDYSDSVKGRFTISRDNANKNSLY
LQMNSLRAEDTALYYCARDIFYGSGSYHVPFDYWGQGILV
TVSS

VH CDR1アミノ酸配列：GVTFDDYG 配列番号405

20

VH CDR2アミノ酸配列：INWNGGDT 配列番号406

VH CDR3アミノ酸配列：ARDFYGSGSYHVPFDY 配列番号407

VLドメインヌクレオチド配列：配列番号416

GAAATTGTGTTGACGCGAGTCTCCAGGGACCCCTGTCTTTGT
CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCA
GAGTGTTAGCAGAAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAA
CGTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCA
GCAGGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCGATGG
GTCTGGGACAGACTTCACTCTCTCCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCACCAGTATGATA
TGTCACCATTTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATAT
CAAA

30

VLドメインアミノ酸配列：配列番号415

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSRSYLAWYQQK
RGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGDGS GTDFTLISRLE
PEDFAVYYCHQYDMSPFTFGPGTKVDIK

VL CDR1アミノ酸配列：QSVSRSY 配列番号412

VL CDR2アミノ酸配列：GAS 配列番号413

VL CDR3アミノ酸配列：HQYDMSPFT 配列番号414

【0591】

40

抗体STIM004

VHドメインヌクレオチド配列：

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGTGTGGTACGGC
CTGGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACT
CACCTTTGATGATTATGGCATGAGCTGGGTCCGCCAAGTT
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCTGGTATTAATTGGA
ATGGTGTATAACACAGATTATGCAGACTCTGTGAAGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAT
CTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCCGAGGACACGGGCCTTGT
ATTACTGTGCGAGGGATTACTATGGTTCGGGGAGTTATTA

50

T A A C G T T C C T T T T G A C T A C T G G G G C C A G G G A A C C C T G G T C
A C C G T C T C C T C A 配列番号 4 2 3

V H ドメインアミノ酸配列：

E V Q L V E S G G G V V R P G G S L R L S C A A S G L T F D D Y G M S W V R Q V
P G K G L E W V S G I N W N G D N T D Y A D S V K G R F T I S R D N A K N S L Y
L Q M N S L R A E D T A L Y Y C A R D Y Y G S G S Y Y N V P F D Y W G Q G T L V
T V S S 配列番号 4 2 2

V H CDR1アミノ酸配列：G L T F D D Y G 配列番号 4 1 9

V H CDR2アミノ酸配列：I N W N G D N T 配列番号 4 2 0

V H CDR3アミノ酸配列：A R D Y Y G S G S Y Y N V P F D Y 配列番号 4 2 1

10

V L ドメインヌクレオチド配列：配列番号 4 3 1

G A A A T T G T G T T G A C G C A G T C T C C A G G C A C C C T G T C T T T G T
C T C C A G G G G A A A G A G C C A C C C T C T C C T G C A G G G C C A G T C A
G A G T G T T A G C A G C A G C T A C T T A G C C T G G T A C C A G C A G A A A
C C T G G C C A G G C T C C C A G G C T C C T C A T A T A T G G T G C A T C C A
G C A G G G C C A C T G G C A T C C C A G A C A G G T T C A G T G G C A G T G G
G T C T G G G A C A G A C T T C A C T C T C A C C A T C A G A A G A C T G G A G
C C T G A A G A T T T T G C A G T G T A T T A C T G T C A G C A G T A T G G T A
G T T C A C C A T T C A C T T C G G C C C T G G G A C C A A A G T G G A T A T C
A A A

20

上記のV L ドメインヌクレオチド配列によってコードされたV L ドメインアミノ酸配列。

修正V L ドメインヌクレオチド配列：配列番号 4 3 0

G A A A T T G T G T T G A C G C A G T C T C C A G G C A C C C T G T C T T T G T
C T C C A G G G G A A A G A G C C A C C C T C T C C T G C A G G G C C A G T C A
G A G T G T T A G C A G C A G C T A C T T A G C C T G G T A C C A G C A G A A A
C C T G G C C A G G C T C C C A G G C T C C T C A T A T A T G G T G C A T C C A
G C A G G G C C A C T G G C A T C C C A G A C A G G T T C A G T G G C A G T G G
G T C T G G G A C A G A C T T C A C T C T C A C C A T C A G A A G A C T G G A G
C C T G A A G A T T T T G C A G T G T A T T A C T G T C A G C A G T A T G G T A
G T T C A C C A T T C T T C G G C C C T G G G A C C A A A G T G G A T A T C A A A

30

修正V L ドメインアミノ酸配列：配列番号 4 3 2

E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S S Y L A W Y Q Q K
P G Q A P R L L I Y G A S S R A T G I P D R F S G S G S G T D F T L T I R R L E
P E D F A V Y Y C Q Q Y G S S P F F G P G T K V D I K

V L CDR1アミノ酸配列：Q S V S S S Y 配列番号 4 2 6

V L CDR2アミノ酸配列：G A S 配列番号 4 2 7

V L CDR3アミノ酸配列：Q Q Y G S S P F 配列番号 4 2 8

【0592】

抗体S T I M 0 0 5

V H ドメインヌクレオチド配列：配列番号 4 3 9

40

C A G G T T C A G T T G G T G C A G T C T G G A G C T G A G G T G A A G A A G C
C T G G G G C C T C A G T G A A G G T C T C C T G C A A G G C T T C T G G T T A
C A C C T T T A A T A G T T A T G G T A T C A T C T G G G T G C G A C A G G C C
C C T G G A C A A G G G C T T G A G T G G A T G G G A T G G A T C A G C G T T C
A C A A T G G T A A C A C A A A C T G T G C A C A G A A G C T C C A G G G T A G
A G T C A C C A T G A C C A C A G A C A C A T C C A C G A G C A C A G C C T A C
A T G G A G C T G A G G A G C C T G A G A A C T G A C G A C A C G G C C G T G T
A T T A C T G T G C G A G A G C G G G T T A C G A T A T T T T G A C T G A T T T
T T C C G A T G C T T T T G A T A T C T G G G G C C A C G G G A C A A T G G T C
A C C G T C T C T T C A

50

VHドメインアミノ酸配列：配列番号438

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNSYGIIWVRQA
PGQGLEWMGWISVHNGNTNCAQKLQGRVTMTTDTSTSTAY
MELRSLRTDDTAVYYCARAGYDILTDFSDAFDIWGHGTMV
TVSS

VH CDR1アミノ酸配列：GYTFNSYG 配列番号435

VH CDR2アミノ酸配列：ISVHNGNT 配列番号436

VH CDR3アミノ酸配列：ARAGYDILTDFSDAFDI 配列番号437

VLドメインヌクレオチド配列：配列番号446

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACAGAGTCAACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA
GAACATTATAAATACTTTTTTAATAATTGGTATCAGCAGAAAGAA
GGGAAAGGCCCTAAGCTCCTGATCTATGCAGCATCCAGTT
TGCAAAGAGGGATACCATCAACGTTTCAGTGGCAGTGGATC
TGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGTCAACTTACATCTGTCAACAGAGCTACGGTA
TCCCGTGGGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA

10

VLドメインアミノ酸配列：配列番号445

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQNIINNF LNWYQQKE
GKGP KLLIYAASSLQRGIPSTFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYICQQSYGIPWVGQGTKVEIK

20

VL CDR1アミノ酸配列：QNIINNF 配列番号442

VL CDR2アミノ酸配列：AAS 配列番号443

VL CDR3アミノ酸配列：QQSYGIPW 配列番号444

【0593】

抗体STIM006

VHドメインヌクレオチド配列：配列番号453

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTTGGTCAAGC
CTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT
CACCTTCAGTGACTACTTTCATGAGCTGGATCCGCCAGGCG
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTTTCATACATTAGTTCTA
GTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAGGGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGTACTCACTGTAT
CTGCAAATGAACAGCCTGAGATCCGAGGACACGGCCCGTGT
ATTACTGTGCGAGAGATCACTACGATGGTTTCGGGGGATTTA
TCCCTCTCTACTACTATTACGGTTTGGACGTCTGGGGGCCAG
GGGACCACGGTCAACCGTCTCCTCA

30

VHドメインアミノ酸配列：配列番号454

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYFMSWIRQA
PGKGLEWISYISSSGSTIYYADSVRGRFTISRDNAYSLY
LQMNSLRSEDTAVYYCARDHYDGSGLIYPLYYYYGLDVWGQ
GTTVTVSS

40

VH CDR1アミノ酸配列：GFTFSDYF 配列番号449

VH CDR2アミノ酸配列：ISSSGSTI 配列番号450

VH CDR3アミノ酸配列：ARDHYDGSGLIYPLYYYYGLDV 配列番号451

VLドメインヌクレオチド配列：配列番号460

ATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTACCCGTCACCC
CTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAG
CCTCCTGCATAGTAATGGATACAACCTATTTGGATTATTAC

50

CTGCAGAAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTT
TGGGTTCCTTATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAG
TGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGC
AGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGC
AAGCTCTACAAACTCCTCGCAGTTTTTGGCCAGGGGACCCAC
GCTGGAGATCAAA

V L ドメインアミノ酸配列：配列番号 4 5 9

IVMTQSPLSLPVTGPASPISCRSSQSLLHSNGYNYLDYY
LQKPGQSPQLLIYLGSYRASGVPRFSGSGSGTDFTLKIS
RVEAEDVGVYYCMQALQTPRSFGQGTTLEIK

10

V L CDR1 アミノ酸配列：QSLLHSNGYNY 配列番号 4 5 6

V L CDR2 アミノ酸配列：LGS 配列番号 4 5 7

V L CDR3 アミノ酸配列：MQALQTPRS 配列番号 4 5 8

【0594】

抗体STIM007

VHドメインヌクレオチド配列：配列番号 4 6 7

CAGATCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCCTACGCTGGTGAAAC
CCACACAGACCCTCACGCTGACCTGCACCTTCTCTGGGT
CTCACTCAGCACTACTGGAGTGGGTGTGGGCTGGATCCGT
CAGCCCCCAGGAAAGGCCCTGGAGTGGCTTGCAGTCATTT
ATTGGGATGATGATAAGCGCTACAGCCCATCTCTGAAGAG
CAGACTCACCATCACCAAGGACACCTCCAAAAACAGGTG
GTCCTTACAATGACCAACATGGACCCCTGTGGACACAGCCA
CATATTTCTGTACACACGGATATGGTTTCGGCGAGTTATTA
CCACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCCACGGTC
ACCGTCTCCTCA

20

VHドメインアミノ酸配列：配列番号 4 6 6

QITLKESGPTLVKPTQTLLTCTFSGFSLSSTTG VGVGWIR
QPPGKALEWLAVIYWDDDKRYSPSLKSRLTITKDTSKNQV
VLTMTNMDPVDTATYFCTHGYGSASYYHYGMDVWQGTTV
TVSS

30

VH CDR1 アミノ酸配列：GFSLSSTTG V G 配列番号 4 6 3

VH CDR2 アミノ酸配列：IYWDDDK 配列番号 4 6 4

VH CDR3 アミノ酸配列：THGYGSASYYHYGMDV 配列番号 4 6 5

V L ドメインヌクレオチド配列：配列番号 4 7 4

GAAATTGTATTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGT
CTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCA
GAGTGTTACCAACTACTTAGCCTGGCACCAACAGAAACCT
GGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACA
GGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGT
TGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCT
GAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCACCGTAGCAACT
GGCCTCTCACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAA
AC

40

V L ドメインアミノ酸配列：配列番号 4 7 3

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVTNYLAWHQK P
GQAPRLLIYDASNRA TGI PARFSGSGSGTDFTLTISSLEP
EDFAVYYCQHRSNWPLTFGGG TKVEIK

V L CDR1 アミノ酸配列：QSVTNY 配列番号 4 7 0

V L CDR2 アミノ酸配列：DAS 配列番号 4 7 1

50

V L CDR3 アミノ酸配列：Q H R S N W P L T 配列番号 4 7 2

【 0 5 9 5 】

抗体 S T I M 0 0 8

V H ドメインヌクレオチド配列：配列番号 4 8 1

C A G A T C A C C T T G A A G G A G T C T G G T C C T A C G C T G G T G A A A C
C C A C A C A G A C C C T C A C G C T G A C C T G C A C C T T C T C T G G G T T
C T C A C T C A G C A C T A G T G G A G T G G G T G T G G G C T G G A T C C G T
C A G C C C C C A G G A A A G G C C C T G G A G T G G C T T G C A G T C A T T T
A T T G G G A T G A T G A T A A G C G C T A C A G C C C A T C T C T G A A G A G
C A G G C T C A C C A T C A C C A A G G A C A C C T C C A A A A A C C A G G T G
G T C C T T A C A A T G A C C A A C A T G G A C C C T G T G G A C A C A G C C A
C A T A T T T C T G T A C A C A C G G A T A T G G T T C G G C G A G T T A T T A
C C A C T A C G G T A T G G A C G T C T G G G G C C A A G G G A C C A C G G T C
A C C G T C T C C T C A

10

V H ドメインアミノ酸配列：配列番号 4 8 0

Q I T L K E S G P T L V K P T Q T L T L T C T F S G F S L S T S G V G V G W I R
Q P P G K A L E W L A V I Y W D D D K R Y S P S L K S R L T I T K D T S K N Q V
V L T M T N M D P V D T A T Y F C T H G Y G S A S Y Y H Y G M D V W G Q G T T V
T V S S

V H CDR1 アミノ酸配列：G F S L S T S G V G 配列番号 4 7 7

20

V H CDR2 アミノ酸配列：I Y W D D D K 配列番号 4 7 8

V H CDR3 アミノ酸配列：T H G Y G S A S Y Y H Y G M D V 配列番号 4 7 9

V L ドメインヌクレオチド配列：配列番号 4 8 8

G A A A T T G T G T T G A C A C A G T C T C C A G C C A C C C T G T C T T T G T
C T C C A G G G G A A A G A G C C A C C C T C T C C T G C A G G G C C A G T C A
G A G T G T T A C C A A C T A C T T A G C C T G G C A C C A A C A G A A A C C T
G G C C A G G C T C C C A G G C T C C T C A T C T A T G A T G C A T C C A A C A
G G G C C A C T G G C A T C C C A G C C A G G T T C A G T G G C A G T G G G T C
T G G G A C A G A C T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T A G A G C C T
G A A G A T T T T G C A G T T T A T T A C T G T C A G C A G C G T A G C A A C T
G G C C T C T C A C T T T C G G C G G A G G G A C C A A G G T G G A G A T C A A A

30

V L ドメインアミノ酸配列：配列番号 4 8 9

E I V L T Q S P A T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V T N Y L A W H Q Q K P
G Q A P R L L I Y D A S N R A T G I P A R F S G S G S G T D F T L T I S S L E P
E D F A V Y Y C Q Q R S N W P L T F G G G T K V E I K

V L CDR1 アミノ酸配列：Q S V T N Y 配列番号 4 8 4

V L CDR2 アミノ酸配列：D A S 配列番号 4 8 5

V L CDR3 アミノ酸配列：Q Q R S N W P L T 配列番号 4 8 6

【 0 5 9 6 】

抗体 S T I M 0 0 9

40

V H ドメインヌクレオチド配列：配列番号 4 9 5

C A G G T G C A G C T G G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T C A A G C
C T G G A G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C C T C T G G A T T
C A C C T T C A G T G A C T A C T A C A T G A G C T G G A T C C G C C A G G C T
C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T T T C A T A C A T T A G T A G T A
G T G G T A G T A C C A T A T A C T A C G C A G A C T C T G T G A A G G G C C G
A T T C A C C A T C T C C A G G G A C A A C G C C A A G A A C T C A C T G T A T
C T G C A A A T T A A C A G C C T G A G A G C C G A G G A C A C G G C C G T G T
A T T A C T G T G C G A G A G A T T T T T A C G A T A T T T T G A C T G A T A G
T C C G T A C T T C T A C T A C G G T G T G G A C G T C T G G G G C C A A G G G

50

A C C A C G G T C A C C G T C T C C T C A

VH ドメインアミノ酸配列：配列番号 494

Q V Q L V E S G G G L V K P G G S L R L S C A A S G F T F S D Y Y M S W I R Q A
P G K G L E W V S Y I S S S G S T I Y Y A D S V K G R F T I S R D N A K N S L Y
L Q I N S L R A E D T A V Y Y C A R D F Y D I L T D S P Y F Y Y G V D V W G Q G
T T V T V S S

VH CDR1 アミノ酸配列：G F T F S D Y Y 配列番号 491

VH CDR2 アミノ酸配列：I S S S G S T I 配列番号 492

VH CDR3 アミノ酸配列：A R D F Y D I L T D S P Y F Y Y G V D V 配列番号 493

VL ドメインヌクレオチド配列：配列番号 502

G A T A T T G T G A T G A C T C A G T C T C C A C T C T C C C T G C C C G T C A
C C C C T G G A G A G C C G G C C T C C A T C T C C T G C A G G T C T A G T C A
G A G C C T C C T G C A T A G T A A T G G A T A C A A C T A T T T G G A T T G G
T A C C T G C A G A A G C C A G G G C A G T C T C C A C A G C T C C T G A T C T
A T T T G G G T T C T A A T C G G G C C T C C G G G G T C C C T G A C A G G T T
C A G T G G C A G T G G A T C A G G C A C A G A T T T T A C A C T G A A A A T C
A G C A G A G T G G A G G C T G A G G A T G T T G G G G T T T A T T A C T G C A
T G C A A G C T C T A C A A A C T C C T C G G A C G T T C G G C C A A G G G A C
C A A G G T G G A A A T C A A A

VL ドメインアミノ酸配列：配列番号 501

D I V M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W
Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P R T F G Q G T K V E I K

VL CDR1 アミノ酸配列：Q S L L H S N G Y N Y 配列番号 498

VL CDR2 アミノ酸配列：L G S 配列番号 499

VL CDR3 アミノ酸配列：M Q A L Q T P R T 配列番号 500

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 1】

表 S 1. 配列番号 1 ~ 3 4 2

配列番号	名称	説明	配列
1	ヒト PD-L1	NCBI 番号: NP_054862.1 (ECD が太字で強調され、細胞質ドメインに下線が引かれている)	MRIFAVFIEMTYWHLNNAFTVTVPKDLVVEYGSNMTIECKFPVEKQL DLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEEEDLKVQESSYRQARLLKQQLSLGN AALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYKNINQRILVV DPVTSEHELTCCQAGYPKAEVIWTSDDHQVLSGKTTTNSKREEKLEN VTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPLEPLAHPNERTH LVILGAILLCGLGVALTFIFRLRKGRMDVKKCGIQDTSKKQSDTHLE ET
2	カニクイザル PD-L1	NCBI 番号: XP_014973154.1 (ECD が太字で強調されている)	MGWSCIIILFLVATATGVHSMFTVTVPKDLVVEYGSNMTIECKFPVEK QLDLTSLIVYWEMEDKNIIQFVHGEEEDLKVQHSNYRQRAQLLKQQLSL GNAALRITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYKNINQRIL VVDVPTSEHELTCCQAGYPKAEVIWTSDDHQVLSGKTTTNSKREEKL LNVSTLRINTTANEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPLEPLALPPNER T
3	ヒト PD-L1 His	C 末端 His タグを有する PD-L1 ECD	MRIFAVFIEMTYWHLNNAFTVTVPKDLVVEYGSNMTIECKFPVEKQL DLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEEEDLKVQHSNYRQARLLKQQLSLGN AALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYKNINQRILVV DPVTSEHELTCCQAGYPKAEVIWTSDDHQVLSGKTTTNSKREEKLEN VTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPLEPLAHPNERTH HHHHH
4	ヒト PD-L1 Fc	C 末端 Fc 融合 (太字) を有するヒト PD-L1 ECD	MRIFAVFIEMTYWHLNNAFTVTVPKDLVVEYGSNMTIECKFPVEKQL DLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEEEDLKVQHSNYRQARLLKQQLSLGN AALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYKNINQRILVV DPVTSEHELTCCQAGYPKAEVIWTSDDHQVLSGKTTTNSKREEKLEN VTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPLEPLAHPNERTH EGREPKSCDKTHSTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TVTVVVDVSHEDPEVRFNMYVDGVEVHNATKPREEQYNSTTRVVSVLTV LHQDWLNGKEYCKKVSNNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELFTKNQVSLTCLVKGFIYPSDIAVEWESENQOPENNYKTTTPFVLDSDGSF FLYKSLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTKQSLSLSPGK
5	カニクイザル PD-L1 FLAG	N 末端 FLAG タグを有するカニクイザル PD-L1 ECD	MGWSCIIILFLVATATGVHSMFTVTVPKDLVVEYGSNMTIECKFPVEK QLDLTSLIVYWEMEDKNIIQFVHGEEEDLKVQHSNYRQRAQLLKQQLSL GNAALRITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYKNINQRIL VVDVPTSEHELTCCQAGYPKAEVIWTSDDHQVLSGKTTTNSKREEKL LNVSTLRINTTANEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPLEPLALPPNER TDYKDDDDK

10

20

30

40

【表 3 0 - 2】

配列 番号	名称	説明	配列
6	ヒトPD -1Fc	ヒトFc融合としてcDNAに由来するヒトPD-1全長配列	MGWSCIIILFLVATATGVHSLDSEDFWNEPTFSFALLVVTLEGDNATFT CSFSNTSESEFVLNWYRMSFSNQTDKLAAPEDRSQFGQDCRFRTQLP NGRDFHMSVVRARRNDSTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRA EVPTAHPSFSPPRAGQ <u>KLENLYFQGIQGRMDEPKSCDKTHTCTPCFPAP</u> <u>ELLGGPSVFLPPPKPDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD</u> <u>GVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL</u> <u>PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD</u> <u>IATVEWESNGQPENNYKTTTPFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS</u> <u>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSP</u>
7	84G0 9-CD RH1 (IMGT)	IMGTを使用した84G09のCDRH1のアミノ酸配列	GFTFDDYA
8	84G0 9-CD RH2 (IMGT)	IMGTを使用した84G09のCDRH2のアミノ酸配列	ISWKSNI
9	84G0 9-CD RH3 (IMGT)	IMGTを使用した84G09のCDRH3のアミノ酸配列	ARDITGSGSYGWFD
10	84G0 9-CD RH1 (Kab at)	Kabatを使用した84G09のCDRH1のアミノ酸配列	DYAMH
11	84G0 9-CD RH2 (Kab at)	Kabatを使用した84G09のCDRH2のアミノ酸配列	GISWKSNIIGYADSVKG

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 3】

配列 番号	名称	説明	配列
12	84G09-CDRH3 (Kabata)	Kabataを使用した84G09のCDRH3のアミノ酸配列	DITGSGSYGWFDP
13	84G09-重鎖可変領域	84G09のV _H のアミノ酸配列 (生殖細胞系からの変異は太字で示される)	EVQLVESGGGLVQPGASLRLSCAASGPTFDDYAMHWVRQTPGKGLEWV SGISWKS N IIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYIQMNSIARAFITATLYYC ARDITGSGSYGWFD P WGQCTLVTVSS
14	84G09-重鎖可変領域	84G09のV _H の核酸配列	CAAGAAAAAGCTTGCCGCCACCATGGAGTTTG GGCTGAGCTGGATTTTCCTTTTGGCTATTTTAA AAGGTGTCCAGTGTGAAGTACAATTGGTGGA GTCCGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGG TCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT CACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCC GACAAACTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGT CTCAGGTATAAGTTGGAAGAGTAATATCATA GGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACAC CATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGT ATCTGCAAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGA CACGGCCTTGTATTATTGTGCAAGAGATATAA CGGGTTCGGGGAGTTATGGCTGGTTCGACCCC TGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTC AGCCAAAACGACACCCCCATCTGTCTATCCAC TGGCCCCTGAATCTGCTAAAACTCAGCCTCCG
15	84G09-完全重鎖配列	84G09重鎖のアミノ酸配列 (生殖細胞系からの変異は太字で示される)	EVQLVESGGGLVQPGASLRLSCAASGPTFDDYAMHWVRQTPGKGLEWV SGISWKS N IIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYIQMNSIARAFITATLYYC ARDITGSGSYGWFD P WGQCTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPPFVIVSWNSGAITSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVT VPSSSLGKTITCNVDHKEPSNTKVDKRVESKYGPFCPCAPPEFSGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVQLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKCPREPVYITLPPSQFEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPFENNYKTPPVLDSDGSFFFLYSRLTVCKSRWQEGNVFSCSVME ALHNHYTQKSLSLSLCK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 4】

16	8 4 G 0 9 - 完全 重鎖配列	8 4 G 0 9 重鎖の 核酸配列	GAAGTGCAGCTGGTGGGAATCTGGCGGCGGAC TGGTGCAGCCTGGCAGATCCCTGAGACTGTCT TGTGCCGCCTCCGGCTTCACCTTCGACGACTA CGCTATGCACTGGGTGCGACAGACCCCTGGC AAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTCCTG GAAGTCCAACATCATCGGCTACGCCGACTCCG TGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGGGACAA CGCCAAGAACTCCCTGTACCTGCAGATGAAC AGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCCTGTACT ACTGCGCCAGAGACATCACCGGCTCCGGCTCC TACGGATGGTTCGATCCTTGGGGCCAGGGCAC CCTCGTGACCGTGTCTCTGCCAGCACCAAGG GCCCCCTGTGTTCCTCTGGCCCCCTTCCAGC AAGTCCACCTCTGGCGGAACAGCCGCTCTGG GCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCT GTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCTCTGAC CAGCGGAGTGCACACCTTCCCTGCTGTGCTGC AGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTC GTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCACCCA GACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCT CCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACC CAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCC CTTGTCTCTGCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCT TCCGTGTTCTGTTCCTCCCAAGCCCAAGGA CACCTGATGATCTCCCGGACCCCGAAGTGA CCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGAC CCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACG GCGTGGAAGTGACAACGCCAAGACCAAGCC TAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGG GTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA TTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAG GTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGA AAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCC CGGGAACCCAGGTGTACACACTGCCCCCTA GCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTC CCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCT
----	---------------------------	-----------------------	---

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 5】

配列 番号	名称	説明	配列
			CCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG CCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACCACCCCC CCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCCT GTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGG TGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGT GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACC CAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAAG
17	8 4 G 0 9 - C D R L 1 (I M G T)	I M G Tを使用し た 8 4 G 0 9 の C D R L 1 のアミノ 酸配列	QSISSY
18	8 4 G 0 9 - C D R L 2 (I M G T)	I M G Tを使用し た 8 4 G 0 9 の C D R L 2 のアミノ 酸配列	VAS
19	8 4 G 0 9 - C D R L 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 8 4 G 0 9 の C D R L 3 のアミノ 酸配列	QSYSNPIT
20	8 4 G 0 9 - C D R L 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 8 4 G 0 9 の C D R L 1 のアミ ノ酸配列	RASQSISSYLN
21	8 4 G 0 9 - C D R L 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 8 4 G 0 9 の C D R L 2 のアミ ノ酸配列	VASSLQS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 6】

配列 番号	名称	説明	配列
22	8 4 G 0 9 - C D R L 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 8 4 G 0 9 の C D R L 3 のアミ ノ酸配列	QQSYSNPIT
23	8 4 G 0 9 - 軽鎖 可変領域	8 4 G 0 9 の V _L のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKPLIYVASSLQSGVPSSFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSNPITFGQG TRLEIK
24	8 4 G 0 9 - 軽鎖 可変領域	8 4 G 0 9 の V _L の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCT GTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTAT TTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAG CCCCTAAGCCCCTGATCTATGTTGCATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGTTTCAGTGG CAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACT TACTACTGTCAACAGAGTTACAGTAATCCGAT CACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATC AAA
25	8 4 G 0 9 - 完全 軽鎖配列	8 4 G 0 9 軽鎖の アミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKPLIYVASSLQSGVPSSFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSNPITFGQG TRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 7】

配列 番号	名称	説明	配列
26	8 4 G 0 9 - 完全 軽鎖配列	8 4 G 0 9 軽鎖の 核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCT GTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTAT TTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAG CCCCTAAGCCCCTGATCTATGTTGCATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGTTTCAGTGG CAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACT TACTACTGTCAACAGAGTTACAGTAATCCGAT CACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATC AAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCAT CTTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCG GCACCGCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAAC TTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGA AGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTC CCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAG GACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGAC CCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAG GTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCC TGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGG GGCGAGTGT
27	1 D 0 5 - CDR H 1 (I MG T)	I MG Tを使用し た 1 D 0 5 の C D R H 1 のアミノ酸 配列	GFTFDDYA
28	1 D 0 5 - CDR H 2 (I MG T)	I MG Tを使用し た 1 D 0 5 の C D R H 2 のアミノ酸 配列	ISWIRTGI
29	1 D 0 5 - CDR H 3 (I MG T)	I MG Tを使用し た 1 D 0 5 の C D R H 3 のアミノ酸 配列	AKDMKSGTYGGWFDT

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 8】

配列 番号	名称	説明	配列
30	1 D 0 5 － C D R H 1 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 1 D 0 5 の C D R H 1 の アミノ 酸配列	DYAMH
31	1 D 0 5 － C D R H 2 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 1 D 0 5 の C D R H 2 の アミノ 酸配列	GISWIRTGIGYADSVKG
32	1 D 0 5 － C D R H 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 1 D 0 5 の C D R H 3 の アミノ 酸配列	DMKGSPTYGGWFDT
33	1 D 0 5 － 重鎖可 変領域	1 D 0 5 の V _H の アミノ酸配列 (生 殖細胞系からの変 異は太字で示され る)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ VP GKGLEWV SGISW IRT GIGYADSVKGRFTIFRDNAKNSLYLQMNSLRAEETALYYC AKDMKGSPTYGGW FD TWGQGTLVTVSS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 9】

配列 番号	名称	説明	配列
34	1 D 0 5 一重鎖可 変領域	1 D 0 5 の V ₁₁ の 核酸配列	AAGCTTGCCGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAG CTGGATTTTCCTTTTGGCTATTTTAAAAGGTGT CCAGTGTGAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGG GGAGGCTTGGTGCAGCCTGGCAGGTCCCTGA GACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTT GATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGT TCCAGGGAAGGGCCTGGAATGGGTCTCAGGC ATTAGTTGGATTTCGTACTGGCATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATTTTCA GAGACAACGCCAAGAATTCCCTGTATCTGCA AATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCC TTGTATTACTGTGCAAAAGATATGAAGGGTTC GGGGACTTATGGGGGGTGGTTCGACACCTGG GGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGC CAAAACAACAGCCCCATCGGTCTATCCACTGG CCCCTGC
35	1 D 0 5 一完全重 鎖配列	1 D 0 5 重鎖のア ミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYA MHWVRQVPGKLEWVSGISWIRTGIGYADSVK GRFTIFRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCA KDMKGSPTYGGWFDTWGQGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTKITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 1 0】

36	1 D 0 5 一完全重 鎖配列	1 D 0 5 重鎖の核 酸配列	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGAC TGGTGCAGCCTGGCAGATCCCTGAGACTGTCT TGTGCCGCCTCCGGCTTCACCTTCGACGACTA CGCTATGCACTGGGTGCGACAGGTGCCAGGC AAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTCTTG GATCCGGACCGGCATCGGCTACGCCGACTCTG TGAAGGGCCGGTTCACCATCTTCCGGGACAAC GCCAAGAAGTCCCTGTACCTGCAGATGAACA GCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCCTGTACTA CTGCGCCAAGGACATGAAGGGCTCCGGCACC TACGGCGGATGGTTCGATACTTGGGGCCAGG GCACCCTCGTGACCGTGTCTCTGCCAGCACC AAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCTCTGGCCCCCTC CAGCAAGTCCACCTCTGGCGGAACAGCCGCT CTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGA GCCTGTGACCGTGTCTTGGAAGTCTGGCGCTC TGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTGCTGTG CTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCTC CGTCGTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCA CCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAA GCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTG GAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCT GTCCCCCTTGTCTGCCCCCTGAACTGCTGGGC GGACCTTCCGTGTTCTGTTCACCCCAAGCC CAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCG AAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCAC GAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACG TGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGAC CAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACC TACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA CCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAG TGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCC CATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGC CAGCCCCGGGAACCCAGGTGTACACACTGC CCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCA GGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCT
----	------------------------	---------------------	---

10

20

30

40

【表 3 0 - 1 1】

配列 番号	名称	説明	配列
			ACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCC AACGGCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACCA CCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTC TTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTC CCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCT CCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTA CACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCA AG
37	1 D 0 5 - C D R L 1 (I M G T)	I M G Tを使用し た 1 D 0 5 の C D R L 1 のアミノ酸 配列	QSISSY
38	1 D 0 5 - C D R L 2 (I M G T)	I M G Tを使用し た 1 D 0 5 の C D R L 2 のアミノ酸 配列	VAS
39	1 D 0 5 - C D R L 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 1 D 0 5 の C D R L 3 のアミノ酸 配列	QQSYSTPIT
40	1 D 0 5 - C D R L 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 1 D 0 5 の C D R L 1 のアミノ 酸配列	RASQSISSYLN
41	1 D 0 5 - C D R L 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 1 D 0 5 の C D R L 2 のアミノ 酸配列	VASSLQS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 1 2】

配列 番号	名称	説明	配列
42	1 D 0 5 － C D R L 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 1 D 0 5 の C D R L 3 のアミノ 酸配列	QQSYSTPIT
43	1 D 0 5 －軽鎖可 変領域	1 D 0 5 の V _L の アミノ酸配列（生 殖細胞系からの変 異は太字で示され る）	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLI YVASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISQLPEDFATYYCQOSYSTPFI TFGQGTAL ^{IK}
44	1 D 0 5 －軽鎖可 変領域	1 D 0 5 の V _L の 核酸配列	AAAGCTTGCCGCCACCATGAGGCTCCCTGCTC AGCTTCTGGGGCTCCTGCTACTCTGGCTCCGA GGTGCCAGATGTGACATCCAGATGACCCAGT CTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGAC AGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGA GCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAG AAACCAGGGAAAGCCCCCTAAACTCCTGATCT ATGTTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCA TCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACTATCAGCAGTCTGCAACCT GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAG TTACAGTACCCCGATCACCTTCGGCCAAGGGA CACGTCTGGAGATCAAACGTACGGATGCTGC ACCAACT
45	1 D 0 5 －完全軽 鎖配列	1 D 0 5 軽鎖のア ミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLN WYQKPGKAPKLLIYVASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQOSYSTPITFGQGT RLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 1 3】

配列 番号	名称	説明	配列
46	1 D 0 5 ー完全軽 鎖配列	1 D 0 5 軽鎖の核 酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCAGCCT GTCTGCTTCCGTGGGCGACAGAGTGACCATCA CCTGTCGGGCCTCCCAGTCCATCTCCTCCTAC CTGAAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGG CCCCAAGCTGCTGATCTACGTGGCCAGCTCT CTGCAGTCCGGCGTGCCCTCTAGATTCTCCGG CTCTGGCTCTGGCACCGACTTTACCTGACCA TCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACC TACTACTGCCAGCAGTCCCTACTCCACCCCTAT CACCTTCGGCCAGGGCACCCGGCTGGAAATC AAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTAT CTTCCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCG GCACCGCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAAC TTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGA AGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTC CCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAG GACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGAC CCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAG GTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCC TGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGG GGCGAGTGT
47	変異 1 D 0 5ーH C変異体 1	I g G 1 欠損 (L A G A) 定常領域 で強調された生殖 細胞系への、フレ ームワーク領域に おけるVからAの 復帰変異を有する 1 D 0 5 重鎖のア ミノ酸配列	EVOLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASQFTFDDYAMHWVROA APGK GLEWV SGISWIRTGIGYADSVKGRFTIFRDNAKNSLYLQMNSIRAEDETALYYC AKDMKGSSTYGGWFDTWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSE TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGT TKTY TGNVDKPKSNTKVDKRVESKYGPCCPCCPAP ELACA . PSVLEFPPEKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQENWYVDGVEVH NAKTKPREEOFNSTYRVVSVLTVLRQDWINGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKCFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 1 4】

配列 番号	名称	説明	配列
48	変異 1 D 0 5 - H C 変異体 2	1 g G 1 欠損 (L A G A) 定常領域 で強調された生殖 細胞系への、フレ ームワーク領域に おける F から S の 復帰変異を有する 1 D 0 5 重鎖のア ミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQVPKGLEWV SGISWIRTGIGYADSVKGRFTI SR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC AKDMKSGSTYGGWFDTWGQGTILVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGT KTY TCNVDHKPSN KVDKRVESKYGPPCP PCP AP ELAGA PSVFLFPPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDV VSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPS Q EQEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYK ITPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSAWQEGNVFSCSVMH EALENEY TQKSL SLSLGK
49	変異 1 D 0 5 - H C 変異体 3	強調された生殖細 胞系への、定常領 域における E L L G から P V A の復 帰変異を有する 1 D 0 5 重鎖のアミ ノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQVPKGLEWV SGISWIRTGIGYADSVKGRFTIFRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC AKDMKSGSTYGGWFD W QGTILVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGT KTY TCNVDHKPSN KVDKRVESKYGPPCP PCP AP PVAG PSVFLFPPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDV VSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS Q EQEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYK ITPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSAWQEGNVFSC SVMH EALHN HYTQKSLSLSLGK
50	変異 1 D 0 5 - L C 変異体 1	強調された生殖細 胞系への、CDR L 2 における V か ら A の復帰変異を 有する 1 D 0 5 カ ップ軽鎖のアミノ 酸配列	DIQMTQSPFSLASAVGDRVTITCRASQSTSSYLNWYQQKPGKAPKLLI Y A ASSLQSGVPSRFSGGSGSGTDFTLT IT SSLQPED AT YYCQQSYSTPI TFGGQTRLEIKRTVAAPSVF IF PPPSDEQLKSGTASVVCLLNNYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TY SLSS TL ILSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSS PT TKSPNRGEC
51	変異 1 D 0 5 - L C 変異体 2	強調された生殖細 胞系への、フレー ムワークにおける L から F の復帰変 異を有する 1 D 0 5 カップ軽鎖のア ミノ酸配列	DIQMTQSPFSLASAVGDRVTITCRASQSTSSYLNWYQQKPGKAPKLL FI YVASSLQSGVPSRFSGGSGSGTDFTLT IT SSLQPED AT YYCQQSYSTPI TFGGQTRLEIKRTVAAPSVF IF PPPSDEQLKSGTASVVCLLNNYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TY SLSS TL ILSKADYKHKVY ACEVTHQGLSS PT TKSPNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 1 5】

配列 番号	名称	説明	配列
52	4 1 1 B 0 8 - C DRH1 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 B 0 8 の C D R H 1 のアミ ノ酸配列	GFTFSSYW
53	4 1 1 B 0 8 - C DRH2 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 B 0 8 の C D R H 2 のアミ ノ酸配列	IKEDGSEK
54	4 1 1 B 0 8 - C DRH3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 B 0 8 の C D R H 3 のアミ ノ酸配列	ARNRLYSDFLDN
55	4 1 1 B 0 8 - C DRH1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 B 0 8 の C D R H 1 のア ミノ酸配列	SYWMS
56	4 1 1 B 0 8 - C DRH2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 B 0 8 の C D R H 2 のア ミノ酸配列	NIKEDGSEKYYVDSVKG
57	4 1 1 B 0 8 - C DRH3 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 B 0 8 の C D R H 3 のア ミノ酸配列	NRLYSDFLDN

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 1 6】

配列 番号	名称	説明	配列
58	4 1 1 B 0 8－重 鎖可変領 域	4 1 1 B 0 8 の V H のアミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYW MSWVRQAPGKGLEWVANIKEDGSEKYYVDSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTSVYYCA RNRLYSDFLDNWGQGTLVTVSS
59	4 1 1 B 0 8－重 鎖可変領 域	4 1 1 B 0 8 の V H の核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCCTCTGGATTACGTTTAGTAGCTA TTGGATGAGTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGG AAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATCAAAG AAGATGGAAGTGAGAAATACTATGTGACTC TGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGAC AACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGTCTGTGTA TTACTGTGCGAGAAATCGACTCTACAGTGACT TCCTTGACAACCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTC ACCGTCTCCTCAG
60	4 1 1 B 0 8－完 全重鎖配 列	4 1 1 B 0 8 重鎖 のアミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYW MSWVRQAPGKGLEWVANIKEDGSEKYYVDSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTSVYYCA RNRLYSDFLDNWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 1 7】

61	4 1 1 B 0 8 - 完 全重鎖配 列	4 1 1 B 0 8 重鎖 の核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCCTCTGGATTACGTTTAGTAGCTA TTGGATGAGTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGG AAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATCAAAG AAGATGGAAGTGAGAAATACTATGTCTGACTC TGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGAC AACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGTCTGTGTA TTACTGTGCGAGAAATCGACTCTACAGTGACT TCCTTGACAACCTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTC ACCGTCTCCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCTC TGTGTTCCCTCTGGCCCCCTCCAGCAAGTCCA CCTCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTC GTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGT GTCCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACCAGCGGAG TGCACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGTCCTCC GGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTCTGACCGT GCCTTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACC AAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCT GCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCT GCCCCTGAAGTGTGGGCGGACCTTCCGTGTT CCTGTTCCCCCAAAGGCCAAGGACACCCTGA TGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTG GTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAG TGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGA AGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAG GAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTC CGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGA ACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAA CAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACC ATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAAC CCCAGGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGA CGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC TGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATAT
----	---------------------------------	-------------------------	--

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 1 8】

配列 番号	名称	説明	配列
			CGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCT GAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCTGTGC TGGACTCCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGC AAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGC AGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGT CCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAAG
62	4 1 1 B 0 8 - C D R L 1 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 B 0 8 の C D R L 1 のアミ ノ酸配列	QGVSSW
63	4 1 1 B 0 8 - C D R L 2 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 B 0 8 の C D R L 2 のアミ ノ酸配列	GAS
64	4 1 1 B 0 8 - C D R L 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 B 0 8 の C D R L 3 のアミ ノ酸配列	QQANSIPFT
65	4 1 1 B 0 8 - C D R L 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 B 0 8 の C D R L 1 のア ミノ酸配列	RASQGVSSWLA
66	4 1 1 B 0 8 - C D R L 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 B 0 8 の C D R L 2 のア ミノ酸配列	GASSLQS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 1 9】

配列 番号	名称	説明	配列
67	4 1 1 B 0 8 - C D R L 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 4 1 1 B 0 8 の C D R L 3 のア ミノ酸配列	QQANSIPFT
68	4 1 1 B 0 8 - 軽 鎖可変領 域	4 1 1 B 0 8 の V L のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGVSSWL AWYQQKSGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSG SGTEFILTISSLQPEDFATYYCQQANSIPFTFGPG TKVDIK
69	4 1 1 B 0 8 - 軽 鎖可変領 域	4 1 1 B 0 8 の V L の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGT GTCTGCATCTGTCTGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGTCGGGCGAGTCAGGGTGTTAGCAGCTGG TTAGCCTGGTATCAGCAGAAATCAGGGAAAG CCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGATTCAGCG GCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCATTCTCACC ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTATCCCAT TCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAAC
70	4 1 1 B 0 8 - 完 全軽鎖配 列	4 1 1 B 0 8 軽鎖 のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGVSSWL AWYQQKSGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSG SGTEFILTISSLQPEDFATYYCQQANSIPFTFGPG TKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 2 0】

配列 番号	名称	説明	配列
71	4 1 1 B 0 8 - 完 全軽鎖配 列	4 1 1 B 0 8 軽鎖 の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGT GTCTGCATCTGTCTGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGTCGGGCGAGTCAGGGTGTTAGCAGCTGG TTAGCCTGGTATCAGCAGAAATCAGGGAAAG CCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGATTCAGCG GCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCATTCTCACC ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTATCCCAT TCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCAT CTTCCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCG GCACCGCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAAC TTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGA AGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTC CCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAG GACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGAC CCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAG GTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCC TGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGG GGCGAGTGT
72	4 1 1 C 0 4 - C DRH1 (IMG T)	IMG Tを使用し た4 1 1 C 0 4 の CDRH1 のアミ ノ酸配列	GFTFSSYW
73	4 1 1 C 0 4 - C DRH2 (IMG T)	IMG Tを使用し た4 1 1 C 0 4 の CDRH2 のアミ ノ酸配列	IKEDGSEK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 2 1】

配列 番号	名称	説明	配列
74	4 1 1 C 0 4 - C DRH3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 C 0 4 の C D R H 3 のアミ ノ酸配列	ARVRLYSDFLDY
75	4 1 1 C 0 4 - C DRH1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 C 0 4 の C D R H 1 のア ミノ酸配列	SYWMS
76	4 1 1 C 0 4 - C DRH2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 C 0 4 の C D R H 2 のア ミノ酸配列	NIKEDGSEKYYVDSLKG
77	4 1 1 C 0 4 - C DRH3 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 C 0 4 の C D R H 3 のア ミノ酸配列	VRLYSDFLDY
78	4 1 1 C 0 4 - 重 鎖可変領 域	4 1 1 C 0 4 の V _H のアミノ酸配列	EVQLVDSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYW MSWVRQAPGKGLEWVANIKEDGSEKYYVDSL KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTSVYYCA RVRLYSDFLDYWGQGTLVTVSS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 2 2】

配列 番号	名称	説明	配列
79	4 1 1 C 0 4－重 鎖可変領 域	4 1 1 C 0 4 の V H の核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGGACTCTGGGGGAGGCT TGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCCTCTGGATTACGTTTAGTAGCTA TTGGATGAGTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGA AAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATAAAAG AAGATGGAAGTGAGAAATACTATGTAGACTC TTTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACA ACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAA CAGCCTGAGAGCCGAGGACACGTCTGTGTATT ACTGTGCGAGAGTTCGACTCTACAGTGACTTC CTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC CGTCTCCTCAG
80	4 1 1 C 0 4－完 全重鎖配 列	4 1 1 C 0 4 重鎖 のアミノ酸配列	EVQLVDSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYW MSWVRQAPGKGLEWVANIKEDGSEKYYVDSL KGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTSVYYCA RVRLYSDFLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 2 3】

81	4 1 1 C 0 4 - 完 全重鎖配 列	4 1 1 C 0 4 重鎖 の核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGGACTCTGGGGGAGGCT TGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCCTCTGGATTACGTTTAGTAGCTA TTGGATGAGTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGA AAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATAAAAG AAGATGGAAGTGAGAAATACTATGTAGACTC TTTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACA ACGCCAAGAAGTCACTGTATCTGCAAATGAA CAGCCTGAGAGCCGAGGACACGTCTGTGTATT ACTGTGCGAGAGTTCGACTCTACAGTGACTTC CTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCAC CGTCTCCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCCTCTG TGTTCCTCTGGCCCCCTCCAGCAAGTCCACC TCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTCGT GAAGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGTGT CCTGGAAGTCTGGCGCTCTGACCAGCGGAGTG CACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGTCCTCCGG CCTGTACTCCCTGTCTCCGTCGTGACCGTGC CTTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCA AGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTG CGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCTG CCCCTGAACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTC CTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGAT GATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGG TGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGT GAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGA GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGG AACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCC GTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAA CGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAAC AAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCA TCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACC CCAGGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGAC GAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCT GTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATC
----	---------------------------------	-------------------------	---

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 2 4】

配列 番号	名称	説明	配列
			GCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCTG AGAACAACACTACAAGACCACCCCCCTGTGCT GGACTCCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCA AGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCA GGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACG AGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC CCTGTCCCTGAGCCCCGGCAAG
82	4 1 1 C 0 4 - C D R L 1 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 C 0 4 の C D R L 1 のアミ ノ酸配列	QGVSSW
83	4 1 1 C 0 4 - C D R L 2 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 C 0 4 の C D R L 2 のアミ ノ酸配列	GAS
84	4 1 1 C 0 4 - C D R L 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 C 0 4 の C D R L 3 のアミ ノ酸配列	QQANSIPFT
85	4 1 1 C 0 4 - C D R L 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 C 0 4 の C D R L 1 のア ミノ酸配列	RASQGVSSWLA
86	4 1 1 C 0 4 - C D R L 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 C 0 4 の C D R L 2 のア ミノ酸配列	GASSLQS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 2 5】

配列 番号	名称	説明	配列
87	4 1 1 C 0 4 - C D R L 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 4 1 1 C 0 4 の C D R L 3 のア ミノ酸配列	QQANSIPFT
88	4 1 1 C 0 4 - 軽 鎖可変領 域	4 1 1 C 0 4 の V L のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGVSSWL AWYQQKSGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSG SGTEFILSISSLQPEDFATYYCQQANSIPFTFGPGT KVDIK
89	4 1 1 C 0 4 - 軽 鎖可変領 域	4 1 1 C 0 4 の V L の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGT GTCTGCATCTGTCTCGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGTCGGGCGAGTCAGGGTGTTAGCAGTTGG TTAGCCTGGTATCAGCAGAAATCAGGGAAAG CCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGCCTCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGATTTCAGCG GCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCATTCTCAGC ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGAAC TTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTATCCCAT TCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAAC
90	4 1 1 C 0 4 - 完 全軽鎖配 列	4 1 1 C 0 4 軽鎖 のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGVSSWL AWYQQKSGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSG SGTEFILSISSLQPEDFATYYCQQANSIPFTFGPGT KVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 2 6】

配列 番号	名称	説明	配列
91	4 1 1 C 0 4 - 完 全軽鎖配 列	4 1 1 C 0 4 軽鎖 の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGT GTCTGCATCTGTCTCGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGTCGGGCGAGTCAGGGTGTTAGCAGTTGG TTAGCCTGGTATCAGCAGAAATCAGGGAAAG CCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGCCTCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGATTCAGCG GCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCATTCTCAGC ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTATCCCAT TCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCAT CTTCCCACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCG GCACCGCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAAC TTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGA AGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTC CCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAG GACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGAC CCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAG GTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCC TGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGG GGCGAGTGT
92	4 1 1 D 0 7 - C DRH1 (IMG T)	IMG Tを使用し た4 1 1 D 0 7 の CDRH1 のアミ ノ酸配列	GGSISSDW
93	4 1 1 D 0 7 - C DRH2 (IMG T)	IMG Tを使用し た4 1 1 D 0 7 の CDRH2 のアミ ノ酸配列	IFHSGRT

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 2 7】

配列 番号	名称	説明	配列
94	4 1 1 D 0 7 - C D R H 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 D 0 7 の C D R H 3 のアミ ノ酸配列	ARDGSGSY
95	4 1 1 D 0 7 - C D R H 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 D 0 7 の C D R H 1 のア ミノ酸配列	SSDWWN
96	4 1 1 D 0 7 - C D R H 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 D 0 7 の C D R H 2 のア ミノ酸配列	EIFHSGRTNYPNPSLKS
97	4 1 1 D 0 7 - C D R H 3 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 D 0 7 の C D R H 3 のア ミノ酸配列	DGSGSY
98	4 1 1 D 0 7 - 重 鎖可変領 域	4 1 1 D 0 7 の V ₁₁ のアミノ酸配列	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTLCIVSGGSISSDW WNWVRQPPGKGLEWIGEIFHSGRTNYPNPSLKSR VTISIDKSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARDGS GSYWGQGTLVTVSS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 2 8】

配列 番号	名称	説明	配列
99	4 1 1 D 0 7 - 重 鎖可変領 域	4 1 1 D 0 7 の V II の核酸配列	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGAC TGGTGAAGCCTTCGGGGACCCTGTCCCTCACC TGCATTGTCTCTGGTGGCTCCATCATCAGTAG TGACTGGTGGAATTGGGTCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAGAAATCTT TCATAGTGGGAGGACCAACTACAACCCGTCC CTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAATAGACA AGTCCAAGAATCAGTTCTCCCTGAGGCTGAGC TCTGTGACCGCCGCGGACACGGCCGTGTATTA CTGTGCGAGAGATGGTTCGGGGAGTTACTGG GGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAG
100	4 1 1 D 0 7 - 完 全重鎖配 列	4 1 1 D 0 7 重鎖 のアミノ酸配列	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTLCIVSGGSIHSSDW WNWVRQPPGKGLEWIGEIFHSGRTNYPNPSLKSR VTISIDKSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARDGS GSYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NPKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 2 9】

101	4 1 1 D 0 7 - 完 全重鎖配 列	4 1 1 D 0 7 重鎖 の核酸配列	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGAC TGGTGAAGCCTTCGGGGACCCTGTCCCTCACC TGCATTGTCTCTGGTGGCTCCATCATCAGTAG TGACTGGTGGGAATTGGGTCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAGAAATCTT TCATAGTGGGAGGACCAACTACAACCCGTCC CTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAATAGACA AGTCCAAGAATCAGTTCTCCCTGAGGCTGAGC TCTGTGACCGCCGCGGACACGGCCGTGTATTA CTGTGCGAGAGATGGTTCGGGGAGTTACTGG GGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGC CAGCACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCTCTGG CCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGAACA GCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTT CCCCGAGCCTGTGACCGTGTCTTGGAACTCTG GCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCT GCTGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCT GTCCTCCGTCGTGACCGTGCCTTCCAGCTCTC TGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAA CCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAG AAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCC ACACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCCCTGAACTG CTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTCCCCC AAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGG ACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGT GTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATT GGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGC CAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGT GCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAG TACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGC CTGCCCCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCC AAGGGCCAGCCCCGGAACCCAGGTGTACA CACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAA GAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAG GCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGG
-----	---------------------------------	-------------------------	--

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 3 0】

配列 番号	名称	説明	配列
			GAGTCCAACGGCCAGCCTGAGAACAACACTACA AGACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGC TCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC TCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAA CCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCC CCGGCAAG
102	4 1 1 D 0 7 - C D R L 1 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 D 0 7 の C D R L 1 のアミ ノ酸配列	QSVLYSSNNKNY
103	4 1 1 D 0 7 - C D R L 2 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 D 0 7 の C D R L 2 のアミ ノ酸配列	WAS
104	4 1 1 D 0 7 - C D R L 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 1 D 0 7 の C D R L 3 のアミ ノ酸配列	QQYYSNRS
105	4 1 1 D 0 7 - C D R L 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 D 0 7 の C D R L 1 のア ミノ酸配列	KSSQSVLYSSNNKNYLA
106	4 1 1 D 0 7 - C D R L 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 1 D 0 7 の C D R L 2 のア ミノ酸配列	WASTRES

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 3 1】

配列 番号	名称	説明	配列
107	4 1 1 D 0 7 - C D R L 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 4 1 1 D 0 7 の C D R L 3 のア ミノ酸配列	QQYYSNRS
108	4 1 1 D 0 7 - 軽 鎖可変領 域	4 1 1 D 0 7 の V L のアミノ酸配列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN NKNYLAWYQQKSGQPPKLLIYWASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISLQTEDVAVYYCQQYY NRSFGQGTKLEIK
109	4 1 1 D 0 7 - 軽 鎖可変領 域	4 1 1 D 0 7 の V L の核酸配列	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCT GGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATC AACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAG CTCCAACAATAAGAATTACTTAGCTTGGTACC AGCAGAAATCAGGACAGCCTCCTAAGTTGCT CATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGG TCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA GACTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGC AATATTATAGTAATCGCAGTTTTGGCCAGGGG ACCAAGCTGGAGATCAAAC
110	4 1 1 D 0 7 - 完 全軽鎖配 列	4 1 1 D 0 7 軽鎖 のアミノ酸配列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN NKNYLAWYQQKSGQPPKLLIYWASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISLQTEDVAVYYCQQYY NRSFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 3 2】

配列 番号	名称	説明	配列
111	4 1 1 D 0 7 - 完 全軽鎖配 列	4 1 1 D 0 7 軽鎖 の核酸配列	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCT GGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATC AACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAG CTCCAACAATAAGAATTACTTAGCTTGGTACC AGCAGAAATCAGGACAGCCTCCTAAGTTGCT CATTTACTGGGCATCTACCCGGAATCCGGGG TCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA GACTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGC AATATTATAGTAATCGCAGTTTTGGCCAGGGG ACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCCG CTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCACCTTCCGACG AGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTTCTGTCGTG TGCCTGCTGAACAACCTTACCCCCGCGAGGC CAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTG CAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCG AGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCT GTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACT ACGAGAAGCACAAAGGTGTACGCCTGCGAAGT GACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCA AGTCTTTCAACCGGGGCGAGTGT
112	3 8 5 F 0 1 - C DRH1 (IMG T)	IMG Tを使用し た3 8 5 F 0 1 の CDRH1 のアミ ノ酸配列	GFTFSSYW
113	3 8 5 F 0 1 - C DRH2 (IMG T)	IMG Tを使用し た3 8 5 F 0 1 の CDRH2 のアミ ノ酸配列	IKEDGSEK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 3 3】

配列 番号	名称	説明	配列
114	3 8 5 F 0 1 - C DRH 3 (I M G T)	I M G T を使用し た 3 8 5 F 0 1 の C D R H 3 の ア ミ ノ 酸 配 列	ARNRLYSDFLDN
115	3 8 5 F 0 1 - C DRH 1 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 3 8 5 F 0 1 の C D R H 1 の ア ミ ノ 酸 配 列	SYWMS
116	3 8 5 F 0 1 - C DRH 2 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 3 8 5 F 0 1 の C D R H 2 の ア ミ ノ 酸 配 列	NIKEDGSEKYYVDSVKG
117	3 8 5 F 0 1 - C DRH 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 3 8 5 F 0 1 の C D R H 3 の ア ミ ノ 酸 配 列	NRLYSDFLDN
118	3 8 5 F 0 1 - 重 鎖 可 変 領 域	3 8 5 F 0 1 の V H の ア ミ ノ 酸 配 列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYW MSWVRQAPGKGLEWVANIKEDGSEKYYVDSV KGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTSVYYCA RNRLYSDFLDNWGQGTLVTVSS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 3 4】

配列 番号	名称	説明	配列
119	3 8 5 F 0 1 ー重 鎖可変領 域	3 8 5 F 0 1 の V H の核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCCTCTGGATTACGTTTAGTAGCTA TTGGATGAGTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGG AAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATCAAAG AAGATGGAAGTGAGAAATACTATGTCTGACTC TGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGAC AACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGTCTGTGTA TACTGTGCGAGAAATCGACTCTACAGTGACT TCCTTGACAACCTGGGGCCAGGGAACCTGGTC ACCGTCTCCTCAG
120	3 8 5 F 0 1 ー完 全重鎖配 列	3 8 5 F 0 1 重鎖 のアミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYW MSWVRQAPGKGLEWVANIKEDGSEKYYVDSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTSVYYCA RNRLYSDFLDNWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 3 5】

121	3 8 5 F 0 1 ー完 全重鎖配 列	3 8 5 F 0 1 重鎖 の核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCCTCTGGATTACGTTTAGTAGCTA TTGGATGAGTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGG AAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATCAAAAG AAGATGGAAGTGAGAAATACTATGTCTGACTC TGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGAC AACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGTCTGTGTA TTACTGTGCGAGAAATCGACTCTACAGTGACT TCCTTGACAACCTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTC ACCGTCTCCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCTC TGTGTTCCCTCTGGCCCCCTCCAGCAAGTCCA CCTCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTC GTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGT GTCCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACCAGCGGAG TGCACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGTCCTCC GGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTCGTGACCGT GCCTTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACC AAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAAGTCCT GCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCT GCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTT CCTGTTCCCCCAAAGGCCAAGGACACCCTGA TGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTG GTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAG TGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGA AGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAG GAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTC CGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGA ACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAA CAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACC ATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAAC CCCAGGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGA CGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC TGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATAT
-----	--------------------------------	-------------------------	--

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 3 6】

配列 番号	名称	説明	配列
			CGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCT GAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCTGTGC TGGACTCCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGC AAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGC AGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGT CCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAAG
122	3 8 5 F 0 1 - C D R L 1 (I M G T)	I M G Tを使用し た 3 8 5 F 0 1 の C D R L 1 のアミ ノ酸配列	QGVSSW
123	3 8 5 F 0 1 - C D R L 2 (I M G T)	I M G Tを使用し た 3 8 5 F 0 1 の C D R L 2 のアミ ノ酸配列	GAS
124	3 8 5 F 0 1 - C D R L 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 3 8 5 F 0 1 の C D R L 3 のアミ ノ酸配列	QQANSIPFT
125	3 8 5 F 0 1 - C D R L 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 3 8 5 F 0 1 の C D R H 1 のア ミノ酸配列	RASQGVSSWLA
126	3 8 5 F 0 1 - C D R L 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 3 8 5 F 0 1 の C D R L 2 のア ミノ酸配列	GASSLQS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 3 7】

配列 番号	名称	説明	配列
127	3 8 5 F 0 1 - C D R L 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 3 8 5 F 0 1 の C D R L 3 のア ミノ酸配列	QQANSIPFT
128	3 8 5 F 0 1 - 軽 鎖可変領 域	3 8 5 F 0 1 の V L のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGVSSWL AWYQQKSGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSG SGTEFILTISSLQPEDFATYYCQQANSIPFTFGPG TKVDIK
129	3 8 5 F 0 1 - 軽 鎖可変領 域	3 8 5 F 0 1 の V L の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGT GTCTGCATCTGTCTGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGTCGGGCGAGTCAGGGTGTTAGCAGCTGG TTAGCCTGGTATCAGCAGAAATCAGGGAAAG CCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGATTGAGCG GCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCATTCTCACC ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGAAC TTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTATCCCAT TCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAAC
130	3 8 5 F 0 1 - 完 全軽鎖配 列	3 8 5 F 0 1 軽鎖 のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGVSSWL AWYQQKSGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSG SGTEFILTISSLQPEDFATYYCQQANSIPFTFGPG TKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 3 8】

配列 番号	名称	説明	配列
131	3 8 5 F 0 1 - 完 全軽鎖配 列	3 8 5 F 0 1 軽鎖 の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGT GTCTGCATCTGTCTGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGTCGGGCGAGTCAGGGTGTTAGCAGCTGG TTAGCCTGGTATCAGCAGAAATCAGGGAAAG CCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGATTCAGCG GCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCATTCTCACC ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTATCCCAT TCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCAT CTTCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCG GCACCGCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAAC TTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGA AGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTC CCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAG GACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGAC CCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAG GTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCC TGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGG GGCGAGTGT
132	4 1 3 D 0 8 - C DRH 1 (I M G T)	I M G T を使用し た 4 1 3 D 0 8 の C D R H 1 のアミ ノ酸配列	GFTFRIYG
133	4 1 3 D 0 8 - C DRH 2 (I M G T)	I M G T を使用し た 4 1 3 D 0 8 の C D R H 2 のアミ ノ酸配列	IWYDGSNK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 3 9】

配列 番号	名称	説明	配列
134	4 1 3 D 0 8 - C D R H 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 3 D 0 8 の C D R H 3 のアミ ノ酸配列	ARDMDYFGMDV
135	4 1 3 D 0 8 - C D R H 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 D 0 8 の C D R H 1 のア ミノ酸配列	IYGMH
136	4 1 3 D 0 8 - C D R H 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 D 0 8 の C D R H 2 のア ミノ酸配列	VIWYDGSNKYYADSVKG
137	4 1 3 D 0 8 - C D R H 3 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 D 0 8 の C D R H 3 のア ミノ酸配列	DMDYFGMDV
138	4 1 3 D 0 8 - 重 鎖可変領 域	4 1 3 D 0 8 の V H のアミノ酸配列	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFRIYG MHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADS VKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARDMDYFGMDVWGQGTTVTVSS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 4 0】

配列 番号	名称	説明	配列
139	4 1 3 D 0 8 - 重 鎖可変領 域	4 1 3 D 0 8 の V H の核酸配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCG TGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCCGTATTTA TGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGC AAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGT ATGATGGAAGTAATAAATACTATGCTGACTCC GTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACA ATTCCGACAACACGCTGTATCTGCAAATGAAC AGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATT ACTGTGCGAGAGATATGGACTACTTCGGTATG GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG TCTCCTCAG
140	4 1 3 D 0 8 - 完 全重鎖配 列	4 1 3 D 0 8 重鎖 のアミノ酸配列	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFRIYG MHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKYYADS VKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARDMDYFGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSST LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 4 1】

141	4 1 3 D 0 8 - 完 全重鎖配 列	4 1 3 D 0 8 重鎖 の核酸配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCG TGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCCGTATTTA TGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGC AAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGT ATGATGGAAGTAATAAATACTATGCTGACTCC GTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACA ATTCCGACAACACGCTGTATCTGCAAATGAAC AGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATT ACTGTGCGAGAGATATGGACTACTTCGGTATG GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG TCTCCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCCTCTGTG TTCCCTCTGGCCCCCTCCAGCAAGTCCACCTC TGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGA AGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGTGTCC TGGAACCTCTGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGC ACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGTCCTCCGGC CTGTACTCCCTGTCCTCCGTCGTGACCGTGCC TTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCT GCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAA GGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGC GACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCTGTC CCCTGAACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCC TGTTCCCCCAAAGCCCCAAGGACACCCTGATG ATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGT GGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTG AAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGA ACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCG TGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAAC GGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACA AGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCC AGGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGACGA GCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTC TCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCC
-----	---------------------------------	-------------------------	--

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 4 2】

配列 番号	名称	説明	配列
			GTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCTGAGA ACAACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGAC TCCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCT GACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGC AACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGC CCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGT CCCTGAGCCCCGGCAAG
142	4 1 3 D 0 8 - C D R L 1 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 3 D 0 8 の C D R L 1 のアミ ノ酸配列	QGIRND
143	4 1 3 D 0 8 - C D R L 2 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 3 D 0 8 の C D R L 2 のアミ ノ酸配列	AAS
144	4 1 3 D 0 8 - C D R L 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 3 D 0 8 の C D R L 3 のアミ ノ酸配列	LQHNSYPRT
145	4 1 3 D 0 8 - C D R L 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 D 0 8 の C D R L 1 のア ミノ酸配列	RASQGIRNDLG
146	4 1 3 D 0 8 - C D R L 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 D 0 8 の C D R L 2 のア ミノ酸配列	AASSLQS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 4 3】

配列 番号	名称	説明	配列
147	4 1 3 D 0 8 - C D R L 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 4 1 3 D 0 8 の C D R L 3 のア ミノ酸配列	LQHNSYPRT
148	4 1 3 D 0 8 - 軽 鎖可変領 域	4 1 3 D 0 8 の V L のアミノ酸配列	DLQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGIRNDLG WYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQG TKVEIK
149	4 1 3 D 0 8 - 軽 鎖可変領 域	4 1 3 D 0 8 の V L の核酸配列	GACCTCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCT GTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGA TTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAA GCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAG TTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGCG GCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACCTCTCACA ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTATTACTGTCTACAGCATAATAGTTACCCTC GGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAAT CAAAC
150	4 1 3 D 0 8 - 完 全軽鎖配 列	4 1 3 D 0 8 軽鎖 のアミノ酸配列	DLQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGIRNDLG WYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 4 4】

配列 番号	名称	説明	配列
151	4 1 3 D 0 8 - 完 全軽鎖配 列	4 1 3 D 0 8 軽鎖 の核酸配列	GACCTCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCT GTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGA TTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAA GCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAG TTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCG GCAGTGATCTGGGACAGAATTCACCTCTACA ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTATTACTGTCTACAGCATAATAGTTACCCTC GGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAT CAAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCA TCTTCCCACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCC GGCACCGCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAA CTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGG AAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACT CCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAA GGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGA CCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA GGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGC CTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCG GGGCGAGTGT
152	3 8 6 H 0 3 - C DRH 1 (I M G T)	I M G T を使用し た 3 8 6 H 0 3 の C D R H 1 のアミ ノ酸配列	GGSISSDW
153	3 8 6 H 0 3 - C DRH 2 (I M G T)	I M G T を使用し た 3 8 6 H 0 3 の C D R H 2 のアミ ノ酸配列	IFHSGNT

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 4 5】

配列 番号	名称	説明	配列
154	3 8 6 H 0 3 - C D R H 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 3 8 6 H 0 3 の C D R H 3 のアミ ノ酸配列	VRDGSGSY
155	3 8 6 H 0 3 - C D R H 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 3 8 6 H 0 3 の C D R H 1 のア ミノ酸配列	SSDWWS
156	3 8 6 H 0 3 - C D R H 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 3 8 6 H 0 3 の C D R H 2 のア ミノ酸配列	EIFHSGNTNYNPSLKS
157	3 8 6 H 0 3 - C D R H 3 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 3 8 6 H 0 3 の C D R H 3 のア ミノ酸配列	DGSGSY
158	3 8 6 H 0 3 - 重 鎖可変領 域	3 8 6 H 0 3 の V H のアミノ酸配列	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSDW WSWVRQPPGKGLEWIGEIFHSGNTNYNPSLKSR VTISVDKSKNQISLRLNSVTAADTAVYYCVRDG SGSYWGQGTLLTVSS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 4 6】

配列 番号	名称	説明	配列
159	3 8 6 H 0 3 - 重 鎖可変領 域	3 8 6 H 0 3 の V H の核酸配列	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGAC TGGTGAAGCCTTCGGGGACCCTGTCCCTCACC TGCGCTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAG TGACTGGTGGAGTTGGGTCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGGAAATCTT TCATAGTGGGAACACCAACTACAACCCGTCCT TCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACAA GTCCAAGAACCAGATCTCCCTGAGGCTGAACT CTGTGACCGCCGCGGACACGGCCGTGTATTAC TGTGTGAGAGATGGTTCGGGGAGTTACTGGG GCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAG
160	3 8 6 H 0 3 - 完 全重鎖配 列	3 8 6 H 0 3 重鎖 のアミノ酸配列	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSDW WSWVRQPPGKGLEWIGEIFHSGNTNYPNPSLKSR VTISVDKSKNQISLRNSVTAADTAVYYCVRDG SGSYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NPKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 4 7】

161	3 8 6 H 0 3 一完 全重鎖配 列	3 8 6 H 0 3 重鎖 の核酸配列	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGAC TGGTGAAGCCTTCGGGGACCCTGTCCCTCACC TGCGCTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAG TGA CTGGTGGAGTTGGGTCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGGAAATCTT TCATAGTGGGAACACCAACTACAACCCGTCCC TCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACAA GTCCAAGAACCAGATCTCCCTGAGGCTGAACT CTGTGACCGCCGCGGACACGGCCGTGTATTAC TGTGTGAGAGATGGTTCGGGGAGTTACTGGG GCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCC AGCACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCTCTGGC CCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGAACAG CCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTC CCCAGCCTGTGACCGTGTCTCTGGA ACTCTGG CGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTG CTGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTG TCCTCCGTCTGTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCT GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGA AGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCA CACCTGTCCCCCTGTCTGCCCCCTGAACTGC TGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTC CCCCCA AAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGA CCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTG TCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTG GTACGTGGACGCGGTGGAAGTGACAACGCC AAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACA ACT CCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG CTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGT ACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCC TGCCCCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCC AAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCAGGTGTACA CACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAA GAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAG GCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGG
-----	--------------------------------	-------------------------	---

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 4 8】

配列 番号	名称	説明	配列
			GAGTCCAACGGCCAGCCTGAGAACAACACTACA AGACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGC TCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC TCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAA CCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCC CCGGCAAG
162	3 8 6 H 0 3 - C D R L 1 (I M G T)	I M G Tを使用し た 3 8 6 H 0 3 の C D R L 1 のアミ ノ酸配列	QSVLYSSNNKNY
163	3 8 6 H 0 3 - C D R L 2 (I M G T)	I M G Tを使用し た 3 8 6 H 0 3 の C D R L 2 のアミ ノ酸配列	WAS
164	3 8 6 H 0 3 - C D R L 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 3 8 6 H 0 3 の C D R L 3 のアミ ノ酸配列	QQYYSTRS
165	3 8 6 H 0 3 - C D R L 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 3 8 6 H 0 3 の C D R L 1 のア ミノ酸配列	KSSQSVLYSSNNKNYLA
166	3 8 6 H 0 3 - C D R L 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 3 8 6 H 0 3 の C D R L 2 のア ミノ酸配列	WASTRES

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 4 9】

配列 番号	名称	説明	配列
167	3 8 6 H 0 3 - C D R L 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 3 8 6 H 0 3 の C D R L 3 のア ミノ酸配列	QQYYSTRS
168	3 8 6 H 0 3 - 軽 鎖可変領 域	3 8 6 H 0 3 の V L のアミノ酸配列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN NKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYY TRSGGQGTKLEIK
169	3 8 6 H 0 3 - 軽 鎖可変領 域	3 8 6 H 0 3 の V L の核酸配列	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCT GGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATC AACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAG CTCCAACAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACC AGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAACTGCT CATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGG TCCCTGACCGATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGG ACAGATTTCACCTCTCACCATCAGCAGCCTGCA GGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGC AATATTATAGTACTCGCAGTTTTGGCCAGGGG ACCAAGCTGGAGATCAAAC
170	3 8 6 H 0 3 - 完 全軽鎖配 列	3 8 6 H 0 3 軽鎖 のアミノ酸配列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN NKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYY TRSGGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 5 0】

配列 番号	名称	説明	配列
171	3 8 6 H 0 3 - 完 全軽鎖配 列	3 8 6 H 0 3 軽鎖 の核酸配列	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCT GGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATC AACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAG CTCCAACAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACC AGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAACTGCT CATTTACTGGGCATCTACCCGGAATCCGGGG TCCCTGACCGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCA GGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGC AATATTATAGTACTCGCAGTTTTGGCCAGGGG ACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCCG CTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCACCTTCCGACG AGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTTCTGTCTGTG TGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCGCGAGGC CAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTG CAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCG AGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCT GTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACT ACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGT GACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGACCA AGTCTTTCAACCGGGGCGAGTGT
172	3 8 9 A 0 3 - C DRH 1 (I M G T)	I M G T を使用し た 3 8 9 A 0 3 の C D R H 1 のアミ ノ酸配列	GGSISSSSYY
173	3 8 9 A 0 3 - C DRH 2 (I M G T)	I M G T を使用し た 3 8 9 A 0 3 の C D R H 2 のアミ ノ酸配列	IYSTGYT

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 5 1】

配列 番号	名称	説明	配列
174	3 8 9 A 0 3 - C D R H 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 3 8 9 A 0 3 の C D R H 3 のアミ ノ酸配列	AISTAAGPEYFHR
175	3 8 9 A 0 3 - C D R H 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 3 8 9 A 0 3 の C D R H 1 のア ミノ酸配列	SSSY YCG
176	3 8 9 A 0 3 - C D R H 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 3 8 9 A 0 3 の C D R H 2 のア ミノ酸配列	SIYSTGYTYYNPSLKS
177	3 8 9 A 0 3 - C D R H 3 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 3 8 9 A 0 3 の C D R H 3 のア ミノ酸配列	STAAGPEYFHR
178	3 8 9 A 0 3 - 重 鎖可変領 域	3 8 9 A 0 3 の V ₁₁ のアミノ酸配列	QLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYC GWIRQPPGKGLDWIGSIYSTGYTYYNPSLKSRV TISIDTSKNQFSLILTSVTAADTAVYYCAISTAA GPEYFHRWGQGLTVTVSS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 5 2】

配列 番号	名称	説明	配列
179	3 8 9 A 0 3 - 重 鎖可変領 域	3 8 9 A 0 3 の V 11 の核酸配列	CAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGCCTGGTGA AGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACT GTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGTAGTTA TTACTGCGGCTGGATCCGCCAGCCCCCTGGGA AGGGGCTGGACTGGATTGGGAGTATCTATTCT ACTGGGTACACCTACTACAACCCGTCCCTCAA GAGTCGAGTCACCATTTCCATAGACACGTCCA AGAACCAGTTCTCATGCCTGATACTGACCTCT GTGACCGCCGCAGACACGGCTGTGTATTACTG TGCGATAAGTACAGCAGCTGGCCCTGAATACT TCCATCGCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACC GTCTCCTCAG
180	3 8 9 A 0 3 - 完 全重鎖配 列	3 8 9 A 0 3 重鎖 のアミノ酸配列	QLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYC GWIRQPPGKGLDWIGSIYSTGYTYYNPSLKSRV TISIDTSKNQFSLILTSVTAADTAVYYCAISTAA GPEYFHRWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 5 3】

181	3 8 9 A 0 3 - 完 全重鎖配 列	3 8 9 A 0 3 重鎖 の核酸配列	CAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGCCTGGTGA AGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACT GTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGTAGTTA TTACTGCGGCTGGATCCGCCAGCCCCCTGGGA AGGGGCTGGACTGGATTGGGAGTATCTATTCT ACTGGGTACACCTACTACAACCCGTCCCTCAA GAGTCGAGTCACCATTTCCATAGACACGTCCA AGAACCAGTTCTCATGCCTGATACTGACCTCT GTGACCGCCGCAGACACGGCTGTGTATTACTG TGCGATAAGTACAGCAGCTGGCCCTGAATACT TCCATCGCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACC GTCTCCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCCTCTGT GTTCCCTCTGGCCCCCTCCAGCAAGTCCACCT CTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTG AAGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGTGTC CTGGAACCTCTGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGC ACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGTCCTCCGGC CTGTACTCCCTGTCTCCGTCTGACCGTGCC TTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCT GCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAA GGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTGC GACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTGC CCCTGAACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCC TGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATG ATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGT GGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTG AAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGA ACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCG TGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAAC GGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACA AGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATC TCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCC AGGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGACGA GCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTC TCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCC
-----	---------------------------------	-------------------------	---

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 5 4】

配列 番号	名称	説明	配列
			GTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCTGAGA ACA ACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGAC TCCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCT GACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGC AACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGC CCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGT CCCTGAGCCCCGGCAAG
182	3 8 9 A 0 3 - C D R L 1 (I M G T)	I M G Tを使用し た 3 8 9 A 0 3 の C D R L 1 のアミ ノ酸配列	QSVLYSSNSKNF
183	3 8 9 A 0 3 - C D R L 2 (I M G T)	I M G Tを使用し た 3 8 9 A 0 3 の C D R L 2 のアミ ノ酸配列	WAS
184	3 8 9 A 0 3 - C D R L 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 3 8 9 A 0 3 の C D R L 3 のアミ ノ酸配列	QQYYSTPRT
185	3 8 9 A 0 3 - C D R L 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 3 8 9 A 0 3 の C D R L 1 のア ミノ酸配列	KSSQSVLYSSNSKNFLA
186	3 8 9 A 0 3 - C D R L 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 3 8 9 A 0 3 の C D R L 2 のア ミノ酸配列	WASTRGS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 5 5】

配列 番号	名称	説明	配列
187	3 8 9 A 0 3 - C D R L 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 3 8 9 A 0 3 の C D R L 3 のア ミノ酸配列	QQYYSTPRT
188	3 8 9 A 0 3 - 軽 鎖可変領 域	3 8 9 A 0 3 の V L のアミノ酸配列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN SKNFLAWYQQKPGQPPKLFYIWASTRGSQVPD RISGSGSGTDFNLTISSLQAEDVAVYYCQQYYST PRTFGQGTKVEIK
189	3 8 9 A 0 3 - 軽 鎖可変領 域	3 8 9 A 0 3 の V L の核酸配列	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCT GGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATC AACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAG CTCCAACAGTAAGAAGTCTTAGCTTGGTACC AGCAGAAACCGGGACAGCCTCCTAAGCTGTT CATTTACTGGGCATCTACCCGGGGATCCGGGG TCCCTGACCGAATCAGTGGCAGCGGGTCTGG GACAGATTTCAATCTCACCATCAGCAGCCTGC AGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAA CAATATTATAGTACTCCTCGGACGTTCCGGCCA AGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC
190	3 8 9 A 0 3 - 完 全軽鎖配 列	3 8 9 A 0 3 軽鎖 のアミノ酸配列	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN SKNFLAWYQQKPGQPPKLFYIWASTRGSQVPD RISGSGSGTDFNLTISSLQAEDVAVYYCQQYYST PRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 5 6】

配列 番号	名称	説明	配列
191	3 8 9 A 0 3 - 完 全軽鎖配 列	3 8 9 A 0 3 軽鎖 の核酸配列	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCT GGCTGTGTCTCTGCGGAGAGGGCCACCATC AACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAG CTCCAACAGTAAGAACTTCTTAGCTTGGTACC AGCAGAAACCGGGACAGCCTCCTAAGCTGTT CATTACTGGGCATCTACCCGGGGATCCGGGG TCCCTGACCGAATCAGTGGCAGCGGGTCTGG GACAGATTTCAATCTCACCATCAGCAGCCTGC AGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAA CAATATTATAGTACTCCTCGGACGTTTCGGCCA AGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACGGTG GCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCACCTTCC GACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTTCTGT CGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCGCG AGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC CCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGA CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTC CCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCG ACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGA AGTGACCCACCAGGGCCTGTCTAGCCCCGTGA CCAAGTCTTTCAACCGGGGCGAGTGT

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 5 7】

配列 番号	名称	説明		配列
192	H u m a n I g G 4 h e a v y c h a i n c o n s t a n t r e g i o n # 1	I G H G * 0 1 & I G H G 4 * 0 4	重鎖定常 領域スク レオチド 配列	gctccaccaagggccatccgtcttccccctggcgccctgctccaggagc acctccgagagcacagccgccctgggctgcctggtaaggactactccc cgaaccgggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcgcggtg cacaccttccccggctgtctacagtcctcaggactctactccctcagcagcg tggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaac gtagatcacaagcccagcaaccaaggtggacaagagagttgagtcca aatatgggtcccccatgccatcatgccagcacctgagttcctggggggac catcagtcttctgttcccccaaaaccaaggacactctcatgatctcccg gaccctgaggtcacgtgcgtgggtgggacgtgagccaggaagacccc gagggtccagttcaactggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgcaag acaaagccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcg tctcaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgc aagggtccaacaaaggcctcccgtctccatcgagaaaaccatctccaaa gccaagggcagccccgagagccacaggtgtacacctgcccccatccc aggaggagatgaccaagaaccagggtcacctgacctgcctggtcaaagg cttctacccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg gagaacaactacaagaccagcctcccgtgtggtgactccgacggctcctt cttctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggagggg aatgtcttctcatgtccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacaca gaagagcctctccctgtctctgggtaaa
193			重鎖定常 領域アミ ノ酸配列	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVES KYGPPCPCSPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK

10

20

30

40

【表 3 0 - 5 8】

配列 番号	名称	説明		配列
194	ヒト I g G 4 重鎖 定常領域 # 2	I G H G * 0 2	重鎖定常 領域ヌク レオチド 配列	gcttcaccaaggggcccatccgtcttccccctggcgccctgtccaggagc acctccgagagcacagccgccctgggctgctggtcaaggactactccc cgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtg cacaccttccccggctgtctacagtcctcaggactctactccctcagcagcg tggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaac gtagatcacaagcccagcaacaccaagggtggacaagagagttgagtcca aatatgggtccccgtgccatcatgccagcacctgagttcctggggggac catcagttctctgttcccccaaaaccaaggacactctcatgatctccg gacccctgaggtcacgtgcgtgggtgggacgtgagccaggaagacccc gagggtccagtccaactggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaag acaaagccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcg tctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgc aagggtccaacaaaggcctcccgtctccatcgagaaaacctctccaaa gccaagggcagccccgagagccacaggtgtacacctgcccccatccc aggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgacctgcctgggtcaaagg cttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg gagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctt cttctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggagggg aatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgc agaagagcctctccctgtctctgggtaaa
195			重鎖定常 領域アミ ノ酸配列	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVES KYGPPCPSPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVVHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 5 9】

配列 番号	名称	説明		配列
196	ヒト I g G 4 重鎖 定常領域 # 3	I G H G * 0 3	重鎖定常 領域ヌク レオチド 配列	gcttcaccaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctccaggagc acctccgagagcacagccgccctgggctgctggtcaaggactactccc cgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtg cacaccttcccggtgtctctacagtctcaggactctactccctcagcagcg tggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaac gtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagtcca aatatggtcccccatgccatcatgccagcacctgagttcctggggggac catcagtcttctgttcccccaaaaccaaggacactctcatgatctccc gaccctgaggtcacgtgcgtgggtggacgtgagccaggaagacccc gaggctcagttcaactggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaag aaaagccggggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcg tctcaccgtctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgc aaggtctccaacaaaggcctcccgtctccatcgagaaaaccatctccaaa gccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacacctgccccatccc aggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaagg ctctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccg gagaacaactacaagaccagcctcccgtgctggactccgacggctctt cttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcaggagggg aacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgc agaagagcctctcctgtctctgggtaaa
197			重鎖定常 領域アミ ノ酸配列	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVES KYGPPCPCSPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 6 0】

配列 番号	名称	説明		配列
198	I g G 4 重鎖定常 領域－I g G 4－ P E	－I g G 4－ P E	重鎖定常 領域ヌク レオチド 配列－合 成バージ ョンA	gcctccaccaagggcccatcgtcttccccctggcgccctgtccaggag cacctccgagagcacggccgcccctgggctgcctggtaaggactactcc ccgaaccagtgacgggtgctgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgt gcacaccttcccggtgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagc gtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaa cgtagatcacaaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagtc aaatatgtcccccatgccaccatgccagcgcctgaattgagggggg accatcagtcttctgttcccccaaaaccaaggacactctcatgatctccc ggaccctgaggtcacgtgcgtgggtggagcgtgagccaggaagacc cgaggtccagtcaactggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgccaa gacaaagccgaggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagc gtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagt caaggtctccaacaaaggcctcccgatcatcgagaaaaccatctccaa agccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacacctgccccatcc caggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaag gcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagcc ggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggatcct tcttctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggagggg aatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacaca gaagagcctctccctgtctctgggtaaa

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 6 1】

配列 番号	名称	説明	配列
199	I g G 4 重鎖定常 領域－ I g G 4－ P E	重鎖定常 領域アミ ノ酸配列 －合成バ ージョン A、B、 およびC によって コードさ れる（野 生型配列 と異なる 2つの残 基は太字 で示され る）	ASTKGPSVFPLAFC S RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GV E TFPAVLQSSGLYSLSSEVTVPS S SLGTRKTYICNV D HKPKENTKVOK RVESKYGPPCP P CPAPE F EGGSPVFLEPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNNWYVDGVEVHNAKTKPREEQENSTYRVVSVLTVLHQD WLN G KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVFWESNGQ P ENN Y KITTPVLDSDGSFFFLYS RLTV D KSRWQEGNVFSCSV M REALHNHYTQKSLSLSLGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 6 2】

配列 番号	名称	説明		配列
200	I g G 4 重鎖定常 領域－ I g G 4 － P E		重鎖定常 領域ヌク レオチド 配列－合 成バージョン B	Gcctccaccaaggacctagcgtgttcctctcgccccctgtccaggtcc acaagcgagtccaccgctgccctcggctgtctggtgaaagactactttccc gagcccgtgaccgtctcctggaatagcggagcccctgacctccggcgtgca cacattccccccgtgctgcagagcagcggactgtatagcctgagcagcgt ggtgaccgtgccagctccagcctcggcaccaaaacacacacgtgcaacg tggaccacaagccctcaacaccaaggtggacaagcgggtggagagca agtacggcccccttgccctcctgtcctgccctgagttcgaggaggac cctcctgttctgtttcccccaaccaaggacacctgatgatctcccg gacaccgagggtgacctgtgtggtcgtggacgtcagccaggaggacccc gagggtgcagttcaactggtatgtggacggcgtggaggtgcacaatgcaa aaccaagcccaggaggagcagttcaattccacctacagggtggtgagc gtgctgaccgtcctgcatcaggattggctgaacggcaaggagtacaagtg caagggttccaacaaggactgccagctccatcgagaagaccatcagca aggctaagggccagccgaggagccccagggtgtatacctgcctcctag ccaggaagagatgaccaagaaccaaggtgtccctgacctgcctggtgaagg gattctacctccgacatcgccgtggagtgaggagcaatggccagccc gagaacaactacaaaacaacccctcccgtgctcgatagcgacggcagctt ctttctctacagccggctgacagtggacaagagcaggtggcaggagggca acgtgttctcctgttccgtgatgcacgaggccctgcacaatcactacacca gaagagcctctcctgtccctgggcaag

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 6 3】

配列 番号	名称	説明	配列
201	I g G 4 重鎖定常 領域－ I g G 4 － P E	重鎖定常 領域ヌク レオチド 配列－合 成バージ ョン C	<p>gccagcaccaagggcccttcggtgtccccctggcccctgcagcaggag cacctccgaatccacagctgccctgggctgtctggtgaaggactactttccc gagcccgtgaccgtgagctggaacagcggcgctctgacatccggcgctcc acacctttcctgccgtcctgcagtcctccggcctctactccctgtcctccgtg gtgaccgtgcctagctcctccctcggcaccaagacctacacctgtaacgtg gaccacaaacctccaacaccaaggtggacaaacgggtcgagagcaagt acggccctccctgccctccttgcctgccccgagttcgaggcggaccca gcgtgttctgttcctcctaagcccaaggacacctcatgatcagccggac acccgaggtgacctgcgtgggtggatgtgagccaggaggacctgag gtccagttcaactggatgtggatggcgtggaggtgcacaacgccaagac aaagccccgggaagagcagttcaactccactacagggtggtcagcgtgc tgacctgtctgcatcaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgaag gtcagcaataagggactgccagcagcatcgagaagaccatctccaagg ctaaaggccagccccgggaacctcaggtgtacacctgcctcccagccag gaggagatgaccaagaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaggatt ctaccttccgacatcggcgtggagtgggagtgcaacggccagcccgaga acaattataagaccacctcccgtcctcgacagcgacggatccttcttctg tactccaggctgacctggataagtccaggtggcaggaaggcaacgtgtt cagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaatcactacaccagaagt ccctgagcctgtccctgggaaag</p>

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 6 4】

配列 番号	名称	説明		配列
202	I g G 4 重鎖定常 領域		重鎖定常 領域ヌク レオチド 配列一合 成バージ ョンD	gcctccaccaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctccaggag cacctccgagagcacggccgcctgggctgcctggtaaggactacttcc ccgaaccagtacgggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgt gcacaccttccggctgtctacagtctcaggactctactccctcagcagc gtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaa cgtagatcacaagcccagcaacaccaagggtggacaagagagttgagtc aaatatggtcccccattgccaccatgccagcgccctcagttgcgggggg accatcagttcttctgttcccccaaaaccaaggacactctcatgatctccc ggaccctgaggtcacgtgcgtggtgggagcgtgagccaggaagacc cgagggtccagttcaactggtacgtggatggcgtggaggtgcataatgcaa gacaaagccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagc gtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagt caaggctccaacaaaggcctcccgatcgatcgagaaaaccatctccaa agccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacacctgccccatcc caggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgtgtaaa gcttctacccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagcc ggagaacaactacaagaccacgcctcccggtgtggtgactccgacggtcct tcttctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggagggg aatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacaca gaagagcctctccctgtctctgggtaaa
203			重鎖定常 領域アミ ノ酸配列 一合成バ ージョン Dによっ てコード される	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCPAPPVAGGPGSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

10

20

30

40

【表 3 0 - 6 5】

配列 番号	名称	説明		配列
204	欠損ヒト I g G 1 重鎖定常 領域	欠損 I G H G 1	重鎖定常 領域ヌク レオチド 配列	gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctctccaagagc acctctggggggcacagcggccctgggctgccttgtaaggaactacttccc cgaaccgggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtg cacaccttcccggtgtctctacagtctcaggactctactccctcagcagcg tggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacg tgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagtggagcccaa atcttgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcgc gggggcaccgtcagttcttcttcccccaaaacccaaggacacctcat gatctccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggagcgtgagccacg aagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcat aatccaagacaaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgt gtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaagga gtacaagtgaaggttccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaa ccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacct gcccccatccgggatgagctgaccaagaaccagggtcagcctgacctgc ctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaat gggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgctgctggactccg acggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggc agcagggggaacgttctctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaacc actacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa
205			重鎖定常 領域アミ ノ酸配列 (野生型 配列と異 なる2つ の残基は 太字で示 される)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT GVHIFPPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTQYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCCKTHITCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWZVDGVEVENAKTKFREEQYNSTYRVVSVLTFL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDH LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPEVLDSGSEFF LYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 6 6】

配列 番号	名称	説明		配列
206	ヒト C κ 定常領域	I G K C * 0 1	C κ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列	cgtaagggtggccgctccctccgtgttcattcttccaccttcgacgagcagc tgaagtcggcaccgcttctgtctgtgctgctgaacaacttctacccccg cgaggccaagggtgcagtggaagggtggacaacgccctgcagtcggcaa ctcccaggaatccgtgaccgagcaggactccaaggacagcacctactccc tgtctccaccctgacctgtccaaggccgactacgagaagcacaagggtgt acgcctgcgaagtgaccaccaggccctgtctagccccgtgaccaagtcct tcaaccggggcgagtggt
207			C κ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
208	ヒト C κ 定常領域	I G K C * 0 2	C κ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列	cgaactgtggctgcaccatctgttctcatcttccgccatctgatgagcagtt gaaatctggaactgcctctgtgtgtgctgctgaataacttctatcccagag aggccaaagtacagtggaagggtggataacgccctccaatcggttaactcc caggagagtggtcacagagcaggagagcaaggacagcacctacagcctc agcagcacctgacgctgagcaaagcagactacgagaacacaaaagtct acgcccggcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccggtcacaagag cttcaacaggggagagtggt
209			C κ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQESKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYAGEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
210	ヒト C κ 定常領域	I G K C * 0 3	C κ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列	cgaactgtggctgcaccatctgttctcatcttccgccatctgatgagcagtt gaaatctggaactgcctctgtgtgtgctgctgaataacttctatcccagag aggccaaagtacagcggaagggtggataacgccctccaatcggttaactcc caggagagtggtcacagagcaggagagcaaggacagcacctacagcctc agcagcacctgacgctgagcaaagcagactacgagaacacaaaagtct acgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccggtcacaagag cttcaacaggggagagtggt
211			C κ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQESKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 6 7】

配列 番号	名称	説明		配列
212	ヒトCκ 定常領域	I G K C * 0 4	C κ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcattctccgccatctgatgagcagtt gaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagag aggccaaagtacagtggaggtggataacgccctccaatcgggtaactcc caggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctca gcagcacctgacgctgagcaaagcagactacgagaacacaaactcta cgctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgctcacaagagct tcaacaggggagagtgt
213			C κ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
214	ヒトCκ 定常領域	I G K C * 0 5	C κ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcattctccgccatctgatgagcagtt gaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagag aggccaaagtacagtggaggtggataacgccctccaatcgggtaactcc caggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctca gcaacacctgacgctgagcaaagcagactacgagaacacaaagtcta cgctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgctcacaagagct tcaacaggggagagtgc
215			C κ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSNTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
216	ヒトCλ 定常領域	I G C λ 1 * 0 1	C λ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列	cccaaggccaacccacggctactctgttcccgccctcctctgaggagctc caagccaacaaggccactagtgtgtctgatcagtgacttctacccggga gctgtgacagtggcttggaaggcagatggcagccccgtcaaggcgggag tgagacgaccaaaccctcaaacagagcaacaacaagtacgcggccag cagctacctgagcctgacgcccagcagtggaagtcacacagaagctac agctgccaggtcacgcatgaaggagcacctggagaagacagtggcc cctacagaatgtca
217			C λ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列	PKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPG AVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTV APTECS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 6 8】

配列 番号	名称	説明		配列
218	ヒトCλ 定常領域	I G C λ 1 * 0 2	C λ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列	ggtcagcccaaggccaacccactgtcactctgttcccgcctcctctgag gagctccaagccaacaaggccacactagtgtgtctgatcagtgacttctacc cgggagctgtgacagtgccctggaaggcagatggcagccccgtcaaggc gggagtggagaccaccaaacctccaacagagcaacaacaagtacgc ggccagcagctacctgagcctgacgcccagcagtggaagtccacaga agctacagctgccaggtcacgcatgaaggagcaccgtggagaagacag tgccccctacagaatgttca
219			C λ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECS
220	ヒトCλ 定常領域	I G C λ 2 * 0 1	C λ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列 ーバージョンA	ggtcagcccaaggccaacccactgtcactctgttcccgcctcctctgag gagctccaagccaacaaggccacactagtgtgtctgatcagtgacttctacc cgggagctgtgacagtgccctggaaggcagatggcagccccgtcaaggc gggagtggagaccaccaaacctccaacagagcaacaacaagtacgc ggccagcagctacctgagcctgacgcccagcagtggaagtccacaga agctacagctgccaggtcacgcatgaaggagcaccgtggagaagacag tgccccctacagaatgttca
221			C λ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列 ーバージョンB	ggccagcctaaggccgctcctctgtgacctgttcccccatcctccgag gaactgcaggctaacaaggccaccctcgtgtgcctgatcagcgacttctac cctggcgccgtgacctgtgcctggaaggctgatagctcctgtgaaggc cggcgtggaaccaccacccctccaagcagtcacaacaatacggcg cctcctcctacctgtccctgaccttgagcagtggaagtcccaccggtccta cagctgccaaagtgaccacgagggtccaccgtggaaaagaccgtggct cctaccgagtgtctcc
222			C λ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列 ーバージョンC	ggccagcctaagctgccccagcgtcacctgtttcctccctccagcgag gagctccaggccaacaaggccaccctcgtgtgcctgatctccgacttctatc ccggcgctgtgacctgtgcttgaaagccgactccagccctgtcaaggc ggcgtggagaccaccacacctccaagcagtcacaacaagaacgccc cctccagctatctcctgaccttgagcagtggaagtcccaccggtccta ctcctgtcaggtgaccacgagggtccaccgtggaaaagaccgtcgccc ccaccgagtgtctcc

10

20

30

40

【表 3 0 - 6 9】

配列 番号	名称	説明	配列
223		C λ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列一バ ージョン A、B、 およびC によって コードさ れる	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGA VTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECS
224	ヒト C λ 定常領域	I G C λ 2 * 0 2 & I G L C 2	ggtcagcccaaggtgccccctcggtcactctgttcccgccctcctctgag gagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtgaacttacc cgggagccgtgacagtggcctggaaggcagatagcagccccgtcaagg cgggagtgagaccaccacaccctccaaacaaagcaacaacaagtagcgc ggccagcagctatctgagcctgacgcctgagcagtggaagtcacacagaa gctacagctgccaggtcacgcctgaaggagcaccgtggagaagacagt ggcccctacagaatgttca
225		* 0 3	GQPKAAPS VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECS
226	ヒト C λ 定常領域	I G C λ 3 * 0 1	cccaaggtgccccctcggtcactctgttccaccctcctctgaggagcttc aagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtgaacttctacccgggag ccgtgacagtgccctggaaggcagatagcagccccgtcaaggcgggggt ggagaccaccacaccctccaaacaaagcaacaacaagtagcgcggccagc agctacctgagcctgacgcctgagcagtggaagtcacacaaaagctacag ctgccaggtcacgcctgaaggagcaccgtggagaagacagttgccct acggaatgttca
227		C λ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列	PKAAPS VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPG AVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAA SSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVA PTECS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 7 0】

配列 番号	名称	説明		配列
228	ヒト C λ 定常領域	I G C λ 3 * 0 2	C λ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列	ggtcagcccaaggctgccccctcggtcactctgttcccacctcctctgag gagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtacttctacc cggggccagtgacagtggcctggaaggcagatagcagccccgtcaaggc gggggtggagaccaccacacctccaacaaagcaacaacaagtacgc ggccagcagctacctgagcctgacgcctgagcagtggaagtccacaaa agctacagctgccaggtcacgcatgaaggaggacacgtggagaagacag tgccccctacggaatgtca
229			C λ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGPVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKY AASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECS
230	ヒト C λ 定常領域	I G C λ 3 * 0 3	C λ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列	ggtcagcccaaggctgccccctcggtcactctgttcccacctcctctgag gagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtacttctacc cggggagccgtgacagtggcctggaaggcagatagcagccccgtcaagg cgggagtgagaccaccacacctccaacaaagcaacaacaagtacgc ggccagcagctacctgagcctgacgcctgagcagtggaagtccacaaa agctacagctgccaggtcacgcatgaaggaggacacgtggagaagacag tgccccctacagaatgtca
231			C λ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKY AASSYLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECS
232	ヒト C λ 定常領域	I G C λ 3 * 0 4	C λ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列	ggtcagcccaaggctgccccctcggtcactctgttcccacctcctctgag gagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtacttctacc cggggagccgtgacagtggcctggaaggcagatagcagccccgtcaagg cgggagtgagaccaccacacctccaacaaagcaacaacaagtacgc ggccagcagctacctgagcctgacgcctgagcagtggaagtccacaga agctacagctgccaggtcacgcatgaaggaggacacgtggagaagacag tgccccctacagaatgtca
233			C λ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 7 1】

配列 番号	名称	説明		配列
234	ヒト C λ 定常領域	I G C λ 6 * 0 1	C λ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列	ggtcagcccaaggctgccccatcggtcactctgttcccgcctcctctgag gagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgcctgatcagtgaacttac cggggagctgtgaaagtggcctggaaggcagatggcagccccgtcaaca cgggagtgagaccaccacacctccaacagagcaacaacaagtacgc ggccagcagctacctgagcctgacgctgagcagtggaagtccacaga agctacagctgccaggtcacgcatgaaggagcaccgtggagaagacag tgcccctgcagaatgttca
235			C λ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGAVKVAWKADGSPVNTGVETTTTPSKQSNNKY AASSYLSTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT VAPAECS
236	ヒト C λ 定常領域	I G L C 7 * 0 1 & I G C λ 7 * 0 2	C λ 軽鎖 定常領域 ヌクレオ チド配列	ggtcagcccaaggctgccccatcggtcactctgttcccacctcctctgag gagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcgaagtgaacttacc cgggagccgtgacagtggcctggaaggcagatggcagccccgtcaaggt gggagtgagaccaccaaacctccaacaagaacaacaagtatgcg gccagcagctacctgagcctgacgcccagcagtggaagtccacagaa gctacagctgccgggtcacgcatgaaggagcaccgtggagaagacagt ggcccctgcagaatgctct
237			C λ 軽鎖 定常領域 アミノ酸 配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLVSDF YPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKPSKQSNNK YAASSYLSTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEK TVAPAECS
238	4 1 3 G 0 5 - C DRH 1 (I M G T)	I M G T を使用し た 4 1 3 G 0 5 の C D R H 1 のアミ ノ酸配列		GFTFSDYY
239	4 1 3 G 0 5 - C DRH 2 (I M G T)	I M G T を使用し た 4 1 3 G 0 5 の C D R H 2 のアミ ノ酸配列		ISTSGSTI

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 7 2】

配列 番号	名称	説明	配列
240	4 1 3 G 0 5 - C D R H 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 3 G 0 5 の C D R H 3 のアミ ノ酸配列	ARGITGTNIFYHYGLGV
241	4 1 3 G 0 5 - C D R H 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 G 0 5 の C D R H 1 のア ミノ酸配列	DYYMS
242	4 1 3 G 0 5 - C D R H 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 G 0 5 の C D R H 2 のア ミノ酸配列	YISTSGSTIYYADSVKG
243	4 1 3 G 0 5 - C D R H 3 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 G 0 5 の C D R H 3 のア ミノ酸配列	GITGTNIFYHYGLGV
244	4 1 3 G 0 5 - 重 鎖可変領 域	4 1 3 G 0 5 の V ₁₁ のアミノ酸配列	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS DYYMSWIRQVPGKGLEWVS YISTSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN SLRAEDAAVYHCARGITGTNIFYHYGLGVWGQGT TVTVSS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 7 3】

配列 番号	名称	説明	配列
245	4 1 3 G 0 5 - 重 鎖可変領 域	4 1 3 G 0 5 の V II の核酸配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTA CTACATGAGCTGGATCCGCCAGGTTCCAGGG AAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAC TAGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTG TGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAA CGCCAAGAACTCACTGTATCTACAAATGAAC AGCCTGAGAGCCGAGGACGCGGCCGTGTATC ACTGTGCGAGAGGTATACTGGAACAACTTC TACCACTACGTTTGGGCGTCTGGGGCCAAGG GACCACGGTCACCGTCTCCTCAG
246	4 1 3 G 0 5 - 完 全重鎖配 列	4 1 3 G 0 5 重鎖 のアミノ酸配列	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYY MSWIRQVPGKGLEWVSYISTSGSTIYYADSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDAAVYHCAR GITGTNFYHYGLGVWQGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 7 4】

247	4 1 3 G 0 5 - 完 全重鎖配 列	4 1 3 G 0 5 重鎖 の核酸配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTA CTACATGAGCTGGATCCGCCAGGTTCCAGGG AAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAC TAGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTG TGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAA CGCCAAGAAGTCACTGTATCTACAAATGAAC AGCCTGAGAGCCGAGGACGCGGCCGTGTATC ACTGTGCGAGAGGTATAACTGGAAGTAACTTC TACCACTACGGTTTGGGCGTCTGGGGCCAAGG GACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCAGCACCA AGGGCCCCCTCTGTGTTCCCTCTGGCCCCCTTC AGCAAGTCCACCTCTGGCGGAACAGCCGCTCT GGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGC CTGTGACCGTGTCTGGAAGTCTGGCGCTCTG ACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTGCTGTGCT GCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCG TCGTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGC CCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGA ACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTC CCCCTTGTCTGCCCCCTGAACTGCTGGGCGGA CCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAAGCCCAA GGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCGAA GTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGA GGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG GACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCA AGCCTAGAGAGGAACAGTACAAGTCCACCTA CCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGTCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTG CAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCA TCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCA GCCCCGGGAACCCAGGTGTACACACTGCCC CCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGG TGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTAC
-----	---------------------------------	-------------------------	---

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 7 5】

配列 番号	名称	説明	配列
			CCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAA CGGCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACCACC CCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTT CCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCC CGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTC CGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTAC ACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAA G
248	4 1 3 G 0 5 - C D R L 1 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 3 G 0 5 の C D R L 1 のアミ ノ酸配列	QGINSW
249	4 1 3 G 0 5 - C D R L 2 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 3 G 0 5 の C D R L 2 のアミ ノ酸配列	AAS
250	4 1 3 G 0 5 - C D R L 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 3 G 0 5 の C D R L 3 のアミ ノ酸配列	QQVNSFPLT
251	4 1 3 G 0 5 - C D R L 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 G 0 5 の C D R L 1 のア ミノ酸配列	RASQGINSWLA
252	4 1 3 G 0 5 - C D R L 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 G 0 5 の C D R L 2 のア ミノ酸配列	AASTLQS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 7 6】

配列 番号	名称	説明	配列
253	4 1 3 G 0 5 - C D R L 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 4 1 3 G 0 5 の C D R L 3 のア ミノ酸配列	QQVNSFPLT
254	4 1 3 G 0 5 - 軽 鎖可変領 域	4 1 3 G 0 5 の V L のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGINSWLA WYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGS GADFTLTISLQPEDFATYYCQQVNSFPLTFGGG TKVEIK
255	4 1 3 G 0 5 - 軽 鎖可変領 域	4 1 3 G 0 5 の V L の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGT GTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAACAGCTGG TTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAG CCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCACT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCG GCAGTGGGTCTGGGGCAGATTTCACTCTCACC ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTACTATTGTCAACAGGTAAACAGTTTCCCGC TCACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGAT CAAAC
256	4 1 3 G 0 5 - 完 全軽鎖配 列	4 1 3 G 0 5 軽鎖 のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGINSWLA WYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGS GADFTLTISLQPEDFATYYCQQVNSFPLTFGGG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 7 7】

配列 番号	名称	説明	配列
257	4 1 3 G 0 5 - 完 全軽鎖配 列	4 1 3 G 0 5 軽鎖 の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGT GTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAACAGCTGG TTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAG CCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCACT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCG GCAGTGGGTCTGGGGCAGATTTCACTCTCACC ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TACTATTGTCAACAGGTAAACAGTTTCCCGC TCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGAT CAAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCA TCTTCCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCC GGCACCGCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAA CTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGG AAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACT CCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAA GGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGA CCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA GGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGC CTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCG GGGCGAGTGT
258	4 1 3 F 0 9 - C DRH 1 (I M G T)	I M G T を使用し た 4 1 3 F 0 9 の C D R H 1 のアミ ノ酸配列	GFTFSYYA
259	4 1 3 F 0 9 - C DRH 2 (I M G T)	I M G T を使用し た 4 1 3 F 0 9 の C D R H 2 のアミ ノ酸配列	ISGGGGNT

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 7 8】

配列 番号	名称	説明	配列
260	4 1 3 F 0 9 - C D R H 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 3 F 0 9 の C D R H 3 のアミ ノ酸配列	AKDRMKQLVRAYYFDY
261	4 1 3 F 0 9 - C D R H 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 F 0 9 の C D R H 1 のア ミノ酸配列	YYAMS
262	4 1 3 F 0 9 - C D R H 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 F 0 9 の C D R H 2 のア ミノ酸配列	TISGGGGNTHYADSVKG
263	4 1 3 F 0 9 - C D R H 3 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 F 0 9 の C D R H 3 のア ミノ酸配列	DRMKQLVRAYYFDY
264	4 1 3 F 0 9 - 重 鎖可変領 域	4 1 3 F 0 9 の V H のアミノ酸配列	EVPLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYYA MSWVRQAPGKGLDWVSTISGGGGNTHYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYC AKDRMKQLVRAYYFDYWGQGTLVTVSS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 7 9】

配列 番号	名称	説明	配列
265	4 1 3 F 0 9 - 重 鎖可変領 域	4 1 3 F 0 9 の V II の核酸配列	GAGGTGCCGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCCTCTGGATTCACGTTTAGCTACTA TGCCATGAGCTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGG AAGGGGCTGGACTGGGTCTCAACTATTAGTG GTGGTGGTGGTAACACACACTACGCAGACTC CGTGAAGGGCCGATTCACTATATCCAGAGAC AATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCACATGAA CAGCCTGAGAGCCGAAGACACGGCCGTCTAT TACTGTGCGAAGGATCGGATGAAACAGCTCG TCCGGGCCTACTACTTTGACTACTGGGGCCAG GGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAG
266	4 1 3 F 0 9 - 完 全重鎖配 列	4 1 3 F 0 9 重鎖 のアミノ酸配列	EVPLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYYA MSWVRQAPGKGLDWVSTISGGGGNTHYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLHMNSLRAEDTAVYYC AKDRMKQLVRAYYFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHITCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 8 0】

267	4 1 3 F 0 9 - 完 全重鎖配 列	4 1 3 F 0 9 重鎖 の核酸配列	GAGGTGCCGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCCTCTGGATTACGTTTAGCTACTA TGCCATGAGCTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGG AAGGGGCTGGACTGGGTCTCAACTATTAGTG GTGGTGGTGGTAACACACACTACGCAGACTC CGTGAAGGGCCGATTCACTATATCCAGAGAC AATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCACATGAA CAGCCTGAGAGCCGAAGACACGGCCGTCTAT TACTGTGCGAAGGATCGGATGAAACAGCTCG TCCGGGCCTACTACTTTGACTACTGGGGCCAG GGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCAGCAC CAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCTCTGGCCCCCTT CCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGAACAGCCGC TCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCG AGCCTGTGACCGTGTCTTGAACTCTGGCGCT CTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTGCTGT GCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCT CCGTGCTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGC ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGT GGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACC TGTCCCCCTTGTCTGCCCCTGAACTGCTGGG CGGACCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCC GAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCA CGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTAC GTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGA CCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCAC CTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGC ACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAA GTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCC CCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGG CCAGCCCCGGGAACCCAGGTGTACACACTG CCCCCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACC AGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTC
-----	---------------------------------	-------------------------	---

10

20

30

40

【表 3 0 - 8 1】

配列 番号	名称	説明	配列
			TACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTC CAACGGCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACC ACCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATT CTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGT CCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGC TCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTA CACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCA AG
268	4 1 3 F 0 9 - C D R L 1 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 3 F 0 9 の C D R L 1 のアミ ノ酸配列	QDISTY
269	4 1 3 F 0 9 - C D R L 2 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 3 F 0 9 の C D R L 2 のアミ ノ酸配列	GTS
270	4 1 3 F 0 9 - C D R L 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 3 F 0 9 の C D R L 3 のアミ ノ酸配列	QQLHTDPIT
271	4 1 3 F 0 9 - C D R L 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 F 0 9 の C D R L 1 のア ミノ酸配列	WASQDISTYLG
272	4 1 3 F 0 9 - C D R L 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 3 F 0 9 の C D R L 2 のア ミノ酸配列	GTSSLQS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 8 2】

配列 番号	名称	説明	配列
273	4 1 3 F 0 9 - C D R L 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 4 1 3 F 0 9 の C D R L 3 のア ミノ酸配列	QQLHTDPIT
274	4 1 3 F 0 9 - 軽 鎖可変領 域	4 1 3 F 0 9 の V L のアミノ酸配列	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITTCWASQDISTYLG WYQQKPGKAPKLLIYGTSSLQSGVPSRFSGSGS GTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLHTDPITFGQG TRLEIK
275	4 1 3 F 0 9 - 軽 鎖可変領 域	4 1 3 F 0 9 の V L の核酸配列	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTTCCT GTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCTGGGCCAGTCAGGACATTAGCACTTAT TTAGGCTGGTATCAGCAAAAACCAGGGAAAG CCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTACATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCG GCAGTGGATCTGGGACAGAATTCCTCTCACA ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTATTACTGTCAACAGCTTCATACTGACCCGA TCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT CAAAC
276	4 1 3 F 0 9 - 完 全軽鎖配 列	軽鎖 4 1 3 F 0 9 のアミノ酸配列	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITTCWASQDISTYLG WYQQKPGKAPKLLIYGTSSLQSGVPSRFSGSGS GTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLHTDPITFGQG TRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 8 3】

配列 番号	名称	説明	配列
277	4 1 3 F 0 9－完 全軽鎖配 列	4 1 3 F 0 9 軽鎖 の核酸配列	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTTCCT GTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGCTGGGCCAGTCAGGACATTAGCACTTAT TTAGGCTGGTATCAGCAAAAACCAGGGAAAG CCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTACATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCG GCAGTGATCTGGGACAGAATTCACCTCTCACA ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTATTACTGTCAACAGCTTCATACTGACCCGA TCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT CAAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCA TCTTCCCACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCC GGCACCGCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAA CTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGG AAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACT CCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAA GGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGA CCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAA GGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGC CTGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCG GGGCGAGTGT
278	4 1 4 B 0 6－C DRH1 (IMG T)	IMG Tを使用し た4 1 4 B 0 6の CDRH1のアミ ノ酸配列	GFTFSSYW
279	4 1 4 B 0 6－C DRH2 (IMG T)	IMG Tを使用し た4 1 4 B 0 6の CDRH2のアミ ノ酸配列	IKQDGSEK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 8 4】

配列 番号	名称	説明	配列
280	4 1 4 B 0 6 - C D R H 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 4 B 0 6 の C D R H 3 のアミ ノ酸配列	ARVRQWSDYSDY
281	4 1 4 B 0 6 - C D R H 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 4 B 0 6 の C D R H 1 のア ミノ酸配列	SYWMN
282	4 1 4 B 0 6 - C D R H 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 4 B 0 6 の C D R H 2 のア ミノ酸配列	NIKQDGSEKYYVDSVKG
283	4 1 4 B 0 6 - C D R H 3 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 4 B 0 6 の C D R H 3 のア ミノ酸配列	VRQWSDYSDY
284	4 1 4 B 0 6 - 重 鎖可変領 域	4 1 4 B 0 6 の V H のアミノ酸配列	EVHLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYW MNWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSV KGRFTVSRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARVRQWSDYSDYWGQGTPVTVSS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 8 5】

配列 番号	名称	説明	配列
285	4 1 4 B 0 6 - 重 鎖可変領 域	4 1 4 B 0 6 の V II の核酸配列	GAGGTGCACCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGTAGCTA TTGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGG AAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATAAAGC AAGATGGAAGTGAGAAATACTATGTGGACTC TGTGAAGGGCCGCTTCACCGTCTCCAGAGACA ACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAATGAA CAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTAT TACTGTGCGAGAGTTCGACAATGGTCCGACTA CTCTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCGGTC ACCGTCTCCTCAG
286	4 1 4 B 0 6 - 完 全重鎖配 列	4 1 4 B 0 6 重鎖 のアミノ酸配列	EVHLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYW MNWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSV KGRFTVSRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARVRQWSDDYSDYWGQGPVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHREALHNYHTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 8 6】

287	4 1 4 B 0 6 - 完 全重鎖配 列	4 1 4 B 0 6 重鎖 の核酸配列	GAGGTGCACCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCT TGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC TGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGTAGCTA TTGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGG AAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCAACATAAAGC AAGATGGAAGTGAGAAATACTATGTGGACTC TGTGAAGGGCCGCTTCACCGTCTCCAGAGACA ACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAA CAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTAT TACTGTGCGAGAGTTCGACAATGGTCCGACTA CTCTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCGGTC ACCGTCTCCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCTC TGTGTTCCCTCTGGCCCCCTCCAGCAAGTCCA CCTCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTC GTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGT GTCCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACCAGCGGAG TGCACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGTCCTCC GGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTCGTGACCGT GCCTTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACC AAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCT GCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCT GCCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTT CCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGA TGATCTCCCGGACCCCGAAGTGACCTGCGTG GTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAG TGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGA AGTGCAACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAG GAACAGTACAACCTCACCTACCGGGTGGTGTC CGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGA ACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAA CAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACC ATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAAC CCCAGGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGA CGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACC TGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATAT
-----	---------------------------------	-------------------------	--

10

20

30

40

【表 3 0 - 8 7】

配列 番号	名称	説明	配列
			CGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCT GAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCTGTGC TGGACTCCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGC AAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGC AGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGT CCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAAG
288	4 1 4 B 0 6 - C D R L 1 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 4 B 0 6 の C D R L 1 のアミ ノ酸配列	QGISSW
289	4 1 4 B 0 6 - C D R L 2 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 4 B 0 6 の C D R L 2 のアミ ノ酸配列	AAS
290	4 1 4 B 0 6 - C D R L 3 (I M G T)	I M G Tを使用し た 4 1 4 B 0 6 の C D R L 3 のアミ ノ酸配列	QQANSFPFT
291	4 1 4 B 0 6 - C D R L 1 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 4 B 0 6 の C D R L 1 のア ミノ酸配列	RASQGISSWLA
292	4 1 4 B 0 6 - C D R L 2 (K a b a t)	K a b a tを使用 した 4 1 4 B 0 6 の C D R L 2 のア ミノ酸配列	AASSLQS

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 8 8】

配列 番号	名称	説明	配列
293	4 1 4 B 0 6 - C D R L 3 (K a b a t)	K a b a t を使用 した 4 1 4 B 0 6 の C D R L 3 のア ミノ酸配列	QQANSFPFT
294	4 1 4 B 0 6 - 軽 鎖可変領 域	4 1 4 B 0 6 の V L のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLA WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPFTFGPG TKVDIK
295	4 1 4 B 0 6 - 軽 鎖可変領 域	4 1 4 B 0 6 の V L の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGT GTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGG TTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAG CCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCG GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACC ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTTTCCCAT TCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAAC
296	4 1 4 B 0 6 - 完 全軽鎖配 列	4 1 4 B 0 6 軽鎖 のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLA WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPFTFGPG TKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 8 9】

配列 番号	名称	説明	配列
297	4 1 4 B 0 6 - 完 全軽鎖配 列	4 1 4 B 0 6 軽鎖 の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGT GTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCA CTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGG TTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAG CCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCG GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACC ATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAAC TTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTTTCCCAT TCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATC AAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCAT CTTCCCACCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCG GCACCGCTTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAAC TTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGA AGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTC CCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAG GACAGCACCTACTCCCTGTCCTCCACCCTGAC CCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAG GTGTACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCC TGTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACCGG GGCGAGTGT
298	変異 1 D 0 5 - L C 変異体 3	強調された C D R L 2 への、V から Y の変異を有する 1 D 0 5 カッパ軽 鎖のアミノ酸配列	DTQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYINWYQQKPKAPKLLI YYASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISGLQPEDFATYYCQQSYSTPI TFGQCTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSISSYINWYQQKPKAPKLLI ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
299	1 D 0 5 一重鎖欠 損 I g G 1 F c	1 D 0 5 の I g G 1 欠損変異型のア ミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQVPGKGLEWV SGISWIRTGIGYADSVKGRFTIFRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC AKDMKGGSTYGGWFDITWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEEKSCDKHTCTCPCPAPEL AGAPSVFIFPPKPKDTLMISSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP PISEKTLISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

【表 3 0 - 9 0】

配列 番号	名称	説明	配列
300	1 D 0 5 ー軽鎖 I Lー2 融 合	野生型ヒト I Lー 2 配列に融合した 1 D 0 5 軽鎖配列 (I Lー2 アミノ 酸に下線が引か れ、変異される領 域は太字で示され る)	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGAPKLLI YVASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISISLOPEDPATVYCCQOSYSTFI TFGQGTRLLEIKRTVAAPSVFIEPPSDEQIKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLN GINNYKNPKLTRMLTFKFFMPKKATELKHLQCLEFEELKPIEEVINLAQ SKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVESFLNRWT TFCQSIISTLT
301	ヒト I L ー2	Uniprot 番 号: ヒト I Lー2 の P 6 0 5 6 8 全 長アミノ酸配列 (シグナル配列を 除く)	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLN GINNYKNPKLTRMLTFKFFMEK KATELKHLQCLEFEELKPIEEVINLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVESFLNRWTFCQSIISTLT
302	対照 1 D 0 5 免疫 サイトカ イン HC C 末端融 合	N 末端で野生型ヒ ト I L 2 配列 (対 照) に融合した重 鎖 1 D 0 5 I g G 1 変異型	EVQLVESGGGLVQPGSRSLRLSCAASGFTFEDDYAMHWVRQVPGKLEWV SGISWIRTGIGYADSVKGRETIFRQNAKNSLYLQMNLSRAEDTALYYC AKOMKGGSTYGGWEDTWGQGTIVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTISGVHTFEAVLQSSGLYSLSVY TVPSSSLGTQTYICNVNHKESNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPDPCPAPEL AGAPSVPLFPPEKPKDTLMISRTFEVTCVVDVSHEDPEVKENWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VFWESNGQPENNYKITPPVLDSDGSSFFLYSKITVDKSRWQQGNVFCSS VMHFRATLNHYTKSLSTSPGKAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDIQTITNG INNYKNPKLTRMLTFKFFMPKKATELKHLQCLEFEELKPIEEVINLAQ SKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVESFLNRWT FCQSIISTLT
303	I Lー2 D 5ー9	I Lー2 I C 4 5 (欠失 5~9) N 末端 I Lー2 配 列	APTSTQLQLEHLLLD
304	I Lー2 D 1ー9	I Lー2 I C 4 6 (欠失 1~9) N 末端 I Lー2 配 列	TQLQLEHLLLD
305	I Lー2 D 5ー7	I Lー2 I C 6 4 (欠失 5~7) N 末端 I Lー2 配 列	APTSSKKTQLQLEHLLLD

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 9 1】

配列 番号	名称	説明	配列
306	I L - 2 D 1	I L - 2 D 1 N 末端 I L - 2 配 列	PTSSSTKKTQLQLEHLLD
307	I L - 2 D 1 - 2	I L - 2 D 1 - 2 N 末端 I L - 2 配列	TSSSTKKTQLQLEHLLD
308	I L - 2 D 1 - 3	I L - 2 D 1 - 3 N 末端 I L - 2 配列	SSSTKKTQLQLEHLLD
309	I L - 2 D 1 - 4	I L - 2 D 1 - 4 N 末端 I L - 2 配列	SSTKKTQLQLEHLLD
310	I L - 2 D 1 - 5	I L - 2 D 1 - 5 N 末端 I L - 2 配列	STKKTQLQLEHLLD
311	I L - 2 D 1 - 6	I L - 2 D 1 - 6 N 末端 I L - 2 配列	TKKTQLQLEHLLD
312	I L - 2 D 1 - 7	I L - 2 D 1 - 7 N 末端 I L - 2 配列	KKTQLQLEHLLD
313	I L - 2 D 1 - 8	I L - 2 D 1 - 8 N 末端 I L - 2 配列	KTQLQLEHLLD
314	I L - 2 D 9	I L - 2 D 9 N 末端 I L - 2 配 列	APTSSSTKTQLQLEHLLD
315	I L - 2 D 9 - 8	I L - 2 D 9 - 8 N 末端 I L - 2 配列	APTSSSTTQLQLEHLLD
316	I L - 2 D 9 - 7	I L - 2 D 9 - 7 N 末端 I L - 2 配列	APTSSSTQLQLEHLLD

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 9 2】

配列 番号	名称	説明	配列
317	I L - 2 D 9 - 6	I L - 2 D 9 - 6 N 末端 I L - 2 配列	APTSSTQLQLEHLLLD
318	I L - 2 D 9 - 4	I L - 2 D 9 - 4 N 末端 I L - 2 配列	APTTQLQLEHLLLD
319	I L - 2 D 9 - 3	I L - 2 D 9 - 3 N 末端 I L - 2 配列	APTQLQLEHLLLD
320	I L - 2 D 9 - 2	I L - 2 D 9 - 2 N 末端 I L - 2 配列	ATQLQLEHLLLD
321	I L - 2 D 2 - 6	I L - 2 D 2 - 6 N 末端 I L - 2 配列	ATKKTQLQLEHLLLD
322	I L - 2 D 3 - 7	I L - 2 D 3 - 7 N 末端 I L - 2 配列	APKKTQLQLEHLLLD
323	I L - 2 D 4 - 8	I L - 2 D 4 - 8 N 末端 I L - 2 配列	APTKTQLQLEHLLLD
324	h I L - 2 の C 末 端 アミノ 酸配列	h I L - 2 の アミ ノ 酸 2 1 ~ 1 3 3	LQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATEL KHLQCLEEEELKPLEEVNLNAQSKNFHLRPRDLIS NINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRW ITFCQSIISTLT
325	マウス P D - L 1	U n i p r o t 番 号 : Q 9 E P 7 3 (E C D が 太 字 で 強調され、細胞質 ドメインに下線が 引かれている)	MRIFAGIIIFTACCHLLRAFTITAPKDLIVVEYGSNVITMECRFFVEREL DLLALVVIWEKEDEQVIQFVAGEEDLKQHSNFRGRASLPKDQLLKGN AALQITDVLQDAGVYCCIIISYGGADYKRITLKVNAFYRKINQRIISVD PATSEHELICQAEGYFEAEVIWINSQDHQFVSGKRSVTTSTRTEGMLLN VTSILRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNHTAELIIPELPATHFPQNRTHW VLLGSILLEFLIVVSTVLLFNRKQVRMLDVEKCGVETSSKNRNDTQFE ET

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 9 3】

配列 番号	名称	説明	配列
326	マウス P D-L1 ECD His	his タグを有するマウス P D-L1 細胞外ドメイン	FTITAPKDLVVEYGSNVTMECKFPVERELDLAI.VVYWEKEDEQV...Q: FVAGEEDLKPKQHSNFRGRASLPKDQLLKGNALQITIDVKLQDAGVYCC ITSYGGADYKRITLKVNAPYRKINQKISVDFAITSEHELICQAEGYPEA. EVIWTNSDFQPVSGKRSVTTSRTESMLNVTSSLRVNATANDVFYCTF' WRSQPGQNETAELIIPELPETHPPQNRTHHHHHH
327	ヒト IL-2 R α 鎖	ヒト IL-2 受容体アルファ鎖	ELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKR GFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSA TRNTTKQVTPQPEEQKERKTTEMQSPMQPVDQ ASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYY QCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTRWTQPQ LICTGEMETSQFPGECKPQASPEGRPESETSCLV TTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQVAVAGCVF LLISVLLLSGLTWQRRQRKSRRTI
328	ヒト IL-2 R β 鎖	ヒト IL-2 受容体ベータ鎖	AVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSC QVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILG APDSQKLT TVDIVTLRVLCREGVRWRVMAIQDF KPFENLR LMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQAS HYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQE WICLET LTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWS QPLAFRTKPAALGKDTIPWLGHLLVGLSGAFGFI ILVYLLINCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFSQL SSEHGGDVQKWLSSFPSSSFSPGGLAPEISPLEV LERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLSCTFTN QGYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEG VAGAPTGSSPQLQPLSGEDDAYCTFPSRDDLLL FSPSLLGGSPSPSTAPGGSGAGEERMPPSLQERV PRDWDQPQLGPPTPGVPDLVDFQPPPELVLREA GEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEFRALNARL PLNTDAYLSLQELQGQDPTHLV

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 9 4】

配列 番号	名称	説明	配列
329	ヒト I L - 2 R γ 鎖	ヒト I L - 2 受容 体共通ガンマ鎖	LNTTILTPNGNEDTTADFFLTMTPTDSLVSSTLP LPEVQCFVFVNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLT LHYWYKNSDNDKVQKCSHYLFSEEITSGCQLQKKEI HLYQTFVVLQDPREPRRQATQMLKLQNLVIP WAPENLT LHKLSESQLELNWNNRFLNHCLEHL VQYRTDWDHSWTEQSV DYRHKFSLPSVDGQK RYTFRVRSRFNPLCGSAQHWSEWSHPIHWGSNT SKENPFLFALEAVVISVGSMGLIISLLCVYFWLE RTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNFSAWSGVSKGL AESLQPDYSERLCLVSEIPP KGGALGEGPGASPC NQHSPYWAPPCYTLKPET
330	I L - 7	ヒト I L - 7 アミ ノ酸配列	DCDIEGKDGKQYESVLMV SIDQLLD SMKEIGSN CLNNEFNFFKR HICDANKEGMFLFRAARKLRQF LKMNSTGDFDLHLLKVSE GTTILLNCTGQVKGR KPAALGEAQPTKSLEENK SLKEQKKLNDLCFLK RLLQEIKTCWNKILMG TKEH
331	I L - 1 5	ヒト I L - 1 5 ア ミノ酸配列	GIHVFILGCFSAGLPKTEANWVN VISDLKKIEDLI QSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMK CFLLELQV ISLESGDASIHD TVENLIILANNSLSSNGNV TESG CKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQ MFINTS
332	I L - 2 1	ヒト I L - 2 1 ア ミノ酸配列	QGQDRHMIRMRLIDIVDQLKNYV NDLVPEFLP APEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKS ANTGNNERI INVSIIKKLKRKPPSTNAGRRQKH RLTCPSCDSYE KKPPKEFLERFKSLLQKMIHQH LSSRTHGSEDS
333	GM - C S F	ヒト GM - C S F アミノ酸配列	APARSPSPSTQPWEHVNAIQEAR LLNLSRDTA AEMNETVEVISEMFDLQEPTCLQ TRLELYKQGL RGS�TKLKGPLTMMASHYKQHCP PTPETSCATQ IITFESFKENLKD FLLVIPFDCWEPVQE

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 9 5】

配列 番号	名称	説明	配列
334	I F N α	ヒト I F N - α ア ミノ酸配列	CDLPQNHGLLSRNTLVLLHQMRRISPFLCLKDR RDFRFPQEMVKGSQQLQKAHVMSVLHEMLQQIF SLFHTERSSAAWNMTLLDQLHTELHQQLQHLE TCLLQVVGESESAGAISSPALTLRRYFQGIRVYL KEKKYSDCAWEVVRMEIMKSLFLSTNMQERLR SKDRDLGS
335	T N F α	ヒト T N F - α ア ミノ酸配列の細胞 外部分	GPQREEFPRDLSLISPLAQAVRSSRTPSDKPVA HVVANPQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRD NQLVVPSEGLYLIYSQVLFKGQGCPSHVLTH TISRIVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKP WYEPIYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAE SGQVYFGIHAL
336	I L - 1 2 α	ヒト I L - 1 2 ア ミノ酸配列のアル ファ鎖	RNLPVATPDPMFPCLLHHSQNLLRAVSNNMLQK ARQTLEFYPTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPL ELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMAL CLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFL DQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDF YKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS
337	I L - 1 2 β	ヒト I L - 1 2 ア ミノ酸配列のベータ鎖	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPE EDGITWTLDSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQ YTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQ KEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWTITSTDLT FSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKE YEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLK YENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEV SWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKK DRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSW SEWASVPCS
338	C X C L 9	ヒト C X C L - 9 アミノ酸配列	TPVVRKGRCSCISTNQGTIHLQSLKDLKQFAPSP SCEKIEIATLKNGVQTCLNPDSADVKELIKKE KQVSQKKKQKNGKKHQKKKVLKVRKSQRSRQ KKT

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 9 6】

配列 番号	名称	説明		配列
339	C X C L 1 0	ヒト C X C L - 1 0 アミノ酸配列		VPLSRTVRC TCISISNQPVNPRSLEKLEIIPASQFC PRVEIIATM KKKGKRC LNPE SKAIKNLLKAVS KERSKRSP
340	ヒト WT I g G 1 定常領域	I G H G 1 * 0 1 & I G H G 1 * 0 2 & I G H G 1 * 0 5 (I g G 1)	WT ヒト I g G 1 アミノ酸 配列	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG K

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 9 7】

配列 番号	名称	説明	配列
341		WT ヒト IgG1 核酸配列	GCCAGCACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCTCT GGCCCCCTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGAA CAGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTAC TTCCCCGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAACCTC TGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCACACCTTCC CTGCTGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCC CTGTCTCCGTCGTGACCGTGCCTTCCAGCTC TCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGA ACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAA GAAGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACC CACACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCCCTGAACT GCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTCCTCC CAAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCG GACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGAT GTGTCCACGAGGACCTGAAGTGAAGTTCA ATTGGTACGTGGACGGCGTGAAGTGCACAA CGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTAC AACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGAC CGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAA GAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCC TGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCCAAG GCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCAGGTGT ACACACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGA AAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAA TGGGAGTCCAACGGCCAGCCTGAGAACAAC ACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCGAC GGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGT GGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTG TTCTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCA CAACCACTACACCAGAAAGTCCCTGTCCCTGA GCCCCGCAAGTGATGA

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 9 8】

配列 番号	名称	説明	配列
342	変異 1 D 0 5 - H C 変異体 2	I g G 1 欠損 (L A G A) 定常領域 で強調された生殖 細胞系への、フレ ームワーク領域に おける V から A お よび F から S の復 帰変異を有する 1 D 0 5 重鎖のアミ ノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGASLRLSCAASGFTTDDYAMHWVRQAPGKGLEWV SGISWIRTGIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYIQMNSLRVEDTALYYC AKDMKGSSTYGGWFDTWGQGTLDVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTSTYTCNVDHKEPSNTKVDKRVESKYGFPCPPCPAPELAGA PSVPLEPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNNYVDDVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLIHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDDKSRWQEGKVVFSCSVMH FALHNHYTQKSLSLSLGGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 1】

表 S 2. 配列番号 3 4 2 ~ 5 3 8

配列 番号	名称	説明	配列
343	4 1 6 E 0 1 - C D R H 1 (I M G T)	I M G T を使用した 4 1 6 E 0 1 の C D R H 1 のアミノ酸配 列	GFTFSNYA
344	4 1 6 E 0 1 - C D R H 2 (I M G T)	I M G T を使用した 4 1 6 E 0 1 の C D R H 2 のアミノ酸配 列	ISFSGGTT
345	4 1 6 E 0 1 - C D R H 3 (I M G T)	I M G T を使用した 4 1 6 E 0 1 の C D R H 3 のアミノ酸配 列	AKDEAPAGATFFDS
346	4 1 6 E 0 1 - C D R H 1 (K a b a t)	K a b a t を使用し た 4 1 6 E 0 1 の C D R H 1 のアミノ酸 配列	NYAMS
347	4 1 6 E 0 1 - C D R H 2 (K a b a t)	K a b a t を使用し た 4 1 6 E 0 1 の C D R H 2 のアミノ酸 配列	AISFSGGTTYADSVKG
348	4 1 6 E 0 1 - C D R H 3 (K a b a t)	K a b a t を使用し た 4 1 6 E 0 1 の C D R H 3 のアミノ酸 配列	DEAPAGATFFDS
349	4 1 6 E 0 1 - 重鎖可 変領域	4 1 6 E 0 1 の V _H のアミノ酸配列 (生 殖細胞系からの変異 は太字で示される)	EVQLA ES GGGLVQPGGSLRLS CAAS GF TF SNYAMSWVRQ TP GK GLE W VSAT SF SGG TTY ADSVK R FTISRDN SK NTLY LHM NSLR ADDTA VYYCA KDA PA GAT FFDS WG QG TLVTVSS

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 2】

配列 番号	名称	説明	配列
350	4 1 6 E 0 1 - 重鎖可 変領域	4 1 6 E 0 1 の V _H の核酸配列	GAAGTGCAACTGGCGGAGTCTGGGGGAG GCTTGGTACAGCCGGGGGGTCCCTGAG ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCT TTAGCAACTATGCCATGAGTTGGGTCCGC CAGACTCCAGGAAAGGGGCTGGAGTGGG TCTCAGCTATTAGTTTTAGTGGTGGTACT ACATACTACGCTGACTCCGTGAAGGGCCG GTTCAACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGA ACACGCTGTATTTGCACATGAACAGCCTG AGAGCCGATGACACGGCCGTATATTACTG TGCGAAAGATGAGGCACCAGCTGGCGCA ACCTTCTTTGACTCCTGGGGCCAGGGAAC GCTGGTCACCGTCTCCTCAG
351	4 1 6 E 0 1 - 完全重 鎖配列	4 1 6 E 0 1 重鎖の アミノ酸配列	EVQLAESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYAMSWVRQTPGKGLEWVSAISFSGGTTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLHMNSLRAD DTAVYYCAKDEAPAGATFFDSWGQGLVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKYTCNV DHP SNTKVDKR VESKYGPPCPPAPEFEGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSL GK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 3】

352	4 1 6 E O 1 - 完全重 鎖配列	4 1 6 E O 1 重鎖の 核酸配列	GAAGTGCAACTGGCGGAGTCTGGGGGAG GCTTGGTACAGCCGGGGGGTCCCTGAG ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCT TTAGCAACTATGCCATGAGTTGGGTCCGC CAGACTCCAGGAAAGGGGCTGGAGTGGG TCTCAGCTATTAGTTTTAGTGGTGGTACT ACATACTACGCTGACTCCGTGAAGGGCCG G TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGA ACACGCTGTATTTGCACATGAACAGCCTG AGAGCCGATGACACGGCCGTATATTACTG TGCGAAAGATGAGGCACCAGCTGGCGCA ACCTTCTTTGACTCCTGGGGCCAGGGAAC GCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCAGCACCA AGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCT TGCAGCAGGAGCACCTCCGAATCCACAG CTGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTAC TTTCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAA CAGCGGCGCTCTGACATCCGGCGTCCACA CCTTTCCTGCCGTCTGCAGTCCCTCCGGC CTCTACTCCCTGTCTCCGTGGTGACCGT GCCTAGCTCCTCCCTCGGCACCAAGACCT ACACCTGTAACGTGGACCACAAACCCTCC AACACCAAGGTGGACAAACGGGTCGAGA GCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGT CCTGCCCCCGAGTTCGAAGGCGGACCCA GCGTGTTCTGTTCCTCCTAAGCCCAAG GACACCCTCATGATCAGCCGGACACCCG AGGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGAG CCAGGAGGACCCTGAGGTCCAGTTCAACT GGTATGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAA CGCCAAGACAAAGCCCCGGGAAGAGCAG TTCAACTCCACCTACAGGGTGGTCAGCGT GCTGACCGTGCTGCATCAGGACTGGCTGA ACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCAG CAATAAGGGACTGCCCAGCAGCATCGAG AAGACCATCTCCAAGGCTAAAGGCCAGC
-----	-----------------------------	-------------------------	--

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 4】

配列 番号	名称	説明	配列
			CCCGGGAACCTCAGGTGTACACCCTGCCT CCCAGCCAGGAGGAGATGACCAAGAACC AGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGG ATTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACAA TTATAAGACCACCCCTCCCGTCCTCGACA GCGACGGATCCTTCTTTCTGTACTCCAGG CTGACCGTGGATAAGTCCAGGTGGCAGG AAGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATG CACGAGGCCCTGCACAATCACTACACCCA GAAGTCCCTGAGCCTGTCCCTGGGAAAG
353	4 1 6 E 0 1 - C D R L 1 (I M G T)	I M G Tを使用した 4 1 6 E 0 1 の C D R L 1 のアミノ酸配 列	QGIRRW
354	4 1 6 E 0 1 - C D R L 2 (I M G T)	I M G Tを使用した 4 1 6 E 0 1 の C D R L 2 のアミノ酸配 列	GAS
355	4 1 6 E 0 1 - C D R L 3 (I M G T)	I M G Tを使用した 4 1 6 E 0 1 の C D R L 3 のアミノ酸配 列	QQANSFPIT
356	4 1 6 E 0 1 - C D R L 1 (K a b a t)	K a b a tを使用し た 4 1 6 E 0 1 の C D R L 1 のアミノ酸 配列	RASQGIRRWLA
357	4 1 6 E 0 1 - C D R L 2 (K a b a t)	K a b a tを使用し た 4 1 6 E 0 1 の C D R L 2 のアミノ酸 配列	GASSLQS

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 5】

配列 番号	名称	説明	配列
358	4 1 6 E 0 1 - C D R L 3 (K a b a t)	K a b a t を使用し た 4 1 6 E 0 1 の C D R L 3 のアミノ酸 配列	QQANSFPIT
359	4 1 6 E 0 1 - 軽鎖可 変領域	4 1 6 E 0 1 の V _L のアミノ酸配列 (生 殖細胞系からの変異 は太字で示される)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGI RR WLA WY Q Q KPGKAPKL LI SC ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL I ITSLQPEDFATYYCQQAN SFPITFGQGT RL EIK
360	4 1 6 E 0 1 - 軽鎖可 変領域	4 1 6 E 0 1 の V _L の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTC CGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCA CCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATT AGGAGGTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGA AACCAGGGAAAGCCCCTAAACTCCTGAT CTCTGGTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGG TCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCT GGGACAGATTTCACTCTCATCATTACCAG TCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACT ATTGTCAACAGGCTAACAGTTTCCCGATC ACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGA TCAAAC
361	4 1 6 E 0 1 - 完全軽 鎖配列	4 1 6 E 0 1 軽鎖の アミノ酸配列	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIRR WLA WY Q Q KPGKAPKLLISGASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTL I ITSLQPEDFATYYCQQAN SFPITFGQGT RL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 6】

配列 番号	名称	説明	配列
362	4 1 6 E 0 1 - 完全軽 鎖配列	4 1 6 E 0 1 軽鎖の 核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTC CGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCA CCATCACTTGTCTGGGCGAGTCAGGGTATT AGGAGGTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGA AACCAGGGAAAGCCCCCTAAACTCCTGAT CTCTGGTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGG TCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCT GGGACAGATTTCACTCTCATCATTACCAG TCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACT ATTGTCAACAGGCTAACAGTTTCCCGATC ACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGA TCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTG TTCATCTTCCCACCTTCCGACGAGCAGCT GAAGTCCGGCACCGCTTCTGTCGTGTGCC TGCTGAACAACCTTCTACCCCCGCGAGGCC AAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCC TGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTG ACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT ACTCCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCC AAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGT ACGCCTGCGAAGTGACCCACCAGGGCCT GTCTAGCCCCGTGACCAAGTCTTTCAACC GGGGCGAGTGT
363	S T I M 0 0 1 - C D R H 1	I M G Tを使用した S T I M 0 0 1のC D R H 1のアミノ酸 配列	GYTFSTFG
364	S T I M 0 0 1 - C D R H 2	I M G Tを使用した S T I M 0 0 1のC D R H 2のアミノ酸 配列	ISAYNGDT

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 7】

配列 番号	名称	説明	配列
365	STIM0 01-CD RH3	IMGTを使用した STIM001のC DRH3のアミノ酸 配列	ARSSGHYYYYGMDV
366	STIM0 01-重鎖 可変領域	STIM001のV _{H1} のアミノ酸配列	QVQVVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF STFGITWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGDT NYAQNLQGRVIMTTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARSSGHYYYYGMDVWGQGT VTVSS
367	STIM0 01-重鎖 可変領域	STIM001のV _{H1} の核酸配列	CAGGTTTCAGGTGGTGCAGTCTGGAGCTGA GGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAG GTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTT TTCCACCTTTGGTATCACCTGGGTGCGAC AGGCCCTGGACAAGGGCTTGAATGGAT GGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTGAC ACAACTATGCACAGAATCTCCAGGGCA GAGTCATCATGACCACAGACACATCCAC GAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGC CTGAGATCTGACGACACGGCCGTTTATTA CTGTGCGAGGAGCAGTGGCCACTACTACT ACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGG GACCACGGTCACCGTCTCCTCA

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 8】

配列 番号	名称	説明	配列
368	STIM0 01ー完全 重鎖配列	STIM001重鎖 のアミノ酸配列	QVQVVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF STFGITWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGDT NYAQNQLQGRVIMTTDTSTSTAYMELRSLRS DDTAVYYCARSSGHYYYYGMDVWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 9】

369	STIM0 01ー完全 重鎖配列	STIM001重鎖 の核酸配列	CAGGTTTCAGGTGGTGCAGTCTGGAGCTGA GGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAG GTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTT TTCCACCTTTGGTATCACCTGGGTGCGAC AGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAATGGAT GGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTGAC ACAAACTATGCACAGAATCTCCAGGGCA GAGTCATCATGACCACAGACACATCCAC GAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGC CTGAGATCTGACGACACGGCCGTTTATTA CTGTGCGAGGAGCAGTGGCCACTACTACT ACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGG GACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCAGCA CCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCTCTGGCC CCTTCCAGCAAGTCCACCTCTGGCGGAAC AGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACT ACTTCCCCGAGCCTGTGACCGTGTCTGG AACTCTGGCGCTCTGACCAGCGGAGTGCA CACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGTCCTCCG GCCTGTACTCCCTGTCTCCGTCGTGACC GTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCACCCAGAC CTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCT CCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGA ACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCT GTCCCCCTTGCTCTGCCCTGAACTGCTG GGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTCCCCC AAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCC GGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGT GGATGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTG AAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGG AAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAG AGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGG GTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGACCA GGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAG TGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGC CCCCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCC
-----	------------------------	--------------------	--

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 1 0】

配列 番号	名称	説明	配列
			AAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCAGGTGT ACACACTGCCCCCTAGCAGGGACGAGCT GACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTC TCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATC GCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGC CTGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCT GTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCCT GTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCC CGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTG CTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAAGTCCCTGTCCCTGAGC CCCGGCAAGTGATGA
370	STIM0 01-CD RL1	IMGTを使用した STIM001のC DRL1のアミノ酸 配列	QSLLSNEYNY
371	STIM0 01-CD RL2	IMGTを使用した STIM001のC DRL2のアミノ酸 配列	LGS
372	STIM0 01-CD RL3	IMGTを使用した STIM001のC DRL3のアミノ酸 配列	MQSLQTPLT
373	STIM0 01-軽鎖 可変領域	STIM001のV Lのアミノ酸配列	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLS NEYNYLDWYLQKPGQSPQLLIFLGSNRASG VPDRFSGSGSGTDFTLKITRVEAEDVGIYYC MQSLQTPLTFGGGTKVEIK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 1 1】

配列 番号	名称	説明	配列
374	STIM0 01-軽鎖 可変領域	STIM001のV Lの核酸配列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTC CCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCT CCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTC CTGCATAGTAATGAATACAACATTTGGA TTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTTTTTGGGTTCTAATC GGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCACT GGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACT GAAAATCACCAGAGTGGAGGCTGAGGAT GTTGGAATTTATTACTGCATGCAATCTCT ACAACTCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTGGAGATCAAA
375	STIM0 01-完全 軽鎖配列	STIM001軽鎖 のアミノ酸配列	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHS NEYNYLDWYLQKPGQSPQLLIFLGSNRASG VPDRFSGSGSGTDFTLKITRVEAEDVGIYYC MQSLQTPLTFGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 1 2】

配列 番号	名称	説明	配列
376	STIM0 01－完全 軽鎖配列	STIM001 軽鎖 の核酸配列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTC CCTGCCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCT CCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTC CTGCATAGTAATGAATACAACATTTTGGGA TTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTTTTTTGGGTTCCTAATC GGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTTCAGT GGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACT GAAAATCACCAGAGTGGAGGCTGAGGAT GTTGGAATTTATTACTGCATGCAATCTCT ACAAACTCCGCTCACTTTTCGGCGGAGGGA CCAAGGTGGAGATCAAAcgtacggtggccgctccc tccgtgttcattctccacctccgacgagcagtggaagtcggcac cgcttctgtcgtgtgcctgtgaacaactctacccccgcgagggcca aggtgcagtggaaggtggacaacgcctgcagtcggcaactccc aggaatccgtgaccgagcaggactccaaggacagcacctactccc tgtctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcaca aggtgtacgcctgcgaagtgaccaccagggcctgtctagccccgt gaccaagtcttcaaccggggcgagtg
377	STIM0 02－CD RH1	IMGTを使用した STIM002のC DRH1のアミノ酸 配列	GYTFTSYG
378	STIM0 02－CD RH2	IMGTを使用した STIM002のC DRH2のアミノ酸 配列	ISAYNGNT
379	STIM0 02－CD RH3	IMGTを使用した STIM002のC DRH3のアミノ酸 配列	ARSTYFYGSGTLYGMDV

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 1 3】

配列 番号	名称	説明	配列
380	STIM0 02－重鎖 可変領域	STIM002のV _H のアミノ酸配列	QVQLVQSGGEVKKPGASVKVSCKASGYTF TSYGFSWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGN TNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARSTYFYGSGTLYGMDVW GQGTTVTVSS
381	STIM0 02－重鎖 可変領域	STIM002のV _H の核酸配列	CAGGTTCAACTGGTGCAGTCTGGAGGTGA GGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAG GTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTT TACCAGCTATGGTTTCAGCTGGGTGCGAC AGGCCCTGGACAAGGACTAGAGTGGAT GGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAAC ACAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCA GAGTCACCATGACCACAGACACATCCAC GAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGC TTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTA CTGTGCGAGATCTACGTATTTCTATGGTT CGGGGACCCTCTACGGTATGGACGTCTGG GGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTC A

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 1 4】

配列 番号	名称	説明	配列
382	STIM0 02－完全 重鎖配列	STIM002重鎖 のアミノ酸配列	QVQLVQSGGEVKKPGASVKVSCKASGYTF TSYGFSWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGN TNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARSTYFYGSGTLYGMDVW GQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 1 5】

383	STIM0 02－完全 重鎖配列	STIM002重鎖 の核酸配列	CAGGTTCAACTGGTGCAGTCTGGAGGTGA GGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAG GTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTT TACCAGCTATGGTTTCAGCTGGGTGCGAC AGGCCCCTGGACAAGGACTAGAGTGGAT GGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAAC ACAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCA GAGTCACCATGACCACAGACACATCCAC GAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGC TTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTA CTGTGCGAGATCTACGTATTTCTATGGTT CGGGGACCCTCTACGGTATGGACGTCTGG GGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTC A GCCAGCACCAAGGGCCCCTCTGTGTTCCC TCTGGCCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTG GCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTG AAGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGT GTCCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACCAGCG GAGTGACACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAG TCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTC GTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAA GGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACC CACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCCTGA ACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGT TCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATG ATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGT GGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTG AAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGG CGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAG CCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCT ACCGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTG CACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGT ACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCT
-----	------------------------	--------------------	---

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 1 6】

配列 番号	名称	説明	配列
			GCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCCA AGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCA GGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGAC GAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGA CCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCC GATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACG GCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACCAC CCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCAT TCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGAC AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGT TCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTG CACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTC CCTGAGCCCCGGCAAGTGATGA
384	STIM0 02-CD RL1	IMGTを使用した STIM002のC DRL1のアミノ酸 配列	QSLHSDGYNY
385	STIM0 02-CD RL2	IMGTを使用した STIM002のC DRL2のアミノ酸 配列	LGS
386	STIM0 02-CD RL3	IMGTを使用した STIM002のC DRL3のアミノ酸 配列	MQALQTPLS
387	STIM0 02-軽鎖 可変領域	STIM002のV Lのアミノ酸配列	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLS DGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSTRAS GFPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCMQALQTPLSFGQGGTKLEIK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 1 7】

配列 番号	名称	説明	配列
388	STIM0 02-軽鎖 可変領域	STIM002のV Lの核酸配列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTC CCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCT CCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTC CTGCATAGTGATGGATACTGTTTGGGA TTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTACT CGGGCCTCCGGGTTCCCTGACAGGTTTACG TGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACAC TGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA TGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTC TACAACTCCGTGCAGTTTTGGCCAGGGG ACCAAGCTGGAGATCAAA
389	STIM0 02-完全 軽鎖配列	STIM001軽鎖 のアミノ酸配列	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLLS DGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSTRAS GFPDRFSGSGSDFTLKISRVEAEDVGVY YCMQALQTPLSFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 1 8】

配列 番号	名称	説明	配列
390	STIM0 02-完全 軽鎖配列	STIM002軽鎖 の核酸配列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTC CCTGCCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCT CCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTC CTGCATAGTGATGGATACAACTGTTTGGA TTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTACT CGGGCCTCCGGGTTCCCTGACAGGTTGAG TGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACAC TGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA TGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTC TACAAACTCCGTGCAGTTTTGGCCAGGGG ACCAAGCTGGAGATCAAacgtacggtggccgctc cctccgtgttcattctccacctccgacgagcagctgaagtccggc accgcttctgtcgtgtgcctgtgaacaacttctacccccgagggc caaggtgcagtggagggtggacaacgccctgcagtccggcaactc ccaggaatccgtgaccgagcaggactccaaggacagcacctactc cctgtcctccacctgacctgtccaaggccgactacgagaagcac aagggtgtacgcctgcgaagtgacccaccaggcctgtctagcccc gtgaccaagtcttcaaccggggcgagtgt
391	STIM0 02-B- CDRH1	IMGTを使用した STIM002-B のCDRH1のアミ ノ酸配列	GYTFTSYG
392	STIM0 02-B- CDRH2	IMGTを使用した STIM002-B のCDRH2のアミ ノ酸配列	ISAYNGNT
393	STIM0 02-B- CDRH3	IMGTを使用した STIM002-B のCDRH3のアミ ノ酸配列	ARSTYFYGSGTLYGMDV

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 1 9】

配列 番号	名称	説明	配列
394	STIM0 02-B- 重鎖可変領 域	STIM002-B のV ₁₁ のアミノ酸配 列	QVQLVQSGGEVKKPGASVKVSCKASGYTF TSYGFSWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGN TNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARSTYFYGSGTLYGMDVW GGGTTVTVSS
395	STIM0 02-B- 重鎖可変領 域	STIM002-B のV ₁₁ の核酸配列	CAGGTTCAACTGGTGCAGTCTGGAGGTGA GGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAG GTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTT TACCAGCTATGGTTTCAGCTGGGTGCGAC AGGCCCTGGACAAGGACTAGAGTGGAT GGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAAC ACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCA GAGTCACCATGACCACAGACACATCCAC GAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGC TTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTA CTGTGCGAGATCTACGTATTTCTATGGTT CGGGGACCCTCTACGGTATGGACGTCTGG GGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTC A

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 2 0】

配列 番号	名称	説明	配列
396	STIMO 02-B- 完全重鎖配 列	STIMO02-B 重鎖のアミノ酸配列	QVQLVQSGGEVKKPGASVKVSCKASGYTF TSYGFSWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGN TNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARSTYFYGSGTLYGMDVW GQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 2 1】

397	STIM0 02-B- 完全重鎖配 列	STIM002-B 重鎖の核酸配列	CAGGTTCAACTGGTGCAGTCTGGAGGTGA GGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAG GTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTT TACCAGCTATGGTTTCAGCTGGGTGCGAC AGGCCCCTGGACAAGGACTAGAGTGGAT GGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAAC ACAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCA GAGTCACCATGACCACAGACACATCCAC GAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGC TTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTA CTGTGCGAGATCTACGTATTTCTATGGTT CGGGGACCCTCTACGGTATGGACGTCTGG GGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTC AGCCAGCACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCC CTCTGGCCCCCTCCAGCAAGTCCACCTCT GGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTCGT GAAGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCG TGTCTGGAACTCTGGCGCTCTGACCAGC GGAGTGCACACCTTCCCTGCTGTGCTGCA GTCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGT CGTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCA CCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCAC AAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGA AGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGAC CCACACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCCCTG AACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTG TTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGAT GATCTCCCGACCCCCGAAGTGACCTGCG TGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCT GAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACG GCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACC TACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCT GCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAG TACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCC TGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCC
-----	------------------------------	----------------------	---

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 2 2】

配列 番号	名称	説明	配列
			AAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCC AGGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGA CGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTG ACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTC CGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAAC GGCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACCA CCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCA TTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGA CAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTG TTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCT GCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGT CCCTGAGCCCCGGCAAGTGATGA
398	STIM0 02-B- CDRL1	IMGTを使用した STIM002-B のCDRL1のアミ ノ酸配列	QSLHSDGYNC
399	STIM0 02-B- CDRL2	IMGTを使用した STIM002-B のCDRL2のアミ ノ酸配列	LGS
400	STIM0 02-B- CDRL3	IMGTを使用した STIM002-B のCDRL3のアミ ノ酸配列	MQALQTPCS
401	STIM0 02-B- 軽鎖可変領 域	STIM002-B のV _L のアミノ酸配 列	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHLS DGYNCLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSTRASG FPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMQALQTPCSFGQGTKLEIK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 2 3】

配列 番号	名称	説明	配列
402	STIM0 02-B- 軽鎖可変領 域	STIM002-B のV _L の核酸配列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTC CCTGCCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCT CCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTC CTGCATAGTGATGGATACAAGTGTGGA TTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTACT CGGGCCTCCGGGTTCCCTGACAGGTTTCAG TGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACAC TGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA TGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTC TACAAACTCCGTGCAGTTTTGGCCAGGGG ACCAAGCTGGAGATCAAA
403	STIM0 02-B- 完全軽鎖配 列	STIM002-B 軽鎖のアミノ酸配列	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLS DGYNCLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSTRASG FPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMQALQTPCSFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSLTTLKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 2 4】

配列 番号	名称	説明	配列
404	STIM0 02-B- 完全軽鎖配 列	STIM002-B 軽鎖の核酸配列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTC CCTGCCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCT CCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTC CTGCATAGTGATGGATAACAAGTGTGGA TTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTACT CGGGCCTCCGGGTTCCCTGACAGGTTTCAG TGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACAC TGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA TGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTC TACAAACTCCGTGCAGTTTTGGCCAGGGG ACCAAGCTGGAGATCAA Acgtacggtggcgcgtc cctccgtgttcattctccaccttccgacgacgctgaagtccggc accgcttctgtcgtgtgctgctgaacaacttctacccccgcgaggc caaggtgcagtggagggtggacaacgccctgcagtccggcaactc ccaggaatccgtgaccgagcaggactccaaggacgacactactc cctgtcctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcac aaggtgtacgcctgcgaagtgaccaccaggcctgtctagcccc gtgaccaagtcttcaaccggggcgagtgt
405	STIM0 03-CD RH1	IMGTを使用した STIM003のC DRH1のアミノ酸 配列	GVTFDYDG
406	STIM0 03-CD RH2	IMGTを使用した STIM003のC DRH2のアミノ酸 配列	INWNGGDT
407	STIM0 03-CD RH3	IMGTを使用した STIM003のC DRH3のアミノ酸 配列	ARDFYGSYSYHVPFDY

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 2 5】

配列 番号	名称	説明	配列
408	STIM0 03-重鎖 可変領域	STIM003のV _H のアミノ酸配列	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCVASGVTFD DYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGDT DYSDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRA EDTALYYCARDIFYGSGSYHHVFPDYGQGL ILVTVSS
409	STIM0 03-重鎖 可変領域	STIM003のV _H の核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAG GTGTGGTACGGCCTGGGGGGTCCCTGAG ACTCTCCTGTGTAGCCTCTGGAGTCACCT TTGATGATTATGGCATGAGCTGGGTCCGC CAAGCTCCAGGGAAGGGGCTGGARTGGG TCTCTGGTATTAATTGGAATGGTGGCGAC ACAGATTATTCAGACTCTGTGAAGGGCCG ATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAG AACTCCCTGTATCTACAAATGAATAGTCT GAGAGCCGAGGACACGGCCTTGTATTACT GTGCGAGGGATTTCTATGGTTCGGGGAGT TATTATCACGTTCTTTTGGACTACTGGGG CCAGGGAATCCTGGTCACCGTCTCCTCA
410	STIM0 03-完全 重鎖配列	STIM003重鎖 のアミノ酸配列	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCVASGVTFD DYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGDT DYSDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRA EDTALYYCARDIFYGSGSYHHVFPDYGQGL ILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 2 6】

411	S T I M 0 0 3 - 完 全 重 鎖 配 列	S T I M 0 0 3 重 鎖 の 核 酸 配 列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAG GTGTGGTACGGCCTGGGGGGTCCCTGAG ACTCTCCTGTGTAGCCTCTGGAGTCACCT TTGATGATTATGGCATGAGCTGGGTCCGC CAAGCTCCAGGGAAGGGGCTGGARTGGG TCTCTGGTATTAATTGGAATGGTGGCGAC ACAGATTATTCAGACTCTGTGAAGGGCCG ATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAG AACTCCCTGTATCTACAAATGAATAGTCT GAGAGCCGAGGACACGGCCTTGTATTACT GTGCGAGGGATTCTATGGTTCGGGGAGT TATTATCACGTTCCCTTTTGACTACTGGGG CCAGGGAATCCTGGTCACCGTCTCCTCAG CCAGCACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCT CTGGCCCCCTCCAGCAAGTCCACCTCTGG CGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGA AGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGTG TCCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACCAGCGG AGTGCACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGT CCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTC GTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAA GGTGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACC CACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCCTGA ACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGT TCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATG ATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGT GGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTG AAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGG CGTGGAAGTGCAACGCCAAGACCAAG CCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCT ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTG CACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGT ACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCT GCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCCA
-----	-----------------------------------	--------------------------------	--

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 2 7】

配列 番号	名称	説明	配列
			AGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCA GGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGAC GAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGA CCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCC GATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACG GCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACCAC CCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCAT TCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGAC AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGT TCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTG CACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTC CCTGAGCCCCGGCAAGTGATGA
412	STIM0 03-CD RL1	IMGTを使用した STIM003のC DRL1のアミノ酸 配列	QSVRSY
413	STIM0 03-CD RL2	IMGTを使用した STIM003のC DRL2のアミノ酸 配列	GAS
414	STIM0 03-CD RL3	IMGTを使用した STIM003のC DRL3のアミノ酸 配列	HQYDMSPT
415	STIM0 03-軽鎖 可変領域	STIM003のV Lのアミノ酸配列	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVRS YLAWYQQKRGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGDGSFTDFTLSISRLEPEDFAVYYCHQYD MSPFTFGPGTKVDIK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 2 8】

配列 番号	名称	説明	配列
416	STIM0 03－軽鎖 可変領域	STIM003のV Lの核酸配列	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGGAC CCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTT AGCAGAAGCTACTTAGCCTGGTACCAGC AGAAACGTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTC ATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGG CATCCCAGACAGGTTCACTGGCGATGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCTCCATCAGC AGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTA TTACTGTCACCAGTATGATATGTCACCAT TCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGAT ATCAAA
417	STIM0 03－完全 軽鎖配列	STIM003軽鎖 のアミノ酸配列	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSR YLAWYQQKRGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGDGS GTDFTLSISRLEPEDFAVYYCHQYD MSPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 2 9】

配列 番号	名称	説明	配列
418	STIM0 03－完全 軽鎖配列	STIM003 軽鎖 の核酸配列	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGGAC CCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTT AGCAGAAGCTACTTAGCCTGGTACCAGC AGAAACGTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTC ATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGG CATCCCAGACAGGTTCAGTGGCGATGGGT CTGGGACAGACTTCACTCTCTCCATCAGC AGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTA TTACTGTCACCAGTATGATATGTCACCAT TCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGAT ATCAAACgtacggtggccgctccctccgtgtcatcttcccacc ttccgacgagcagctgaagtccggcaccgcttctgtgtgtgcctgc tgaacaacttctacccccgcgagccaaggtgcagtgaaggtgg acaacgccctgcagtccggcaactcccaggaatccgtgaccgagc aggactccaaggacagcacctactccctgtcctccaccctgaccct gtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaagt gaccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagtcttcaaccgg ggcgagtgt
419	STIM0 04－CD RH1	IMGTを使用した STIM004のC DRH1のアミノ酸 配列	GLTFDDYG
420	STIM0 04－CD RH2	IMGTを使用した STIM004のC DRH2のアミノ酸 配列	INWNGDNT
421	STIM0 04－CD RH3	IMGTを使用した STIM004のC DRH3のアミノ酸 配列	ARDYYGSGSYYNVPFDY

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 3 0】

配列 番号	名称	説明	配列
422	STIM0 04－重鎖 可変領域	STIM004のV Hのアミノ酸配列	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGLTFD DYGMSWVRQVPGKGLEWVSGINWNGDNT DYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLR AEDTALYYCARDYYGSGSYYNVPFDYWG QGTLVTVSS
423	STIM0 04－重鎖 可変領域	STIM004のV Hの核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAG GTGTGGTACGGCCTGGGGGGTCCCTGAG ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACTCACCT TTGATGATTATGGCATGAGCTGGGTCCGC CAAGTTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TCTCTGGTATTAATTGGAATGGTGATAAC ACAGATTATGCAGACTCTGTGAAGGGCC GATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAA GAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTC TGAGAGCCGAGGACACGGCCTTGTATTAC TGTGCGAGGGATTACTATGGTTCGGGGAG TTATTATAACGTTCTTTTGACTACTGGG GCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
424	STIM0 04－完全 重鎖配列	STIM003重鎖 のアミノ酸配列	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGLTFD DYGMSWVRQVPGKGLEWVSGINWNGDNT DYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLR AEDTALYYCARDYYGSGSYYNVPFDYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 3 1】

425	STIMO 04－完全 重鎖配列	STIMO04重鎖 の核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAG GTGTGGTACGGCCTGGGGGGTCCCTGAG ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACTCACCT TTGATGATTATGGCATGAGCTGGGTCCGC CAAGTTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TCTCTGGTATTAATTGGAATGGTGATAAC ACAGATTATGCAGACTCTGTGAAGGGCC GATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAA GAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTC TGAGAGCCGAGGACACGGCCTTGTATTAC TGTGCGAGGGATTACTATGGTTTCGGGGAG TTATTATAACGTTTCCTTTTGACTACTGGG GCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA GCCAGCACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCC TCTGGCCCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTG GCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTG AAGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGT GTCCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACCAGCG GAGTGCACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAG TCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTC GTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAA GGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACC CACACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCCCTGA ACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGT TCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATG ATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGT GGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTG AAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGG CGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAG CCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCT ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTG CACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGT ACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCT GCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCCA
-----	------------------------	--------------------	---

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 3 2】

配列 番号	名称	説明	配列
			AGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCA GGTGACACACTGCCCCCTAGCAGGGAC GAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGA CCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCC GATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACG GCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACCAC CCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCAT TCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGAC AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGT TCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTG CACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTC CCTGAGCCCCGGCAAGTGATGA
426	STIM0 04-CD RL1	IMGTを使用した STIM004のC DRL1のアミノ酸 配列	QSVSSSY
427	STIM0 04-CD RL2	IMGTを使用した STIM004のC DRL2のアミノ酸 配列	GAS
428	STIM0 04-CD RL3	IMGTを使用した STIM004のC DRL3のアミノ酸 配列	QQYGSSPF
429	STIM0 04-修正 軽鎖可変領 域	STIM004の修 正V _L のアミノ酸配 列	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSS YLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYG SSPFFGPGTKVDIK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 3 3】

配列 番号	名称	説明	配列
430	S T I M O 0 4 - 修正 軽鎖可変領 域	S T I M O 0 4 の修 正 V _L の核酸配列	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCAC CCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTT AGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCA GAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCA TATATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGC ATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTC TGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGAA GACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTAT TACTGTCAGCAGTATGGTAGTTTACCATT CTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AA
431	S T I M O 0 4 - 軽鎖 可変領域	S T I M O 0 4 の V _L の核酸配列	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCAC CCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTT AGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCA GAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCA TATATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGC ATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTC TGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGAA GACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTAT TACTGTCAGCAGTATGGTAGTTTACCATT CACTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATAT CAAA
432	S T I M O 0 4 - 完全 修正軽鎖配 列	S T I M O 0 4 軽鎖 のアミノ酸配列	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSS YLAWEYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYG SSPFFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 3 4】

配列 番号	名称	説明	配列
433	S T I M O 0 4 - 完全 修正軽鎖配 列	修正 S T I M O 0 4 軽鎖の核酸配列	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCAC CCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTT AGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCA GAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCA TATATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGC ATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTC TGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGAA GACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTAT TACTGTCAGCAGTATGGTAGTTCACCATT CTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCA AAcgtacggtggccgctccctccgtgttcatttcccacctccga cgagcagctgaagtccggcaccgcttctgtcgtgtgcctgctgaac aacttctacccccgcgaggccaaggtgcagtggaaggtggacaac gccctgcagtccggcaactcccaggaatccgtgaccgagcaggac tccaaggacagcacctactccctgtcctccaccctgacctgtccaa ggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaagtgaccc accagggcctgtctagccccgtgaccaagtttcaaccggggcgga gtgt

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 3 5】

配列 番号	名称	説明	配列
434	STIM0 04－完全 軽鎖配列	STIM004軽鎖 の核酸配列	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCAC CCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTT AGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCA GAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCA TATATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGC ATCCCAGACAGGTTTCA GTGGCAGTGGGTC TGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGAA GACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTAT TACTGTCAGCAGTATGGTAGTTTACCATT CACTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATAT CAAACgtacggtggccgctccctccgtgtcatcttccaccttc cgacgagcagctgaagtccggcaccgcttctgtcgtgtgcctgctg aacaacttctacccccgcgaggccaaggtgcagtggaaggtggac aacgccctgcagtcggaactcccaggaatccgtgaccgagcag gactcaaggacagcacctactccctgtcctccacctgacctgtc caaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaagtga cccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagtcttcaaccgggg cgagtgt
435	STIM0 05－CD RH1	IMGTを使用した STIM005のC DRH1のアミノ酸 配列	GYTFNSYG
436	STIM0 05－CD RH2	IMGTを使用した STIM005のC DRH2のアミノ酸 配列	ISVHNGNT
437	STIM0 05－CD RH3	IMGTを使用した STIM005のC DRH3のアミノ酸 配列	ARAGYDILTDFSDAFDI

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 3 6】

配列 番号	名称	説明	配列
438	STIM0 05－重鎖 可変領域	STIM005のV Hのアミノ酸配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF NSYGIIWVRQAPGQGLEWMGWISVHNGNT NCAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLR TDDTAVYYCARAGYDILTDFSDAFDIWGH GTMVTVSS
439	STIM0 05－重鎖 可変領域	STIM005のV Hの核酸配列	CAGGTTTCAGTTGGTGCAGTCTGGAGCTGA GGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAG GTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTT TAATAGTTATGGTATCATCTGGGTGCGAC AGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGAT GGGATGGATCAGCGTTCACAAATGGTAAC ACAAACTGTGCACAGAAGCTCCAGGGTA GAGTCACCATGACCACAGACACATCCAC GAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGC CTGAGAACTGACGACACGGCCGTGTATTA CTGTGCGAGAGCGGGTTACGATATTTTGA CTGATTTTTCCGATGCTTTTGATATCTGGG GCCACGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA
440	STIM0 05－完全 重鎖配列	STIM005重鎖 のアミノ酸配列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF NSYGIIWVRQAPGQGLEWMGWISVHNGNT NCAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLR TDDTAVYYCARAGYDILTDFSDAFDIWGH GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 3 7】

441	STIM0 05－完全 重鎖配列	STIM005重鎖 の核酸配列	CAGGTTCAAGTTGGTGCAGTCTGGAGCTGA GGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAG GTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTT TAATAGTTATGGTATCATCTGGGTGCGAC AGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGAT GGGATGGATCAGCGTTCACAATGGTAAC ACAAACTGTGCACAGAAGCTCCAGGGTA GAGTCACCATGACCACAGACACATCCAC GAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGC CTGAGAACTGACGACACGGCCGTGTATTA CTGTGCGAGAGCGGGTTACGATATTTTGA CTGATTTTTCCGATGCTTTTGATATCTGGG GCCACGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA GCCAGCACCAAGGGCCCCTCTGTGTTCCC TCTGGCCCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTG GCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTG AAGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGT GTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACCAGCG GAGTGCACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAG TCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCTCCGTC GTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAA GGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACC CACACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCCCTGA ACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGT TCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATG ATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGT GGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTG AAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGG CGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAG CCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCT ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTG CACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGT ACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCT GCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCCA
-----	------------------------	--------------------	--

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 3 8】

配列 番号	名称	説明	配列
			AGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCA GGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGAC GAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGA CCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCC GATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACG GCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACCAC CCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCAT TCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGAC AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGT TCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTG CACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTC CCTGAGCCCCGGCAAGTGATGA
442	STIM0 05-CD RL1	IMGTを使用した STIM005のC DRL1のアミノ酸 配列	QNINNF
443	STIM0 05-CD RL2	IMGTを使用した STIM005のC DRL2のアミノ酸 配列	AAS
444	STIM0 05-CD RL3	IMGTを使用した STIM005のC DRL3のアミノ酸 配列	QQSYGIPW
445	STIM0 05-軽鎖 可変領域	STIM005のV Lのアミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQNINN FLNWYQQKEGKGPKLLIYAASSLQRGIPST FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYICQQSYG IPWVGQGTKVEIK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 3 9】

配列 番号	名称	説明	配列
446	STIM0 05－軽鎖 可変領域	STIM005のV Lの核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTC CCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCA CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAACATT AATAACTTTTTAAATTGGTATCAGCAGAA AGAAGGGAAAGGCCCTAAGCTCCTGATC TATGCAGCATCCAGTTTGCAAAGAGGGAT ACCATCAACGTTCAGTGGCAGTGGATCTG GGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGT CTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACAT CTGTCAACAGAGCTACGGTATCCCGTGGG TCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAA A
447	STIM0 05－完全 軽鎖配列	STIM005軽鎖 のアミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQNINN FLNWFYQQKEGKGPKLLIYAASSLQRGIPST FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYICQQSYG IPWVGQGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 4 0】

配列 番号	名称	説明	配列
448	STIM0 05－完全 軽鎖配列	STIM005 軽鎖 の核酸配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTC CCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCA CCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAACATT AATAACTTTTTAAATTGGTATCAGCAGAA AGAAGGGAAAGGCCCTAAGCTCCTGATC TATGCAGCATCCAGTTTGCAAAGAGGGAT ACCATCAACGTTCAGTGGCAGTGGATCTG GGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGT CTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACAT CTGTCAACAGAGCTACGGTATCCCGTGGG TCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAATCAA A Acgtacgggtggccgctccctccgtgttcatttccaccttccgacg agcagctgaagtccggcaccgcttctgtcgtgtgcctgtgaacaa cttctacccccgcgaggccaaggtgcagtgaaggtggacaacgc cctgcagtcggcaactcccagggaatccgtgaccgagcaggactc caaggacagcacctactccctgtcctccacctgacctgtccaag gccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaagtgaccac cagggcctgtctagccccgtgaccaagtcttcaaccggggcgagt gt
449	STIM0 06－CD RH1	IMGTを使用した STIM006のC DRH1のアミノ酸 配列	GFTFSDYF
450	STIM0 06－CD RH2	IMGTを使用した STIM006のC DRH2のアミノ酸 配列	ISSSGSTI
451	STIM0 06－CD RH3	IMGTを使用した STIM006のC DRH3のアミノ酸 配列	ARDHYDGSGIYPLYYYYGLDV

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 4 1】

配列 番号	名称	説明	配列
452	STIM0 06－重鎖 可変領域	STIM006のV _H のアミノ酸配列	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS DYFMSWIRQAPGKGLEWISYISSSGSTIYYA DSVRGRFTISRDNAYSLYLQMNSLRSEDY AVYYCARDHYDGSGIYPLYYYYGLDVWG QGTTVTVSS
453	STIM0 06－重鎖 可変領域	STIM006のV _H の核酸配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAG GCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGA CTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTC AGTGACTACTTCATGAGCTGGATCCGCCA GGCGCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATT TCATACATTAGTTCTAGTGGTAGTACCAT ATACTACGCAGACTCTGTGAGGGGCGGAT TCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGTAC TCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAG ATCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTG CGAGAGATCACTACGATGGTTTCGGGGATT TATCCCCTCTACTACTATTACGGTTTGGA CGTCTGGGGCCAGGGGACCACGGTCACC GTCTCCTCA

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 4 2】

配列 番号	名称	説明	配列
454	STIMO 06ー完全 重鎖配列	STIMO06重鎖 のアミノ酸配列	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS DYFMSWIRQAPGKGLEWISYISSSGSTIYYA DSVRGRFTISRDNAYSLYLQMNSLRSEDY AVYYCARDHYDGSGLYPLYYYYGLDVWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAYLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 4 3】

455	STIM0 06－完全 重鎖配列	STIM006重鎖 の核酸配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAG GCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGA CTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTC AGTGACTACTTCATGAGCTGGATCCGCCA GGCGCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATT TCATACATTAGTTCTAGTGGTAGTACCAT ATACTACGCAGACTCTGTGAGGGGCCGAT TCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGTAC TCACTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAG ATCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTG CGAGAGATCACTACGATGGTTCGGGGATT TATCCCCTCTACTACTATTACGGTTTGGA CGTCTGGGGCCAGGGGACCACGGTCACC GTCTCCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCTC TGTGTTCCCTCTGGCCCCCTCCAGCAAGT CCACCTCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGC TGCCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCC TGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCTC TGACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTGCT GTGCTGCAGTCCCTCCGGCCTGTACTCCCT GTCCTCCGTCTGTGACCGTGCCTTCCAGCT CTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGG TGGACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCCTG CGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTC CTGCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCTTCC GTGTTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGA CACCTGATGATCTCCCGACCCCCGAAG TGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCAC GAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGT ACGTGGACGGCGTGGAAGTGACAACGC CAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTAC AACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCT GACCGTGTCTGCACCAGGATTGGCTGAAC GGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCA ACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAAAA
-----	------------------------	--------------------	---

10

20

30

40

【表 3 1 - 4 4】

配列 番号	名称	説明	配列
			GACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCC CGGGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCC TAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAG GTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTT CTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGG AGTCCAACGGCCAGCCTGAGAACAATA CAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCG ACGGCTCATTCTTCTGTACAGCAAGCTG ACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGG GCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCAC GAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGA AGTCCCTGTCCCTGAGCCCCGGCAAGTGA TGA
456	STIM0 06-CD RL1	IMGTを使用した STIM006のC DRL1のアミノ酸 配列	QSLHSNGYNY
457	STIM0 06-CD RL2	IMGTを使用した STIM006のC DRL2のアミノ酸 配列	LGS
458	STIM0 06-CD RL3	IMGTを使用した STIM006のC DRL3のアミノ酸 配列	MQALQTPRS
459	STIM0 06-軽鎖 可変領域	STIM006のV Lのアミノ酸配列	IVMTQSPLSLPVTGPASPISCRSSQSLHSN GYNYLDYYLQKPGQSPQLLIYLGSYRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC MQALQTPRSFGQGTLEIK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 4 5】

配列 番号	名称	説明	配列
460	STIM0 06－軽鎖 可変領域	STIM006のV Lの核酸配列	ATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCT ACCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCA TCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTG CATAGTAATGGATACAACATTTTGGATTA TTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCAC AGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTTATCGG GCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGA AAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGT TGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTCTAC AAACTCCTCGCAGTTTGGCCAGGGGACC ACGCTGGAGATCAAA
461	STIM0 06－完全 軽鎖配列	STIM006軽鎖 のアミノ酸配列	IVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLHSN GYNYLDYYLQKPGQSPQLLIYLGSYRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC MQALQTPRSFGQGTTLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSST LTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 4 6】

配列 番号	名称	説明	配列
462	STIM0 06－完全 軽鎖配列	STIM006 軽鎖 の核酸配列	ATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCT ACCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCA TCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTG CATAGTAATGGATACAACCTATTTGGATTA TTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCAC AGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTTATCGG GCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCACTGG CAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGA AAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGT TGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTCTAC AAACTCCTCGCAGTTTTGGCCAGGGGACC ACGCTGGAGATCAAACgtacggtggccgctccctcc gtgttcattctccacctccgacgagcagtggaagtcggcaccgc ttctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaagg tgcagtgaaggtggacaacgccctgcagtcggcgaactcccagg aatccgtgaccgagcaggactccaaggacagcacctactccctgtc ctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggt gtacgctgcgaagtgaccaccaggccctgtctagccccgtgac caagtcttcaaccggggcgagtg
463	STIM0 07－CD RH1	IMGTを使用した STIM007のC DRH1のアミノ酸 配列	GFSLSTTGVG
464	STIM0 07－CD RH2	IMGTを使用した STIM007のC DRH2のアミノ酸 配列	IYWDDDK
465	STIM0 07－CD RH3	IMGTを使用した STIM007のC DRH3のアミノ酸 配列	THGYGSASYHYGMDV

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 4 7】

配列 番号	名称	説明	配列
466	STIM0 07-重鎖 可変領域	STIM007のV Hのアミノ酸配列	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTT GVGVGWIRQPPGKALEWLAVIYWDDDKR YSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMNMDPV DTATYFCTHGYGSASYHYHYGMDVWGQGT TVTVSS
467	STIM0 07-重鎖 可変領域	STIM007のV Hの核酸配列	CAGATCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTAC GCTGGTGAAACCCACACAGACCCTCACG CTGACCTGCACCTTCTCTGGGTCTCACTC AGCACTACTGGAGTGGGTGTGGGCTGGA TCCGTCAGCCCCCAGGAAAGGCCCTGGA GTGGCTTGCAGTCATTTATTGGGATGATG ATAAGCGCTACAGCCCATCTCTGAAGAGC AGACTCACCATCACCAAGGACACCTCCA AAAACCAGGTGGTCCTTACAATGACCAA CATGGACCCTGTGGACACAGCCACATATT TCTGTACACACGGATATGGTTCGGCGAGT TATTACCACTACGGTATGGACGTCTGGGG CCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA
468	STIM0 07-完全 重鎖配列	STIM007重鎖 のアミノ酸配列	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTT GVGVGWIRQPPGKALEWLAVIYWDDDKR YSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMNMDPV DTATYFCTHGYGSASYHYHYGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPVYTL PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 4 8】

469	STIM0 07－完全 重鎖配列	STIM007重鎖 の核酸配列	CAGATCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTAC GCTGGTGAAACCCACACAGACCCTCACG CTGACCTGCACCTTCTCTGGGTTCTACTC AGCACTACTGGAGTGGGTGTGGGCTGGA TCCGTCAGCCCCCAGGAAAGGCCCTGGA GTGGCTTGCAGTCATTTATTGGGATGATG ATAAGCGCTACAGCCCATCTCTGAAGAGC AGACTCACCATCACCAAGGACACCTCCA AAAACCAGGTGGTCCTTACAATGACCAA CATGGACCCTGTGGACACAGCCACATATT TCTGTACACACGGATATGGTTCGGCGAGT TATTACCACTACGGTATGGACGTCTGGGG CCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA GCCAGCACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCC TCTGGCCCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTG GCGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTG AAGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGT GTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACCAGCG GAGTGCACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAG TCCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTC GTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAA GGTGGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACC CACACCTGTCCCCCTTGCTCTGCCCCCTGA ACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCCTGT TCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATG ATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGT GGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTG AAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGG CGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAG CCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCT ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTG CACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGT ACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCT GCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCCA
-----	------------------------	--------------------	--

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 4 9】

配列 番号	名称	説明	配列
			AGGCCAAGGGCCAGCCCCGGAACCCCA GGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGAC GAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGA CCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCC GATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACG GCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACCAC CCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCAT TCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGAC AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGT TCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTG CACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTC CCTGAGCCCCGGCAAGTGATGA
470	STIM0 07-CD RL1	IMGTを使用した STIM007のC DRL1のアミノ酸 配列	QSVTNY
471	STIM0 07-CD RL2	IMGTを使用した STIM007のC DRL2のアミノ酸 配列	DAS
472	STIM0 07-CD RL3	IMGTを使用した STIM007のC DRL3のアミノ酸 配列	QHRSNWPLT
473	STIM0 07-軽鎖 可変領域	STIM007のV Lのアミノ酸配列	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVTN YLAWHQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPAR FSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQHRS NWPLTFGGGTKVEIK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 5 0】

配列 番号	名称	説明	配列
474	STIM0 07－軽鎖 可変領域	STIM007のV Lの核酸配列	GAAATTGTATTGACACAGTCTCCAGCCAC CCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTT ACCAACTACTTAGCCTGGCACCAACAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATC TATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCAT CCCAGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTG GGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGC CTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTA CTGTCAGCACCGTAGCAACTGGCCTCTCA CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGAT CAAAC
475	STIM0 07－完全 軽鎖配列	STIM007軽鎖 のアミノ酸配列	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVTN YLAWHQKPGQAPRLLIYDASNRTGIPAR FSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYYCQHR NWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 5 1】

配列 番号	名称	説明	配列
476	STIM0 07-完全 軽鎖配列	STIM007 軽鎖 の核酸配列	GAAATTGTATTGACACAGTCTCCAGCCAC CCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTT ACCAACTACTTAGCCTGGCACCAACAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATC TATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCAT CCCAGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTG GGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGC CTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTA CTGTCAGCACCGTAGCAACTGGCCTCTCA CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGAT CAAAACggtacggtggccgctccctccgtgttcatttccacett ccgacgagcagctgaagtcggcaccgcttctgtcgtgtgctgct gaacaacttctacccccgcgagccaaggtgcagtggaggtgga caacgccctgcagtccggcaactcccaggaatccgtgaccgagca ggactccaaggacagcacctactccctgtcctccacctgacctgt ccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaagtg accaccaggcgctgtctagccccgtgaccaagtccttcaaccggg gcgagtgt
477	STIM0 08-CD RH1	IMGTを使用した STIM008のC DRH1のアミノ酸 配列	GFSLSTSGVG
478	STIM0 08-CD RH2	IMGTを使用した STIM008のC DRH2のアミノ酸 配列	IYWDDDK
479	STIM0 08-CD RH3	IMGTを使用した STIM008のC DRH3のアミノ酸 配列	THGYGSASYHYGMDV

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 5 2】

配列 番号	名称	説明	配列
480	STIM0 08－重鎖 可変領域	STIM008のV Hのアミノ酸配列	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTS GVGVGWIRQPPGKALEWLAVIYWDDDKR YSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLMTNMDPV DTATYFCTHGYGSASYHYHGMVWVGQGT TVTVSS
481	STIM0 08－重鎖 可変領域	STIM008のV Hの核酸配列	CAGATCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTAC GCTGGTGAAACCCACACAGACCCTCACG CTGACCTGCACCTTCTCTGGGTTCTCACTC AGCACTAGTGGAGTGGGTGTGGGCTGGA TCCGTCAGCCCCCAGGAAAGGCCCTGGA GTGGCTTGACAGTCATTTATTGGGATGATG ATAAGCGCTACAGCCCATCTCTGAAGAGC AGGCTCACCATCACCAAGGACACCTCCA AAAACCAGGTGGTCCTTACAATGACCAA CATGGACCCTGTGGACACAGCCACATATT TCTGTACACACGGATATGGTTCGGCGAGT TATTACCACTACGGTATGGACGTCTGGGG CCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA
482	STIM0 08－完全 重鎖配列	STIM008重鎖 のアミノ酸配列	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTS GVGVGWIRQPPGKALEWLAVIYWDDDKR YSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLMTNMDPV DTATYFCTHGYGSASYHYHGMVWVGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 5 3】

483	STIM0 08－完全 重鎖配列	STIM008重鎖 の核酸配列	CAGATCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTAC GCTGGTGAAACCCACACAGACCCTCACG CTGACCTGCACCTTCTCTGGGTTCTCACTC AGCACTAGTGGAGTGGGTGTGGGCTGGA TCCGTCAGCCCCCAGGAAAGGCCCTGGA GTGGCTTGCAGTCATTTATTGGGATGATG ATAAGCGCTACAGCCCATCTCTGAAGAGC AGGCTCACCATCACCAAGGACACCTCCA AAAACCAGGTGGTCCTTACAATGACCAA CATGGACCCTGTGGACACAGCCACATATT TCTGTACACACGGATATGGTTCGGCGAGT TATTACCACTACGGTATGGACGTCTGGGG CCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAG CCAGCACCAAGGGCCCCTCTGTGTCCCT CTGGCCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTGG CGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGA AGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGTG TCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACCAGCGG AGTGACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGT CCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTC GTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAA GGTGGAACCAAGTCCTGCGACAAGACC CACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCTGA ACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGT TCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATG ATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGT GGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTG AAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGG CGTGGAAGTGACAACGCCAAGACCAAG CCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCT ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTG CACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGT ACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCT GCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCCA
-----	------------------------	--------------------	---

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 5 4】

配列 番号	名称	説明	配列
			AGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCA GGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGAC GAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGA CCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCC GATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACG GCCAGCCTGAGAACAACACTACAAGACCAC CCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCAT TCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGAC AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGT TCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTG CACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTC CCTGAGCCCCGGCAAGTGATGA
484	STIM0 08-CD RL1	IMGTを使用した STIM008のC DRL1のアミノ酸 配列	QSVTNY
485	STIM0 08-CD RL2	IMGTを使用した STIM008のC DRL2のアミノ酸 配列	DAS
486	STIM0 08-CD RL3	IMGTを使用した STIM008のC DRL3のアミノ酸 配列	QQRSNWPLT
487	STIM0 08-軽鎖 可変領域	STIM008のV Lのアミノ酸配列	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVTN YLAWHQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPAR FSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQQRS NWPLTFGGGTKVEIK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 5 5】

配列 番号	名称	説明	配列
488	STIM0 08－軽鎖 可変領域	STIM008のV Lの核酸配列	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCAC CCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTT ACCAACTACTTAGCCTGGCACCAACAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATC TATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCAT CCCAGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTG GGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGC CTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTA CTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCTCA CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGAT CAAA
489	STIM0 08－完全 軽鎖配列	STIM008軽鎖 のアミノ酸配列	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVTN YLAWHQQKPGQAPRLLIYDASNRAITGIPAR FSGSGSGTDFTLTISILEPEDFAVYYCQQRS NWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 5 6】

配列 番号	名称	説明	配列
490	STIM0 08－完全 軽鎖配列	STIM008軽鎖 の核酸配列	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCAC CCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCA CCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTT ACCAACTACTTAGCCTGGCACCAACAGA AACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATC TATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCAT CCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTG GGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGC CTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTA CTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCTCA CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGAT CAAACgtacgggtggccgtccctccgtgttcatttcccaccttc cgacgagcagctgaagtccggcaccgcttctgtcgtgtgcctgctg aacaacttctacccccgcaggccaaggtgcagtgaaggtggac aacgccctgcagtccggcaactcccaggaatccgtgaccgagcag gactccaaggacagcacctactccctgtcctccacctgacctgtc caaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaagtga cccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagtcttcaaccgggg cgagtgt
491	STIM0 09－CD RH1	IMGTを使用した STIM009のC DRH1のアミノ酸 配列	GFTFSDYY
492	STIM0 09－CD RH2	IMGTを使用した STIM009のC DRH2のアミノ酸 配列	ISSSGSTI
493	STIM0 09－CD RH3	IMGTを使用した STIM009のC DRH3のアミノ酸 配列	ARDFYDILTDSPYFYYGVDV

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 5 7】

配列 番号	名称	説明	配列
494	STIM0 09－重鎖 可変領域	STIM009のV _H のアミノ酸配列	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS DYFMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYY ADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQINSLRAED TAVYYCARDFYDILTDSPLYFYGVVDVWGQ GTTVTVSS
495	STIM0 09－重鎖 可変領域	STIM009のV _H の核酸配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAG GCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGA CTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTC AGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCA GGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTT TCATACATTAGTAGTAGTGGTAGTACCAT ATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAA CTCACTGTATCTGCAAATTAACAGCCTGA GAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT GCGAGAGATTTTACGATATTTTGACTGA TAGTCCGTACTTCTACTACGGTGTGGACG TCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGT CTCCTCA

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 5 8】

配列 番号	名称	説明	配列
496	STIMO 09－完全 重鎖配列	STIMO09重鎖 のアミノ酸配列	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS DYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYY ADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQINSLRAED TAVYYCARDIFYDILTDSPIFYFGVDVWGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 5 9】

497	STIM0 09－完全 重鎖配列	STIM009重鎖 の核酸配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAG GCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGA CTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTC AGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCA GGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTT TCATACATTAGTAGTAGTGGTAGTACCAT ATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAA CTCACTGTATCTGCAAATTAACAGCCTGA GAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGT GCGAGAGATTTTTACGATATTTTGACTGA TAGTCCGTACTTCTACTACGGTGTGGACG TCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGT CTCCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCCCTG TGTTCCCTCTGGCCCCCTCCAGCAAGTCC ACCTCTGGCGGAACAGCCGCTCTGGGCTG CCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCTG TGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCTCTG ACCAGCGGAGTGCACACCTTCCCTGCTGT GCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGT CCTCCGTCTGTGACCGTGCCTTCCAGCTCT CTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTG GACAAGAAGGTGGAACCCAAGTCTGCG ACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCT GCCCCCTGAAGTGTGGCGGACCTTCCGT GTTCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTG ACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCACGA GGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACG TGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAA GACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGAC CGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGC AAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACA AGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACC
-----	------------------------	--------------------	--

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 6 0】

配列 番号	名称	説明	配列
			ATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGG AACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCTAGC AGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGT CCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTAC CCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTC CAACGGCCAGCCTGAGAACAACACTACAAG ACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGG CTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAG TGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAA CGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGG CCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCC CTGTCCCTGAGCCCCGGCAAGTGATGA
498	STIM0 09-CD RL1	IMGTを使用した STIM009のC DRL1のアミノ酸 配列	QSLHSNGYNY
499	STIM0 09-CD RL2	IMGTを使用した STIM009のC DRL2のアミノ酸 配列	LGS
500	STIM0 09-CD RL3	IMGTを使用した STIM009のC DRL3のアミノ酸 配列	MQALQTPRT
501	STIM0 09-軽鎖 可変領域	STIM009のV Lのアミノ酸配列	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHS NGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRAS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCMQALQTPRTFGQGKVEIK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 6 1】

配列 番号	名称	説明	配列
502	STIM0 09－軽鎖 可変領域	STIM009のV Lの核酸配列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTC CCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCT CCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTC CTGCATAGTAATGGATACAACCTATTTGGA TTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAAT CGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTTCAG TGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACAC TGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA TGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTC TACAAACTCCTCGGACGTTCCGCCAAGGG ACCAAGGTGGAAATCAAA
503	STIM0 09－完全 軽鎖配列	STIM009軽鎖 のアミノ酸配列	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLS NGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRAS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY YCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLS SLTSLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 6 2】

配列 番号	名称	説明	配列
504	STIM0 09ー完全 軽鎖配列	STIM009軽鎖 の核酸配列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTC CCTGCCCCGTCACCCCCTGGAGAGCCGGCCT CCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTC CTGCATAGTAATGGATACAACTATTTGGA TTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAAT CGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTTACAG TGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACAC TGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA TGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTC TACAAACTCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGG ACCAAGGTGGAATCAAACgtacggtggcgctc cctccgtgttcattctccacctccgacgagcagctgaagtcgggc accgcttctgtcgtgtgcctgtgaacaacttctacccccgcgaggc caaggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagtcggcaactc ccaggaatccgtgaccgagcaggactccaaggacagcacctactc cctgtcctccacctgacctgtccaaggccgactacgagaagcac aaggtgtacgcctgcgaagtgaccaccaggcgctgttagcccc gtgaccaagtctttcaaccggggcgagtggt
505	ヒトPD- L1 Fl ag His (KYP ROT28 6)	FLAGタグ（太字 および下線）および ヒスチジンタグ（太 字）を有するKYP ROT286のアミ ノ酸配列	FTVTVPKIDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQIDLAALIVYWMKDKNE IQFVHGESDLKVQHSSYRQRARLLKQQLSLGNAALQITDVKLQDAG VYRCMTSYGGADYKRITVKVNAPYNTNQRILVVDVETSEHRLTCQ AEGYFKAELVIWISSDHQVLSGKITTNSKREEKLFNVITSLRLNTT TNEIFYCTFRRLDPFENHTASLVIPELPLAHPNERTIEGRDYKDD DDKHHHHHH
506	成熟ヒトI COS	ヒトICOSの成熟 アミノ酸配列	EINGSANYEMFIFHNGGVQILCKYPDIVQQF KMQLLKGGQILCDLTKTKGSGNTVSIKSLK FCHSQLSNNSVSFFLYNLDSHANYFYFCNL SIFDPPPFKVTLTGGYLHIYESQLCCQLKFW LPIGCAAFVVVCILGCILICWLTKKKYSSSV HDPNGEYMFMRVNTAKKSRLTDVTL

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 6 3】

配列番号	名称	説明	配列
507	ヒトICOS細胞外ドメイン	ヒトICOS細胞外ドメインのアミノ酸配列	EINGSANYEMFIFHNGGVQILCKYPDIVQQF KMQLLKGGQILCDLTKTKGSGNTVSIKSLK FCHSQLSNNSVSFFLYNLDSHSHANYFCNL SIFDPPPFKVTLTGGYLHIYESQLCCQLKF
508	シグナルペプチドを有するヒトICOS	ヒトICOSのアミノ酸配列（シグナルペプチドに下線が引かれている）	<u>MXSGLWYFFLFCLRIKVL</u> TGEINGSANYEMFIFHNGGVQILCKYPD IVQOFKMQLLKGGQILCDLTKTKGSGNTVSIKSLKFCHSQLSNNSV SFFLYNLDSHSHANYFCNLSTFDPPPFKVTLTGGYLHIYESQLCCQ LKFWLPIGCAAFVVCILGCLICWLTKKKYSSSVHDPNGEYMFMR AVNTAKKSRLTDVTL
509	ヒトICOSのアイソフォーム (Q9Y6W8-2)	ヒトICOSアイソフォームのアミノ酸配列	このアイソフォームの配列は、以下のようにその細胞質ドメインにおける正準配列とは異なる:168~199:KYSSSVHDPNGEYMFMRVNTAKKSRLTDVTLM
510	成熟マウスICOS	マウスICOSの成熟アミノ酸配列	EINGSADHRMFSFHNGGVQISCKYPETVQQ LKMRLFREREVLCELTKTKGSGNAVSINKNP MLCLYHLSNNSVSFFLNNPDSSQGSYYFCS LSIFDPPPFQERNLSGGYLHIYESQLCCQLKI VVQVTE
511	マウスICOS細胞外ドメイン	マウスICOSの細胞外ドメインのアミノ酸配列	EINGSADHRMFSFHNGGVQISCKYPETVQQ LKMRLFREREVLCELTKTKGSGNAVSINKNP MLCLYHLSNNSVSFFLNNPDSSQGSYYFCS LSIFDPPPFQERNLSGGYLHIYESQLCCQLK
512	シグナルペプチドを有するマウスICOS	マウスICOSのアミノ酸配列（シグナルペプチドに下線が引かれている）	<u>MGWSCILFLVATATGVHSE</u> INGSADHRMFSFHNGGVQISCKYPET VQQLKMRLFREREVLCELTKTKGSGNAVSINKNPMLCLYHLSNNSVS FFLNNPDSSQGSYYFCSLSIFDPPPFQERNLSGGYLHIYESQLCCQ LKIVQVTE
513	シグナルペプチドを有するカニクイザルICOS	カニクイザルICOSのアミノ酸配列（シグナルペプチドに下線が引かれている）	<u>MXSGLWYFFLFCLHMKVLTG</u> EINGSANYEM FIFHNGGVQIL CKYPDIVQQ <u>FKMQLLKGGQILCDLTKTKGSGNAVSINKSLKFCHSQLSNNSVSFFL</u> YNLD RSHANYFCNLSTFDPPPFKVTLTGGYLHIYESQLCCQLKFWLPIG CATE VVCIFGCLICWLTKKKYSSTVHDPNGEYMFMRVNTAKKSRLTG TTP

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 6 4】

配列番号	名称	説明	配列
514	カニクイザルICOS細胞外ドメイン	カニクイザルICOS細胞外ドメインのアミノ酸配列	EINGSANYEMFIFHNGGVQILCKYPDIVQQF KMQLLKGGQILCDLTKTKG SGNKVSIKSLKFCHSQLSNNSVSFFLYNLDR SHANYYFCNLSIFDPPPFK VTLTGGYLHIYESQLCCQLK
515	ヒトICOSリガンド	細胞外ドメインを含むヒトICOSリガンドのアミノ酸配列	DTQEKEVRAMVGSDELSCACPEGSRFDL NDVYVYVWQTSESKTVVITYHIPQNSSLENV DSRYRNRALMSPAGMLRGDFSLRLFNVT QDEQKFHCLVLSQSLGFQEVLSVEVTLHVA ANFSVPVVSAPHSPSQDELFTCTTSINGYPR PNVYWINKTDNSLLDQALQNDTVFLNMRG LYDVVSVLRIARTPSVNIGCCIEENVLLQQNL TVGSQTGNDIGERDKITENPVSTGEKNAAT WS
516	ヒトICOSリガンド	シグナルペプチドを含むヒトICOSリガンドのアミノ酸配列	MRLGSPGLLFLLFSSLRADTQEKEVRAMVG SDVELSCACPEGSRFDLNDVYVYVWQTSESK TVVITYHIPQNSSLENVDSRYRNRALMSPAG MLRGDFSLRLFNVTQDEQKFHCLVLSQSL GFQEVLSVEVTLHVAANFSVPVVSAPHSPS QDELFTCTTSINGYPRPNVYWINKTDNSLL DQALQNDTVFLNMRGLYDVVSVLRIARTP SVNIGCCIEENVLLQQNLTVGSQTGNDIGER DKITENPVSTGEKNAATWSILAVLCLLVVV AVAIGWVCRDRCLQHSYAGAWAVSPETEL TGHV
配列番号 610 ICOSL-Fc DTQEKEVRAMVGSDELSCACPEGSRFDLNDVYVYVWQTSESKTVVITYHIPQNSSLENVDSRYRNRALMSPAGMLRGDFSLRLFNVT PQDEQKFHCLVLSQSLGFQEVLSVEVTLHVAANFSVPVVSAPHSPSQDELFTCTTSINGYPRPNVYWINKTDNSLLDQALQNDTVFLNMRG LYDVVSVLRIARTPSVNIGCCIEENVLLQQNLTVGSQTGNDIGERDKITENPVSTGEKNAATWSILAVLCLLVVVAVAIGWVCRDRCLQHSYAGAWAVSPETEL TGHV PCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNKKEYKCKVSNKAIIPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTCTVQKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK リンカーには下線が引かれ、かつ太字である。リンカーの前の配列は、ヒトICOSL(B7-H2)である。リンカーに続く配列は、ヒトIgG1Fcである。			

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 6 5】

配列 番号	名称	説明	配列
517	h I L - 2 の C 末端ア ミノ酸配列	R 3 8 W 変異 (太字 および下線) を有す る h I L - 2 のアミ ノ酸 2 1 ~ 1 3 3	LQMILNGINNYKNPKLT <u>A</u> MLTFKFMPPKATSLKHLOCL EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLLRPRDLISNINIVIVLELKG SETTFMCEYADETATIVEEFLNRWITFCQSTISTLT
518	h I L - 2 の C 末端ア ミノ酸配列	R 3 8 Q 変異 (太字 および下線) を有す る h I L - 2 のアミ ノ酸 2 1 ~ 1 3 3	LQMILNGINNYKNPKLT <u>Q</u> MLTFKFMPPKATSLKHLOCL EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLLRPRDLISNINIVIVLELKG SETTFMCEYADETATIVEEFLNRWITFCQSTISTLT
519	S T I M O 0 2 - 修正 軽鎖可変領 域	S T I M O 0 2 の修 正 V _L の核酸配列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTC CCTGCCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCT CCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTC CTGCATAGTGATGGATACTAATTTGGA TTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTACT CGGGCCTCCGGGTTCCCTGACAGGTTTCAG TGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACAC TGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA TGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTC TACAACTCCGCTCAGTTTTGGCCAGGGG ACCAAGCTGGAGATCAAA

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 6 6】

配列 番号	名称	説明	配列
520	STIM0 02-修正 完全軽鎖配 列	修正STIM002 軽鎖の核酸配列	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTC CCTGCCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCT CCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTC CTGCATAGTGATGGATACAACTATTTGGA TTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTC CACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTACT CGGGCCTCCGGGTTCCCTGACAGGTTTCAG TGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACAC TGAAAATCAGCAGAGTGAGGCTGAGGA TGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTC TACAACTCCGCTCAGTTTTGGCCAGGGG ACCAAGCTGGAGATCAAAcgtacggtggccgctc cctccgtgttcatttccaccttccgacgagcagtgaaagtcggc accgcttctgtcgtgtgcctgtgaacaacttctaccccgagggc caaggtgcagtggaaggtggacaacgcctgcagtcggcaactc ccaggaatccgtaccgagcaggactccaaggacagcacctactc cctgtcctccacctgacctgtccaagccgactacgagaagcac aaggtgtacgcctgcgaagtgaccaccaggcgctgtctagcccc gtgaccaagtcttcaaccggggcgagtgt
521	STIM0 03-修正 重鎖可変領 域	STIM003の修 正V _{II} の核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAG GTGTGGTACGGCCTGGGGGGTCCCTGAG ACTCTCCTGTGTAGCCTCTGGAGTCACCT TTGATGATTATGGCATGAGCTGGGTCCGC CAAGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TCTCTGGTATTAATTGGAATGGTGGCGAC ACAGATTATTCAGACTCTGTGAAGGGCCG ATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAG AACTCCCTGTATCTACAAATGAATAGTCT GAGAGCCGAGGACACGGCCTTGTATTACT GTGCGAGGGATTCTATGGTTCGGGGAGT TATTATCACGTTCTTTTGACTIONTGGGG CCAGGGAATCCTGGTCACCGTCTCCTCA

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 6 7】

522	STIM0 03-修正 完全重鎖配 列	修正STIM003 重鎖の核酸配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAG GTGTGGTACGGCCTGGGGGGTCCCTGAG ACTCTCCTGTGTAGCCTCTGGAGTCACCT TTGATGATTATGGCATGAGCTGGGTCCGC CAAGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGG TCTCTGGTATTAATTGGAATGGTGGCGAC ACAGATTATTCAGACTCTGTGAAGGGCCG ATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAG AACTCCCTGTATCTACAAATGAATAGTCT GAGAGCCGAGGACACGGCCTTGTATTACT GTGCGAGGGATTTCTATGGTTCGGGGAGT TATTATCACGTTCCCTTTGACTACTGGGG CCAGGGAATCCTGGTCACCGTCTCCTCAG CCAGCACCAAGGGCCCCTCTGTGTTCCCT CTGGCCCCTTCCAGCAAGTCCACCTCTGG CGGAACAGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGA AGGACTACTTCCCCGAGCCTGTGACCGTG TCCTGGAACCTCTGGCGCTCTGACCAGCGG AGTGCACACCTTCCCTGCTGTGCTGCAGT CCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCCTCCGTC GTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA AGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAA GGTGGAACCAAGTCCCTGCGACAAGACC CACACCTGTCCCCCTTGTCTGCCCTGA ACTGCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGT TCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATG ATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGT GGTGGTGGATGTGTCCACGAGGACCCTG AAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGG CGTGGAAGTGACAACGCCAAGACCAAG CCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCT ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTG CACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGT ACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCT GCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCCA
-----	------------------------------	----------------------	--

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 6 8】

配列 番号	名称	説明	配列
			AGGCCAAGGGCCAGCCCCGGAACCCCA GGTGTACACACTGCCCCCTAGCAGGGAC GAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGA CCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCC GATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACG GCCAGCCTGAGAACAACCTACAAGACCAC CCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCAT TCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGAC AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGT TCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTG CACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTC CCTGAGCCCCGGCAAGTGATGA
523	ヒト I g G 1 定常 領域	IG HG 1*0 3	ヒト重鎖定常領域 （IGHG1*0 3）ヌクレオチド配 列
			gcctccaccaaggcccatcggtcttccccctggcacctctcca agagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctgtcaag gactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccc tgaccagcggtgcacaccttcccggtgtctctacgtctcagg actctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttg gcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaca ccaaggtggacaagagagttgagcccaatcttgacaaaactca cacatgccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtc agtcttctcttcccccaaaaccaaggacacctcatgatctccc ggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaag accctgaggtcaagttaactggtacgtggacggcgtggagtgca taatgccaaagacaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgt accgtgtggtcagcgtctcaccgtctgcaccaggactggctgaa tggaaggagtacaagtgaaggtctccaacaagccctcccagc ccccatcgagaaaacctctccaagccaaggcagccccgag aaccacaggtgtacacctgccccatcccgaggaggatgacca agaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaaggcttctatccag cgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaaca actacaagaccagcctcccgtgtgactccgacggctcttcttc ctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggg aacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactac acgcagaagagcctctccctgtccccgggtaaa

10

20

30

40

【表 3 1 - 6 9】

配列 番号	名称	説明	配列
524		ヒト重鎖定常領域 (IGHG1*03) タンパク質配列	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 7 0】

配列 番号	名称	説明	配列
525	ヒト I g G 1 定常 領域	IG HG I*0 4 ヒト重鎖定常領域 (I G H G 1 * 0 4) スクレオチド配 列	gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcacccctctcca agagcacctctgggggcacagcgccctgggtgcctggtcaag gactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccc tgaccagcggtgcacacctccccggctgtcttacagtctcagg acttactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttg gcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaca ccaaggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgacaaaactca cacatgccaccgtgccagcacctgaactctggggggaccgtc agtcttctcttcccccaaaccaaggacaccctcatgatctccc ggaccctgaggtcacatgcgtggtggtgacgtgagccacgaag accctgaggtcaagtcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca taatgccaagacaaagccgaggaggagcagtacaacagcacgt accgtgtgtcagcgtctcaccgtctgcaccaggactggtgaa tggcaaggagtacaagtgaaggttccaacaagccctcccagc cccatcgagaaaaccatctccaagccaagggcagccccgag aaccacaggtgtacacctgccccatccgggatgagctgacca agaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatccag cgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaaca actacaagaccacgcctcccggtgctggactccgacggctcttctc ctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggg gaacatcttctcatgtccgtgatgcatgaggtctgcacaaccacta cacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa
526		ヒト重鎖定常領域 (I G H G 1 * 0 4) タンパク質配列	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNIFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 7 1】

配列 番号	名称	説明	配列
527	ヒト I g G 2 定常 領域	IG HG 2*0 1&I GH G2 *03 &I GH G2 *05	ヒト重鎖定常領域 (I G H G 2 * 0 1) ヌクレオチド配 列
			gcctccaccaaggggcccatcggtcttccccctggcgccctgetcca ggagcacctccgagagcacagccgccctgggctgctggtcaag gactacttccccgaaccggtgacgggtgctggaactcaggcgctc tgaccagcggtgacacacctccagctgtcttacagtcctcagg actctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcaactcg gcaccagacctacacctgcaacgttagatcacaagcccagcaaca ccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgtgtgctgagtgccc accgtgccagcaccacctgtggcaggaccgtcagttctctcttcc ccccaaaaccaaggacaccctcatgatctcccgaccctgaggt cacgtgctggtggtgagcgtgagccagaagaccccagggtcc agttcaactggtactgtgacggcggtggaggtgcataatgccaagac aaagccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcag cgtctcaccgttgtgaccaggactggctgaacggcaaggagtac aagtgaaggtctccaacaaggcctccagcccccatcgagaaa accatctccaaaacaaaggcgagccccgagaaccacaggtgtac accctgcccccatccgggaggagatgaccaagaaccaggtcag cctgacctgcctggtcaaaggcttctacccagcgacatcgccgtg gagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccac acctccatgctggactccgacggctccttctctctacagcaagct caccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtctctcatg ctcgtgatgatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagc ctctccctgtctccgggtaaa
528		ヒト重鎖定常領域 (I G H G 2 * 0 1) タンパク質配列	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSN TKVDKTVKCCVECPGPCAPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR VVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 7 2】

529	ヒト I g G 2 定常 領域	IG HG 2*0 2	ヒト重鎖定常領域 (I G H G 2 * 0 2) ヌクレオチド配 列	GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCC CCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCG AGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACCTCAGGCGCTCTGACCAG CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTAC AGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGACCTCCAGCAACTTCGG CACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATC ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAA GACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGT GCCCACCGTGCCCAGCACCACTGTGGCA GGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGAC GTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGT TCAACTGGTACGTGGACGGCATGGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAG GAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGT CAGCGTCCTCACCGTCGTGCACCAGGACT GGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAA GGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCA TCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACC CTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTC AAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG AACAACTACAAGACCACACCTCCCATGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGG TAAA
-----	------------------------------	----------------------	---	--

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 7 3】

配列 番号	名称		説明	配列
530			ヒト重鎖定常領域 (IGHG2*0 2) タンパク質配列	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDPKPSN TKVDKTVRKCCVECPAPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VQFNWYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFR VVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSGSSFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
531	ヒト I g G 2 定常 領域	IG HG 2*0 4	ヒト重鎖定常領域 (IGHG2*0 4) スクレオチド配 列	gcctccaccaaggcccatcggtcttccccctggcgccctgctcca ggagcacctccgagagcacagcgccctgggctgcctggtcaag gactacttccccgaaccggtgacggtgctggtgaactcaggcgctc tgaccagcggtgcacaccttccagctgtctacagtcctcagg actctactccctcagcagcggtgacggtgacctccagcagcttg gcaccagacctacactgcaacgtagatcacaagcccagcaaca ccaagggtggacaagacagttgagcgcaaatgtgtgagtgccc accgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagttctcttcc ccccaaaaccaaggacacctcatgatctccggacctctgaggt cacgtgcgtggtggtgacgtgagccacgaagccccgaggtcc agttcaactggtacgtggacggcggtggaggtgcataatgccaagac aaagccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcag cgtctcaccgtgtgacaccaggactggctgaacggcaaggagtac aagtgaaggtctccaacaaaggcctccagcccccatcgagaaa accatctccaaaacaaaggcgagccccgagaaccacaggtgtac acctgcccccatccgggaggagatgaccaagaaccaggtcag cctgacctgcctggtcaaggcttctaccccagcgacatcgccgtg gagtgaggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccac acctccatgctgactccgacggtcctcttctctctacagcaagct caccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatg ctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagc ctctccctgtctccggtaaa

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 7 4】

配列 番号	名称	説明	配列
532		ヒト重鎖定常領域 (IGHG2*04) タンパク質配列	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDPKPSN TKVDKTVVERKCCVECPAPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR VVSVELTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 7 5】

533	ヒト I g G 2 定常 領域	IG HG 2*0 6	ヒト重鎖定常領域 (I G H G 2 * 0 6) ヌクレオチド配 列	GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCC CCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCG AGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACCTCAGGCGCTCTGACCAG CGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTAC AGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGG CACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATC ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAA GACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGT GCCCACCGTGCCCAGCACCACTGTGGCA GGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAA ACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACAGTGCGTGGTGGTGGAC GTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGT TCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAG GAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGT CAGCGTCCTCACCGTCGTGCACCAGGACT GGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAA GGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCA TCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACC CTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTC AAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCTCCGT GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAG AACAACCTACAAGACCACACCTCCCATGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA GCAAGCTCACCGTGGAACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGG TAAA
-----	------------------------------	----------------------	---	--

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 7 6】

配列 番号	名称		説明	配列
534			ヒト重鎖定常領域 (IGHG2*06) タンパク質配列	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSN TKVDKTVVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR VVSVELTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDISEWESNGQPENN YKTTTPMLDSGDSFLLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
535	ヒト Cλ 定常 領域	IGL C7* 03	Cλ軽鎖定常領域 (IGLC7*03)ヌクレオチド配列	GGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCAC TCTGTTCCCACCTCCTCTGAGGAGCTTC AAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTC GTAAGTGACTTCAACCCGGGAGCCGTGA CAGTGGCCTGGAAGGCAGATGGCAGCCC CGTCAAGGTGGGAGTGGAGACCACCAAAA CCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTATG CGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCC GAGCAGTGGGAAGTCCCACAGAAGCTACA GCTGCCGGGTACGCATGAAGGGAGCAC CGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTGCAGAA TGCTCT
536			Cλ軽鎖定常領域 (IGLC7*03)アミノ酸配列	GQPKAAPSVTLPSPSEELQANKATLVCLV SDFNPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCR VTHEGSTVEKTVAPAECS

10

20

30

40

50

【表 3 1 - 7 7】

配列 番号	名称		説明	配列
537	ヒト WT Ig G1 定常 領域	IG HG 1*0 1&I GH G1 *05 (Ig G1)	WTヒトIgG1ヌ クレオチド配列#2	gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctctcca agagcacctctgggggcacagcgccctgggctgcctggtaag gactactccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccc tgaccagcgcggtgcacacctccccggctgtcctacagtctcagg actctactccctcagcagcgtggtgacctgcccctccagcagcttg gcaccagacctacatctgcaactgaatcacaagcccagcaaca ccaaggtggacaagaaagttgagcccaaatcttgacaaaactca cacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctggggggaccgtc agtcttctcttcccccaaaacccaaggacacctcatgatctccc ggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaag acctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgca taatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgt accgggtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaa tggcaaggagtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagc ccccatcgagaaaaccatctcaaagccaaagggcagccccgag aaccacaggtgtacacctgcccccatcccgggatgagctgacca agaaccaggtcagcctgacctgctgtaaaaggttctatcccag cgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaaca actacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttctc ctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggg gaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccacta cacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa
538	ヒト Cλ 定常 領域	IGL C2* 01	Cλ軽鎖定常領域ア ミノ酸配列#2ーヌ クレオチド配列バー ジョンAおよびBに よってコードされる	GQPKAAPSVTLPSPSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSK QSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECS

10

20

30

40

50

【表 3 2 - 1】

表 S 3. 配列番号 5 3 9 ~ 5 6 2

		配列
hIgG1 FIT-Ig 二重特異性 1a		
抗体 A	抗 ICOS STIM003	
抗体 B	抗 PD-L1 84G09	
FIT-Ig 構築物 #1	配列番号 539	DIQMTQSPASLSASLGETVTIQCRASEDIYSGLAWFQQK PGKSPQLLIYGASSLQDGVPSRFSGSGSGTQYSLKISSMQ TEDEGVYFCQQGLKYPPTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGECEVQLVESGGGLTQPGKSLK LSCEASGFTFSSFTMHWVRQSPGKGLEWVAFIRSGSGIV FYADAVRGRFTISRDNANKLLFLQMNDLKSEDTAMYY CARRPLGHNTFDSWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
FIT-Ig 構築物 #2	配列番号 540	EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFTFSDFYMAWVR QAPKKGLEWVASISYEGSSSTYYGDSVMGRFTISRDNAL STLYLQMNSLRSEDTATYYCARQREANWEDWGQGVN VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV

10

20

30

40

50

【表 3 2 - 2】

FIT-Ig 構築物 #3	配列番号 541	DIVMTQSPSSLAVSPGEKVTMTCKSSQSLYYSGVKENLL AWYQQKPGQSPKLLIYYASIRFTGVPDRFTGSGSGTDYT LTITSVQAEDMGQYFCQQGINNPLTFGDGKLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
------------------	-------------	---

hIgG1 FIT-Ig 二重特異性 1b			10
抗体 A	抗 PD-L1 84G09		
抗体 B	抗 ICOS STIM003		
FIT-Ig 構築物 #1	配列番号 542	DIVMTQSPSSLAVSPGEKVTMTCKSSQSLYYSGVKENL LAWYQQKPGQSPKLLIYYASIRFTGVPDRFTGSGSGTD YTLTITSVQAEDMGQYFCQQGINNPLTFGDGKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGECEVQLVESG GGLVQPGRSLKLSAASGFTFSDFYMAWVRQAPKKGL EWVASISYEGSSTYYGDSVMGRFTISRDNASTLYLQM NSLRSEDATYYCARQREANWEDWGQGMVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	20
FIT-Ig 構築物 #2	配列番号 543	EVQLVESGGGLTQPGKSLKLSCEASGFTFSFTMHVVR QSPGKGLEWVAFIRSGSGIVFYADAVRGRFTISRDNAL NLLFLQMNDLKSEDAMYYCARRPLGHNTFDSWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV	30

40

50

【表 3 2 - 3】

FIT-Ig 構築物 #3	配列番号 544	DIQMTQSPASLSASLGETVTIQCRASEDIYSGLAWFQQK PGKSPQLLIYGASSLQDGVPSRFSGSGSGTQYSLKISSM QTEDEGVYFCQQGLKYPPTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
------------------	-------------	---

hIgG1 FIT-Ig 二重特異性 2a			10
抗体 A	抗 ICOS STIM001		
抗体 B	抗 PD-L1 1D05		
FIT-Ig 構築物 #1	配列番号 545	DIQMTQSPASLSASLGETVTIQCRASEDIYSGLAWFQQK PGKSPQLLIYGASSLQDGVPSRFSGSGSGTQYSLKISSM QTEDEGVYFCQQGLKYPPTFGSGTKLEIKRTDAAPTISI FPPSDEQLTSGGASVVCFLNPFYKPDINVKWKIDGSRQ NGVLNSWTDQDSKDSTYMSSTLTLTKEDEYERHNSYT CEATHKTSTSPIVKSFNRNECEVQLVESGGGLTQPGKSL KLSCEASGFTFSFTMHVVRQSPGKGLEWVAFIRSGSGI VFYADAVRGRFTISRDNALNLLFLQMNDLKSEDTAMY YCARRPLGHNTFDSWGQGTLLTVSSAKTTAPSVYPLAP VCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVH TFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASST KVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNLLGGPSVFIAPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTA QTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMMSGKEFKCKVN NKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQV TLTCMVTDMPEDYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSD DGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHT TKSFSRTPGK	20
FIT-Ig 構築物 #2	配列番号 546	EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFTFSDFYMAWV RQAPKKGLEWVASISYEGSSTYYGDSVMGRFTISRDN KSTLYLQMNSLRSEDTATYYCARQREANWEDWGQGV MVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGY FPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVT SSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI	30
			40

【表 3 2 - 4】

FIT-Ig 構築物 #3	配列番号 547	DIVMTQSPSSLA VSPGEKVTMTCKSSQSLYYSGVKENL LAWYQQKPGQSPKLLIYYASIRFTGVPDRFTGSGSGTD YTLTITSVQAEDMGQYFCQQGINNPLTFGDGKLEIKRT DAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKW KIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKEY ERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
------------------	-------------	--

hIgG1 FIT-Ig 二重特異性 2b		
抗体 A	抗 PD-L1 1D05	
抗体 B	抗 ICOS STIM001	
FIT-Ig 構築物 #1	配列番号 548	DIVMTQSPSSLA VSPGEKVTMTCKSSQSLYYSGVKENL LAWYQQKPGQSPKLLIYYASIRFTGVPDRFTGSGSGTD YTLTITSVQAEDMGQYFCQQGINNPLTFGDGKLEIKR TDAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVK WKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKEY EYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNECEVQLVESG GGLVQPGRSLKLSCAASGFTFSDFYMAWVRQAPKKGL EWVASISYEGSSTYYGDSVMGRFTISRDNASTLYLQM NSLRSEDATYYCARQREANWEDWGQGMVTVSSAK TTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQ SITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLL GGPSVFIFPPKIKDVLMSISPIVTCVVVDVSEDDPDVQI SWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHGD WMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVY VLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIVYEWVTNNGK TELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSY SCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
FIT-Ig 構築物 #2	配列番号 549	EVQLVESGGGLTQPGKSLKLSCEASGFTFSFTMHWVR QSPGKGLEWVAFIRSGSIVFYADAVRGRFTISRDNAST NLLFLQMNDLKSEDATAMYYCARRPLGHNTFDSWGQG TLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKG YFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTV TSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI

10

20

30

40

50

【表 3 2 - 5】

FIT-Ig 構築物 #3	配列番号 550	DIQMTQSPASLSASLGETVTIQCRASEDIYSGLAWFQQ KPGKSPQLLIYGASSLQDGVPSRFSGSGSGTQYSLKISS MQTEDEGVYFCQQGLKYPPTFGSGTKLEIKRTDAAPTV SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE RQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNS YTCEATHKSTSTSPIVKSFNRECE
------------------	-------------	--

hIgG1 FIT-Ig 二重特異性 3a			10
抗体 A	抗 ICOS STIM003		
抗体 B	抗 PD-L1 1D05		
FIT-Ig 構築物 #1	配列番号 551	DIQMTQSPASLSASLGETVTIQCRASEDIYSGLAWFQQK PGKSPQLLIYGASSLQDGVPSRFSGSGSGTQYSLKISSM QTEDEGVYFCQQGLKYPPTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCFLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECEVQLVESGGGLTQPGK SLKLSCEASGFTFSSTMHVVRQSPGKGLEWVAFIRSG SGIVFYADAVRGRFTISRDNALNLLFLQMNDLKSEDTA MYYCARRPLGHNTFDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVF LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPNLLGGPSVFIFPPKI KDVLMSISPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVH TAQTQTHREDYNSLTIRVVSALPIQHQQDWMMSGKEFKCK VNNKDLPAPIERTISKPKGSRAPQVYVLPPEEEMTKK QVTLTCMVTDMPEDIVVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHN HHTTKSFSRTPGK	20
FIT-Ig 構築物 #2	配列番号 552	EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSAASGFTFSDFYMAWV RQAPKKGLEWVASISYEGSSTYYGDSVMGRFTISRDN KSTLYLQMNSLRSEDTATYYCARQREANWEDWGQGV MVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV	30
			40

【表 3 2 - 6】

FIT-Ig 構築物 #3	配列番号 553	DIVMTQSPSSSLAVSPGEKVTMTCKSSQSLYYSGVKENL LAWYQQKPGQSPKLLIYYASIRFTGVPDRFTGSGSGTD YTLTITSVQAEDMGQYFCQQGINNPLTFGDGKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
------------------	-------------	---

hIgG1 FIT-Ig 二重特異性 3b			10
抗体 A	抗 PD-L1 1D05		
抗体 B	抗 ICOS STIM003		
FIT-Ig 構築物 #1	配列番号 554	DIVMTQSPSSSLAVSPGEKVTMTCKSSQSLYYSGVKENL LAWYQQKPGQSPKLLIYYASIRFTGVPDRFTGSGSGTD YTLTITSVQAEDMGQYFCQQGINNPLTFGDGKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECEVQLVESG GGLVQPGRSLKLSCAASGFTFSDFYMAWVRQAPKKGL EWVASISYEGSSTYYGDSVMGRFTISRDNASTLYLQM NSLRSEDTATYYCARQREANWEDWGQGMVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPNLLG GPSVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQIS WFWNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDW MSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVL PPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDSGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK	20
FIT-Ig 構築物 #2	配列番号 555	EVQLVESGGGLTQPGKSLKLSCEASGFTFSFTMHWVR QSPGKGLEWVAFIRSGSGIVFYADAVRGRFTISRDNK NLLFLQMNDLKSEDAMYYCARRPLGHNTFDSWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV	30
			40

【表 3 2 - 7】

FIT-Ig 構築物 #3	配列番号 556	DIQMTQSPASLSASLGETVTIQCRASEDIYSGLAWFQQK PGKSPQLLIYGASSLQDGVPSRFSGSGSGTQYSLKISSM QTEDEGVYFCQQGLKYPPTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
------------------	-------------	---

hIgG1 FIT-Ig 二重特異性 4a			10
抗体 A	抗 ICOS STIM001		
抗体 B	抗 PD-L1 84G09		
FIT-Ig 構築物 #1	配列番号 557	DIQMTQSPASLSASLGETVTIQCRASEDIYSGLAWFQQ KPGKSPQLLIYGASSLQDGVPSRFSGSGSGTQYSLKISS MQTEDEGVYFCQQGLKYPPTFGSGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECEVQLVESGGGLT QPGKSLKLSCEASGFTFSFTMHVVRQSPGKGLEWVA FIRSGSGIVFYADAVRGRFTISRDNALNLLFLQMNDLK SEDTAMYYCARRPLGHNTFDSWGQGLTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPNLLGGPSV FIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWV NNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHWDWMS GKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSRAPQVYVLP PEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK	20
FIT-Ig 構築物 #2	配列番号 558	EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSAASGFTFSDFYMAWV RQAPKKGLEWVASISYEGSSTYYGDSVMGRFTISRDN AKSTLYLQMNSLRSEDATYYCARQREANWEDWGQG VMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV	30
			40

【表 3 2 - 8】

FIT-Ig 構築物 #3	配列番号 559	DIVMTQSPSSSLAVSPGEKVTMTCKSSQSLYYSGVKENL LAWYQQKPGQSPKLLIYYASIRFTGVPDRFTGSGSGTD YTLTITSVQAEDMGQYFCQQGINNPLTFGDGDKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
------------------	-------------	---

hIgG1 FIT-Ig 二重特異性 4b			10
抗体 A	抗 PD-L1 84G09		
抗体 B	抗 ICOS STIM001		
FIT-Ig 構築物 #1	配列番号 560	DIVMTQSPSSSLAVSPGEKVTMTCKSSQSLYYSGVKENL LAWYQQKPGQSPKLLIYYASIRFTGVPDRFTGSGSGTD YTLTITSVQAEDMGQYFCQQGINNPLTFGDGDKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECEVQLVESGG GLVQPGRSLKLSCAASGFTFSDFYMAWVRQAPKKGLE WVASISYEGSSTYYGDSVMGRFTISRDNASTLYLQMN SLRSEDATYYCARQREANWEDWGQGVMTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPNLLGPS VFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWV NNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMMSG KEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPE EEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYK NTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVH EGLHNHHTTKSFSRTPGK	20
FIT-Ig 構築物 #2	配列番号 561	EVQLVESGGGLTQPGKSLKLSCEASGFTFSFTMHVVR QSPGKGLEWVAFIRSGSGIVFYADAVRGRFTISRDNK NLLFLQMNDLKSEDAMYYCARRPLGHNTFDSWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV	30

40

50

【表 3 2 - 9】

FIT-Ig 構築物 #3	配列番号 562	DIQMTQSPASLSASLGETVTIQCRASEDIYSGLAWFQQK PGKSPQLLIYGASSLQDGVPSRFSGSGSGTQYSLKISSM QTEDEGVYFCQQGLKYPPTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
------------------	-------------	---

10

【表 3 3 - 1】

表 S 4 : 追加のクローンから得た抗体重鎖可変領域の配列
CDR は、IMGT に従って定義される。

CLONE_ID	VH_NUCLEOTIDE_SEQUENCE	VH_AMINO_ACID_SEQ	HCDR1	HCDR2	HCDR3
CL-61091	CAGGTTCAACTGATGCAGTCTGGAAGTGAAGGTGA AGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCA AGACTTCTGGTTACACCTTTACCACCTATGGTAT CACTTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTT GAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAGTGGT GACACAGACTATGCACAGAAGTCCAGGGCAGA GTCACCGTGACAACAGACACATCCAGAACACA GCCTACATGGAGTTGAGGAGCCTGAAATCTGAC GACACGGCCGTGATTATTGTGCGAGAAGTAGTG GCTGGCCCCACCACTACGGTATGGACGTCTGGGG CCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAG 配列番号 563	QVQLMQSGTEVKK PGASVKVSCCTSGY TFTTYGITWVRQAP GQGLEWMGWISAY SGD TDY A Q K F Q G R V T V T D T S T N T A Y M E L R S L K S D D T A V Y Y C A R S S G W P H H Y G M D V W G Q G T V T V S S 配列番号 564	GYTFTT YG 配列番号 565	ISAYSGDT 配列番号 566	ARSSGWPHHYGM DV 配列番号 567

20

【表 3 3 - 2】

CLONE_ID	VH_NUCLEOTIDE_SEQUENCE	VH_AMINO_ACID_SEQ	HCDR1	HCDR2	HCDR3
CL-64536	CAGGTTCAACTGGTGCAGTCTGGAGGTGAGGTG AAAAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGC AAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTT TCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGAC TAGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATG GTAACACAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCA GAGTCTCCATGACCACAGACACATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCTTGAGATCTG ACGACACGGCCGTGATTTCTGTGCGCGATCTAC GTCTTACTATGGTTCGGGGACCCTATACGGTATG GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCAG 配列番号 568	QVQLVQSGGEVKK PGASVKVSKKASG YTFTSYGF SWVRQ APGQGLEWMGWIS AYNGNTNYA QKLQ GRVSM TDTSTSTA YME LRS LRSDDTA VYFCARSTSYYGSG TLYGMDVWGQGT TVTVSS 配列番号 569	GYTFTS YG 配列番号 377	ISAYNGN T 配列番号 378	ARSTSYYGSGTLY GMDV 配列番号 570

30

40

50

【表 3 3 - 3】

CLONE_ID	VH_NUCLEOTIDE_SEQUENCE	VH_AMINO_ACID_SEQ	HCDR1	HCDR2	HCDR3
CL-64837	CAGGTTCAACTGGTGCAGTCTGGAGGTGAGGTG AAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGC AAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTT TCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGAC TAGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATG GTAACACAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCA GAGTCTCCATGACCACAGACATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCTTGAGATCTG ACGACACGGCCGTGATTACTGTGCGCGATCTAC GTCTTACTATGGTTTCGGGGACCCTCTACGGTATG GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCAG 配列番号 571	QVQLVQSGGEVKK PGASVKVSKASG YTFTSYGFSWVRQ APGQGLEWMGWIS AYNGNTNYAQKLQ GRVSMITDTSTSTA YMERLSLRSDDTA VYYCARSTSYYS GTLYGMDVWGQG TTVTVSS 配列番号 572	GYTFTS YG 配列番号 377	ISAYNGN T 配列番号 378	ARSTSYYSGLTY GMDV 配列番号 570

10

【表 3 3 - 4 3】

CLONE_ID	VH_NUCLEOTIDE_SEQUENCE	VH_AMINO_ACID_SEQ	HCDR1	HCDR2	HCDR3
CL-64841	CAGGTTCAACTGGTGCAGTCTGGAGGTGAGGTG AAAAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGC AAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTT TCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGAC TAGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATG GTAACACAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCA GAGTCTCCATGACCACAGACATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCTTGAGATCTG ACGACACGGCCGTGATTTCTGTGCGCGATCTAC GTCTTACTATGGTTCGGGGACCCTATACGGTATG GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCAG 配列番号 573	QVQLVQSGGEVKK PGASVKVSKASG YTFTSYGFSWVRQ APGQGLEWMGWIS AYNGNTNYAQKLQ GRVSMITDTSTSTA YMERLSLRSDDTA VYFCARSTSYYS TLYGMDVWGQGT TTVTVSS 配列番号 574	GYTFTS YG 配列番号 377	ISAYNGN T 配列番号 378	ARSTSYYSGLTY GMDV 配列番号 570

20

30

【表 3 3 - 5】

CLONE_ID	VH_NUCLEOTIDE_SEQUENCE	VH_AMINO_ACID_SEQ	HCDR1	HCDR2	HCDR3
CL-64912	CAGGTTCAACTGGTGCAGTCTGGAGGTGAGGTG AAAAAGCCTCGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGTGTT AGCTGGGTGCGACATGCCGCTGGACAAGGACTA GAGTGGATGGGATGGATCAGCGGTTACAATGGT AACACAACTATGCACAGAAGCTCCAGTGCAGA GTCTCGATGACCGCAGACATCCACGAGCACA GCCTACATGGAGCTGAGGAGCTTGAGATCTGAC GACACGGCCGTGATTTCTGTGCGCGATCTACGT CTTACTATGGTGCGGGACCCTATACGGTATGGA CGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCC TCAG 配列番号 575	QVQLVQSGGEVKK PRASVKVSKASG YTFTSYVFSWVRH AAGQGLEWMGWIS GYNGNTNYAQKLQ CGVSMITDTSTSTA YMERLSLRSDDTA VYFCARSTSYGA GTLYGMDVWGQG TTVTVSS 配列番号 576	GYTFTS YV 配列番号 577	ISGYNGN T 配列番号 578	ARSTSYYGAGTLY GMDV 配列番号 579

40

50

【表 3 3 - 6】

CLONE_ID	VH_NUCLEOTIDE_SEQUENCE	VH_AMINO_ACID_SEQ	HCDR1	HCDR2	HCDR3
CL-71642	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGTGTG GTACGGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGGCAT GAGCTGGGTCCGCCAAGCTCCAGGGAAGGGGCT GGAGTGGGTCTCTGGTATTAATTGGAATGGTGGT AGCACAGGTTATGCAGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCCGAGG ACACGGCCTTGTATTACTGTGCGGCCGATTACTA TGGTTCGGGGAGTTATTATAACGTCCCCTTTGAC TACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCT CAG 配列番号 580	EVQLVESGGGVVR PGGSLRLSCAASGF TFDDYGMSWVRQA PGKLEWVSGINW NGGSTGYADSVKG RFTISRDNKNSLY LQMNSLRAEDTAL YYCAADYYGSGSY YNVPFDYWQGTL VTSS 配列番号 581	GFTFDD YG 配列番号 582	INWNGGS T 配列番号 583	AADYYGSGSYYNV PFDY 配列番号 584

10

【表 3 3 - 7】

CLONE_ID	VH_NUCLEOTIDE_SEQUENCE	VH_AMINO_ACID_SEQ	HCDR1	HCDR2	HCDR3
CL-74570	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGTGTG ATACGGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGGCAT GAGCTGGGTCCGCCAAGCTCCAGGGAAGGGGCT GGAGTGGGTCTCTGGTATTAATTGGATTGGTGAT AACACAGATTATGCAGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCC TATATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCCGAGG ACACGGCCTTGTATTACTGTGCGAGAGATTACTT TGGTTCGGGGAGTTATTATAACGTCCCCTTTGAC TACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCT CAG 配列番号 585	EVQLVESGGGVIRP GGSLRLSCAASGFT FDDYGMSWVRQAP GKLEWVSGINWI GDNTDYADSVKGR FTISRDNKNSLYL QMNSLRAEDTALY YCARDYFGSGSY NVVPFDYWQGTLV TVSS 配列番号 586	GFTFDD YG 配列番号 582	INWIGDN T 配列番号 587	ARDYFGSGSYYNV PFDY 配列番号 588

20

30

【表 3 4 - 1】

表 S 5 : 追加のクローンから得た抗体軽鎖可変領域の配列

CL-71642 における N 末端 E および 5' スクレオチド付加が太字で示される。これらは配列決定では回収されなかったが、図 3 6 に示される関連クローンに対する比較によって配列中に存在すると判定された。CDR は、IMGT に従って定義される。

CLONE_ID	VL_NUCLEOTIDE_SEQUENCE	VL_AMINO_ACID_SEQ	LCDR1	LCDR2	LCDR3
CL-61091	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGC CCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTG CAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAATGGA TTCAACTATTTCGATTGGTACCTGCAGAAGCCAG GACAGTCTCCACAGCTCCTGATCTTTTGGTTTCT AATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAAGT GCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAAT CAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTA TTACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCGCTCACT TTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC 配列番号 589	DIVMTQSPLSLPVT GEPASISCRSSQSLH SNGFNFDWYLQKP GQSPQLLIFLVNRA SGVPDRFSGSGSGTD FTLKISRVEAEDVGI YYCMQALQTPLTFG GGTKVEIK 配列番号 590	QSLHNSG FNY 配列番号 591	LVS 配列番号 592	MQALQTPLT 配列番号 593

40

50

【表 3 4 - 2】

CLONE_ID	VL_NUCLEOTIDE_SEQUENCE	VL_AMINO_ACID_SEQUENCE	LCDR1	LCDR2	LCDR3
CL-64536	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGC CCGTACCCCTGGAGAGCCGGCTCCATCTCCTG CAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAATGGA TACAACTGTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAG GGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTGGGTTT TACTCGGGCTCCGGGTTCCCTGACAGGTTTCACT GGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAA ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTT TATTACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCGTGCA GTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC 配列番号 594	DIVMTQSPLSLPVTP GEPASISCRSSQSLH SNGYNCLDWYLQKP GQSPQLLIYLGSTRA SGFPDRFSGSGSGTD FTLKISRVEAEDVGV YYCMQALQTPCSFG QGTKLEIK 配列番号 595	QSLHSNG YNC 配列番号 596	LGS 配列番号 371	MQALQTPCS 配列番号 400

10

【表 3 4 - 3】

CLONE_ID	VL_NUCLEOTIDE_SEQUENCE	VL_AMINO_ACID_SEQUENCE	LCDR1	LCDR2	LCDR3
CL-64837	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGC CCGTACCCCTGGAGAGCCGGCTCCATCTCCTG CAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAATGGA TACAACTGTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAG GGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTGGGTTT TACTCGGGCTCCGGGTTCCCTGACAGGTTTCACT GGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAA ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTT TATTACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCGTGCA GTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC 配列番号 597	DIVMTQSPLSLPVTP GEPASISCRSSQSLH SNGYNCLDWYLQKP GQSPQLLIYLGSTRA SGFPDRFSGSGSGTD FTLKISRVEAEDVGV YYCMQALQTPCSFG QGTKLEIK 配列番号 598	QSLHSNG YNC 配列番号 596	LGS 配列番号 371	MQALQTPCS 配列番号 400

20

【表 3 4 - 4】

CLONE_ID	VL_NUCLEOTIDE_SEQUENCE	VL_AMINO_ACID_SEQUENCE	LCDR1	LCDR2	LCDR3
CL-64841	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGC CCGTACCCCTGGAGAGCCGGCTCCATCTCCTG CAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAATGGA TACAACTGTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAG GGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTGGGTTT TACTCGGGCTCCGGGTTCCCTGACAGGTTTCACT GGCAGTGGATCAGGCACAGATTCTACACTGAAA ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTT TATTACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCGTGCA GTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC 配列番号 599	DIVMTQSPLSLPVTP GEPASISCRSSQSLH SNGYNCLDWYLQKP GQSPQLLIYLGSTRA SGFPDRFSGSGSGTD STLKISRVEAEDVGV YYCMQALQTPCSFG QGTKLEIK 配列番号 600	QSLHSNG YNC 配列番号 596	LGS 配列番号 371	MQALQTPCS 配列番号 400

30

40

50

【表 3 4 - 5】

CLONE_ID	VL_NUCLEOTIDE_SEQUENCE	VL_AMINO_ACID_SEQUENCE	LCDR1	LCDR2	LCDR3
CL-64912	GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGC CCGTACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTG CAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAATGGA TACAACTGTTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAG GGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTGGGTTC TACTCGGGCCTCCGGGTTCCTTGACAGGTTCACT GGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAA ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTT TATTACTGCATGCAAGCTCTACAACTCCGTGCA GTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC 配列番号 601	DIVMTQSPLSLPVTP GEPASISCRSSQSLH SNGYNCLDWYLQKP GQSPQLLIYLGSTRA SGFPDRFSGSGSGTD FTLKISRVEAEDVGV YYCMQALQTPCSFG QGTKLEIK 配列番号 602	QSLHSNG YNC 配列番号 596	LGS 配列番号 371	MQALQTPCS 配列番号 400
CL-71642	GAAATGTGTGACGAGTCTCCAGGCACCTGTCTTGTCCCA GGGAAAGAGCCACCTCTCCTCCAGGGCCACTCAGAGTCTTACC AGCAGCTACTTAGCCTGGTACGAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCAGCAGGGCCACTGGCATCCCA GACAGGTTCACTGGCAGTGGCTCTGGGACAGACTTCACTCTCACC ATCAGCAGACTGGAGCTGAAAGATTTTGAGTGATATTACTGTACG CAGTATGGTAGCTCAGCTTTCACCTTCGGCCCTGGCACCAGAGTG CATATCAAAC 配列番号 603	ETVLTQSPFTLSLSPGERA TISCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLIYGASSRAT GIPERFSGSGSGTDFTLT SRLEPEDFAVYYCQYGS PFTFGPGTKVDIK 配列番号 604	QSVSSSY 配列番号 426	GAS 配列番号 413	QQYGSSPFT 配列番号 605

10

【表 3 4 - 6】

CLONE_ID	VL_NUCLEOTIDE_SEQUENCE	VL_AMINO_ACID_SEQUENCE	LCDR1	LCDR2	LCDR3
CL-74570	GAAATGTGTGTGACGAGTCTCCAGGCACCTGT CTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTG CAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTA GCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCC AGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCA CTGGCATCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTC TGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG GAACCTGAAGATTTTGCAGTATATTACTGTCACC AGTATGGTAATTCACCATTCACCTTCGGCCCTGG GACCAAAGTGGATATCAAAC 配列番号 606	EIVLTQSPGTLISLSPG ERATLSCRASQSVSS SYLAWYQQKPGQAP RLLIYGASSRATGIPD RFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCHQ YGNSPFTFGPGTKVD IK 配列番号 607	QSVSSSY 配列番号 426	GAS 配列番号 413	HQYGNSPFT 配列番号 608

20

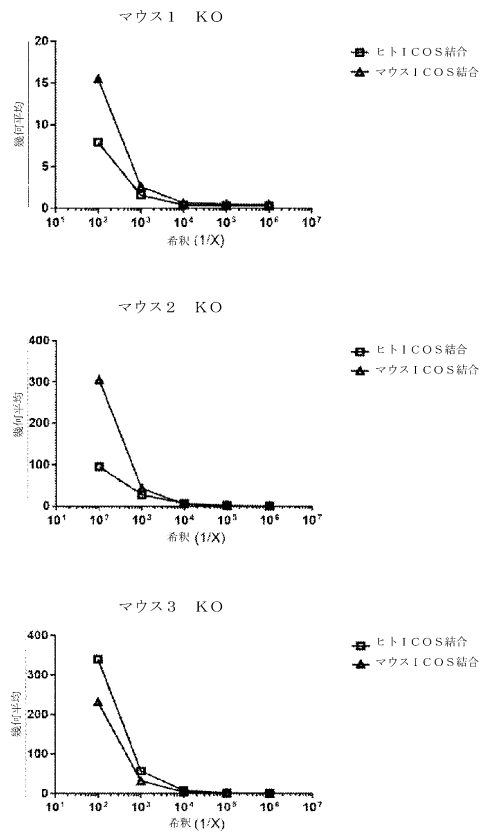
30

40

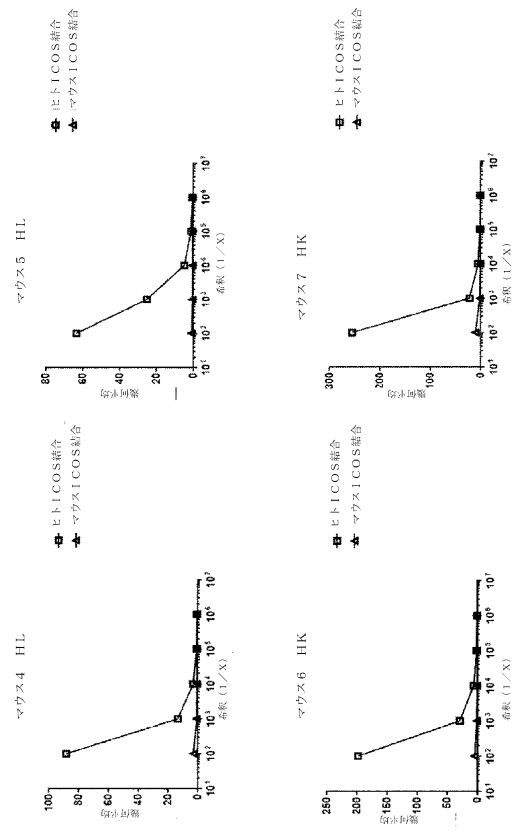
50

【図面】

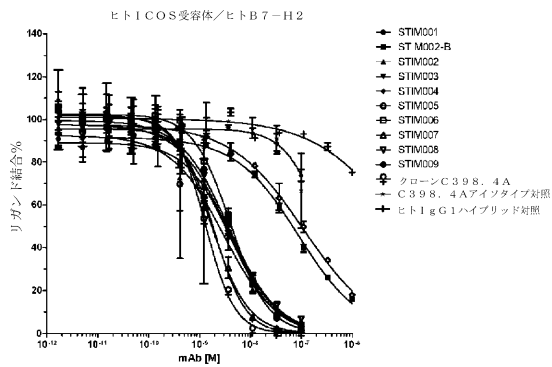
【図 1 - 1】



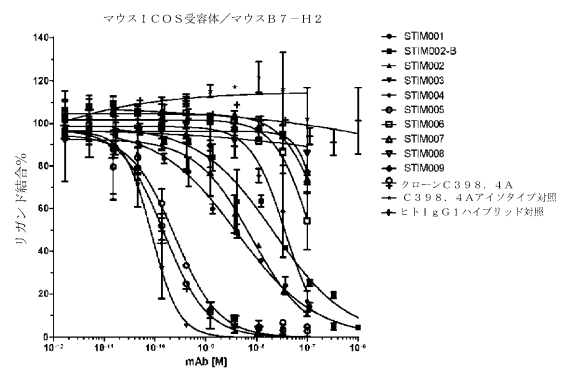
【図 1 - 2】



【図 2】



【図 3】



10

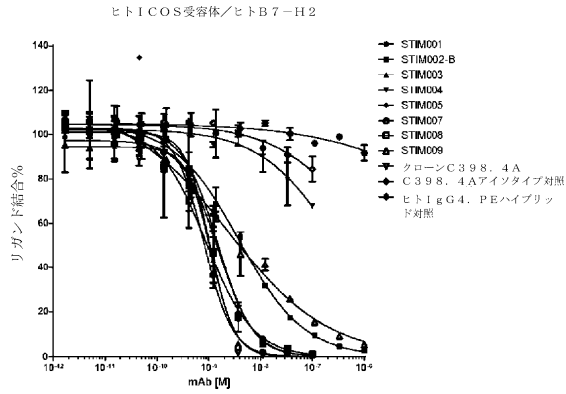
20

30

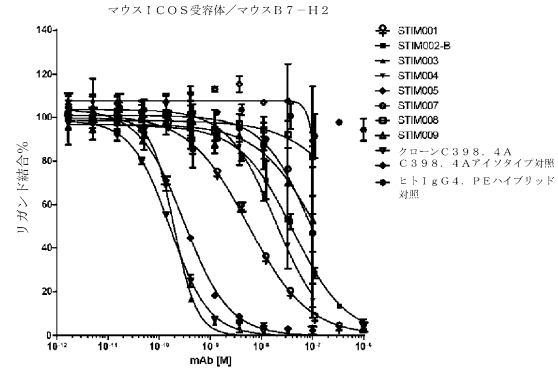
40

50

【図 4】

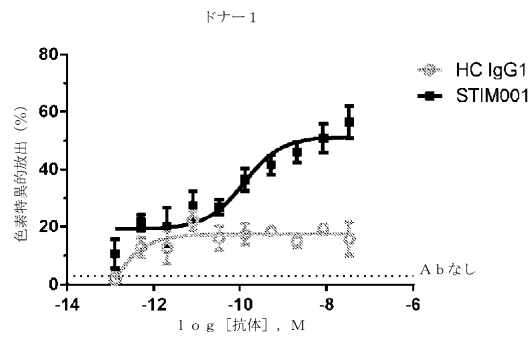


【図 5】



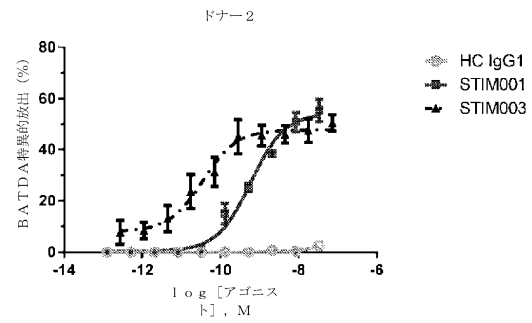
【図 6 - 1】

a

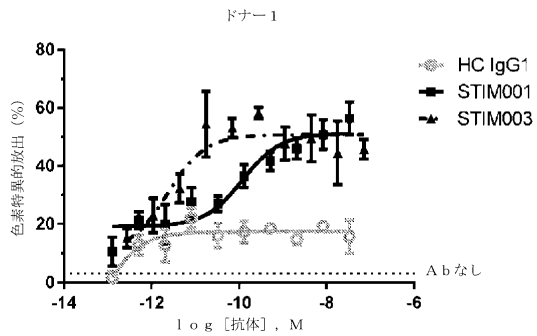


【図 6 - 2】

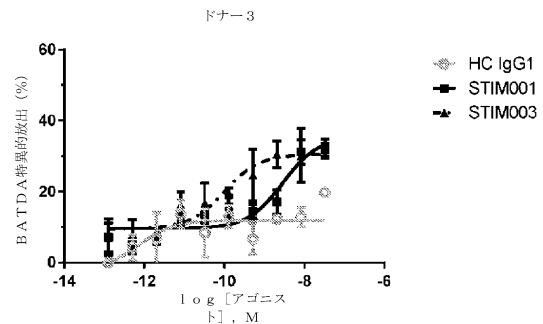
c



b



d



10

20

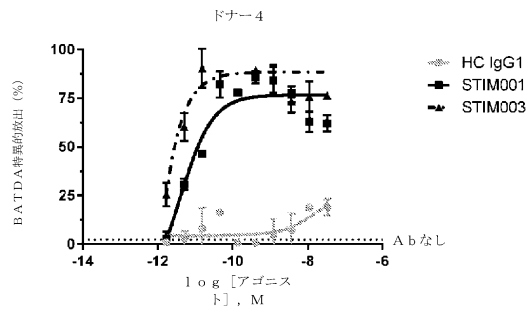
30

40

50

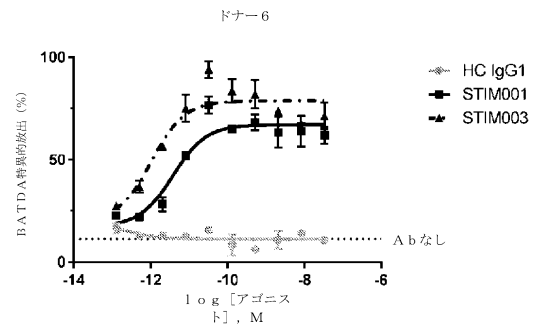
【図 6 - 3】

e

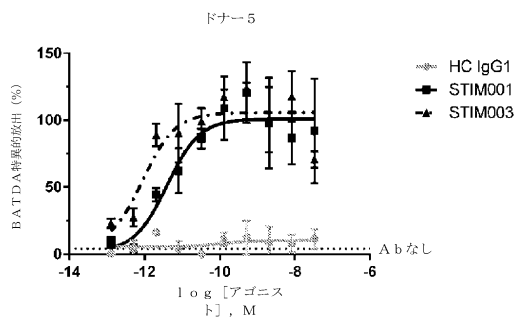


【図 6 - 4】

g



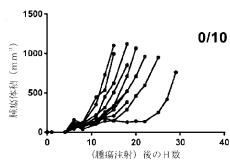
f



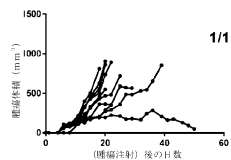
【図 7】

STIM001 mIgG1によるCT26有効性研究

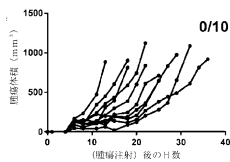
アイソタイプ



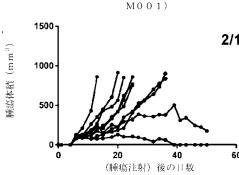
抗ICOS mIgG1 (STIM001)



抗PDL1 (10F9, G2)



抗PDL1 (10F9, G2) + 抗ICOS mIgG1 (STIM001)

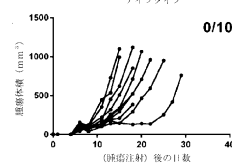


6 ~ 18 日目の投与

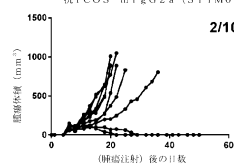
【図 8】

STIM001 mIgG2aによるCT26有効性研究

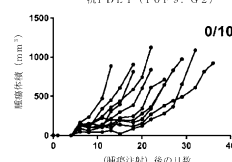
アイソタイプ



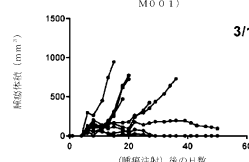
抗ICOS mIgG2a (STIM001)



抗PDL1 (10F9, G2)



抗PDL1 (10F9, G2) + 抗ICOS mIgG2a (STIM001)



6 ~ 18 日目の投与

10

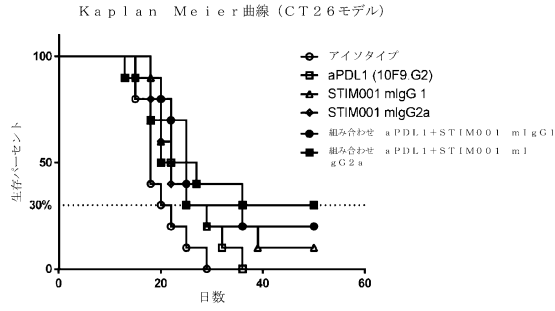
20

30

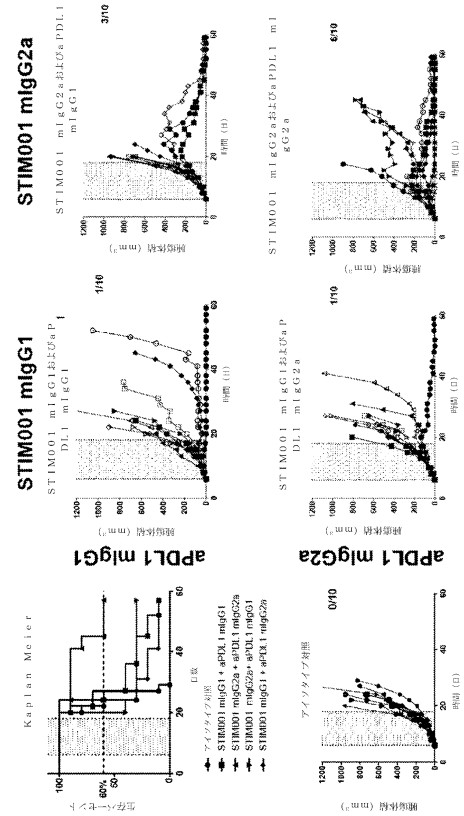
40

50

【図 9】



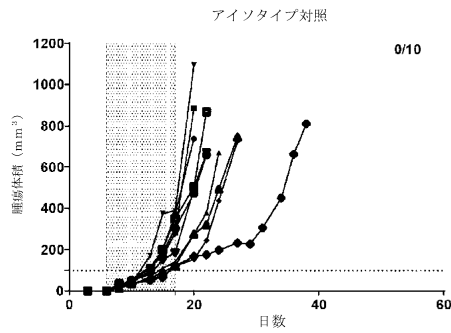
【図 10】



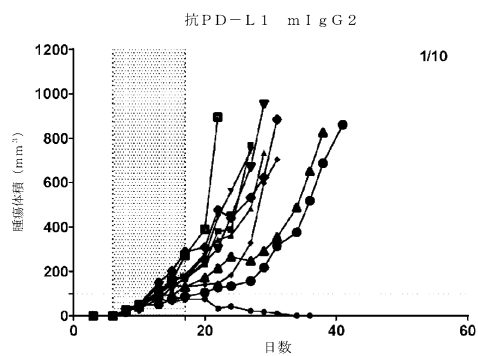
(*) 投与時間は、網掛け部分によって強調されている。
 (**) 右上の数字は、研究の終了時に疾患の徴候がなかった動物 (線数) の数を示す。

【図 11 - 1】

a

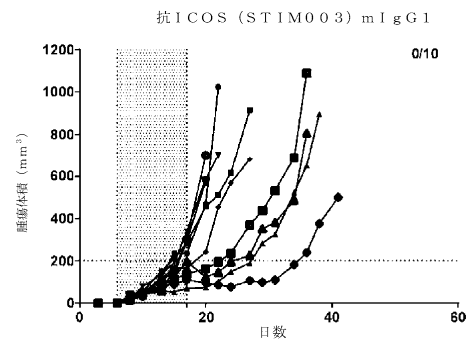


b

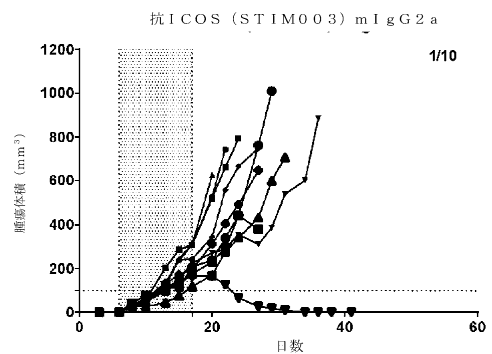


【図 11 - 2】

c



d



10

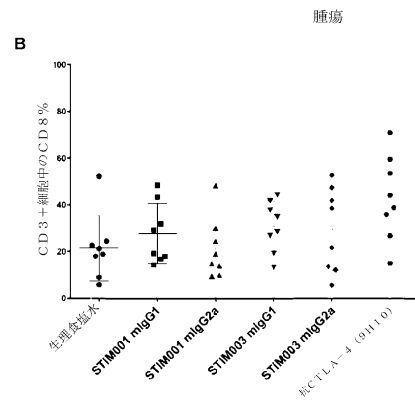
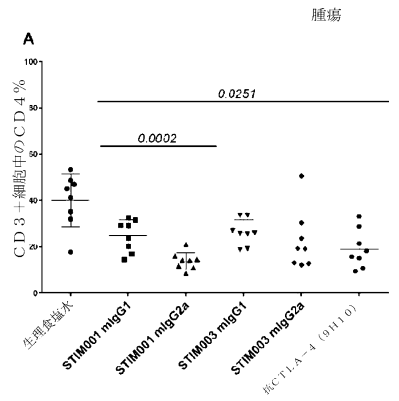
20

30

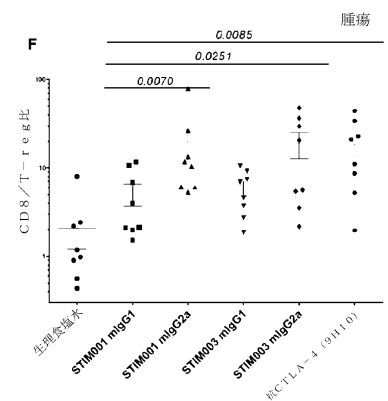
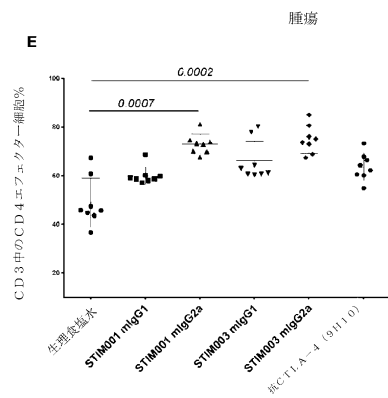
40

50

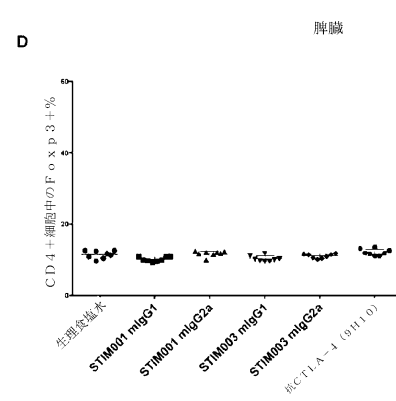
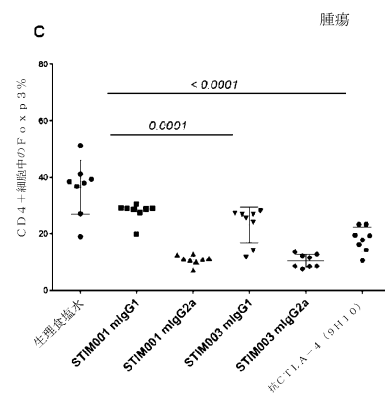
【図 15 - 1】



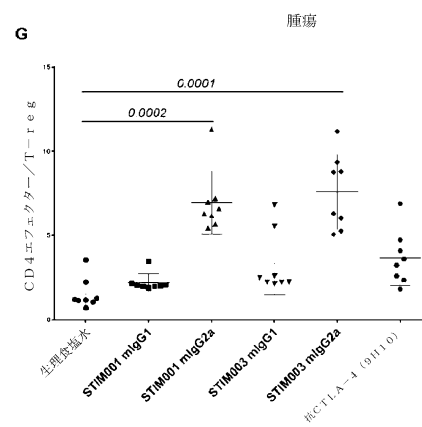
【図 15 - 3】



【図 15 - 2】



【図 15 - 4】



10

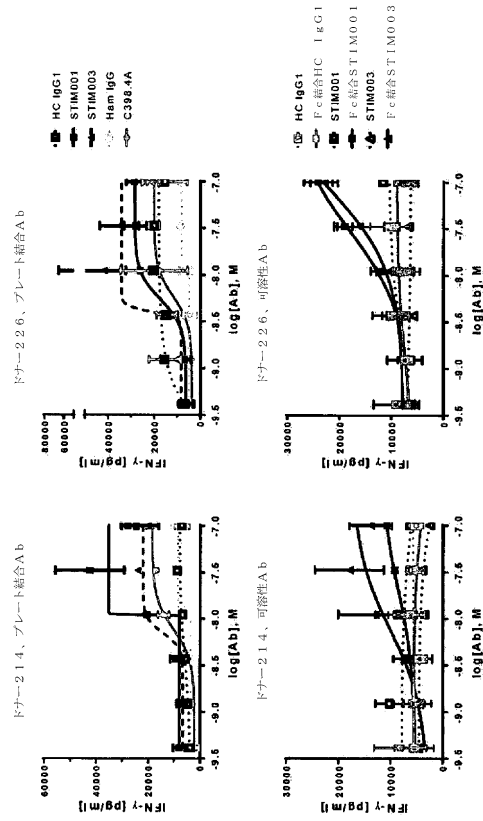
20

30

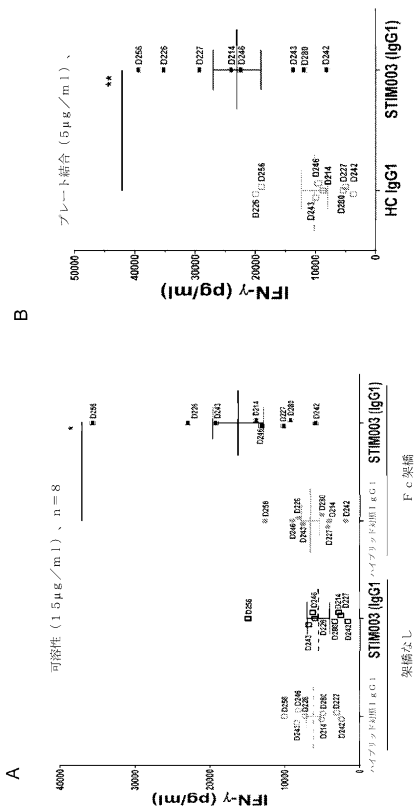
40

50

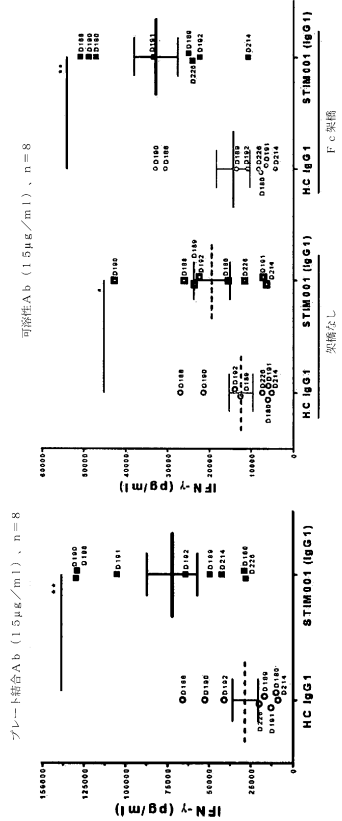
【図 16】



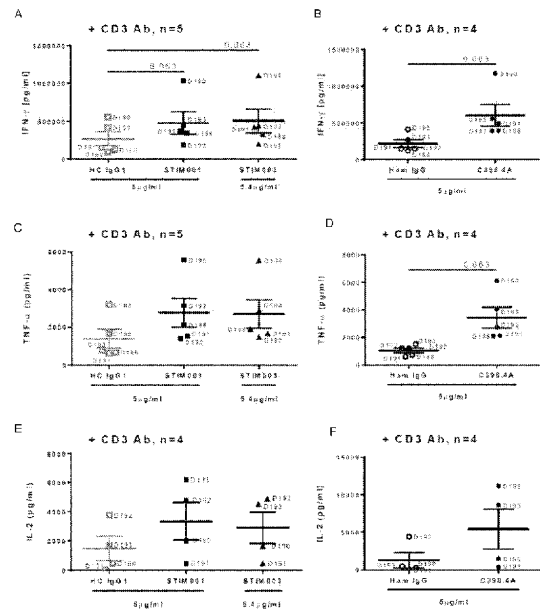
【図 18】



【図 17】



【図 19】



10

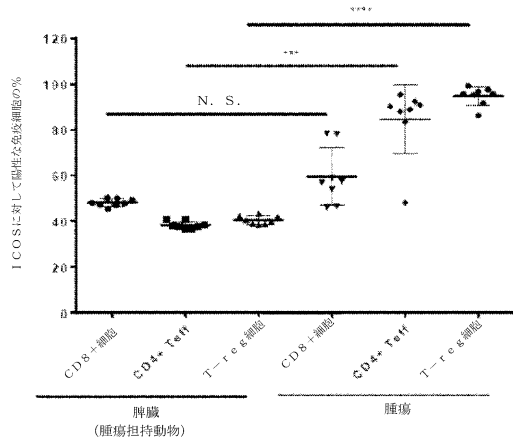
20

30

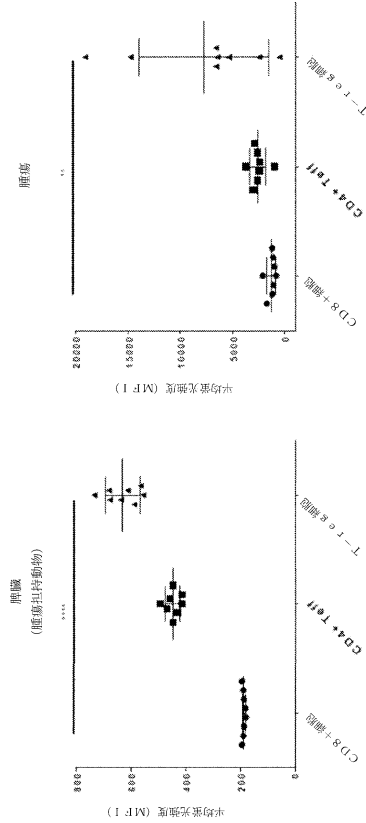
40

50

【図 20】



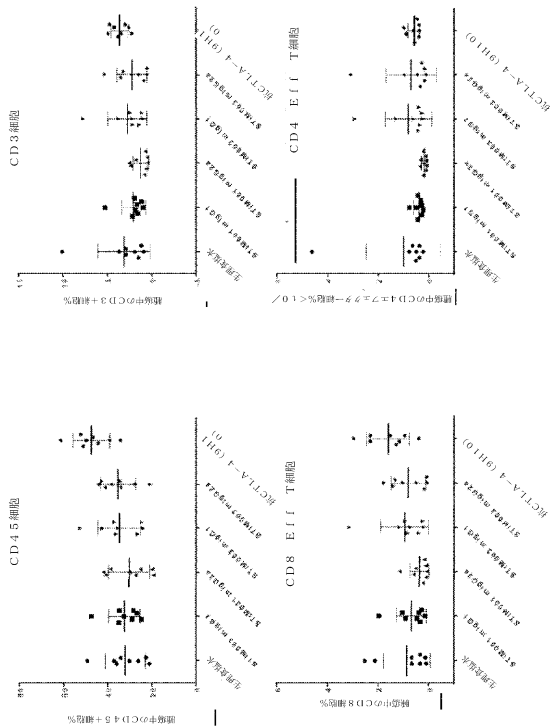
【図 21】



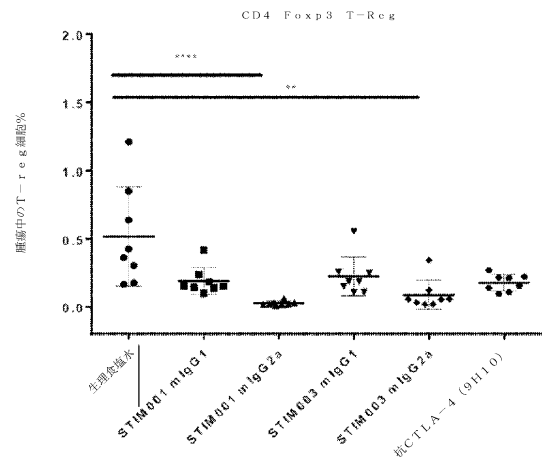
10

20

【図 22】



【図 23】

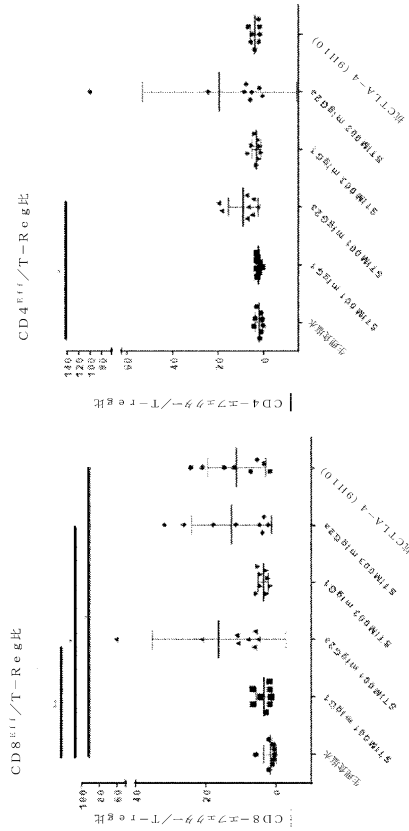


30

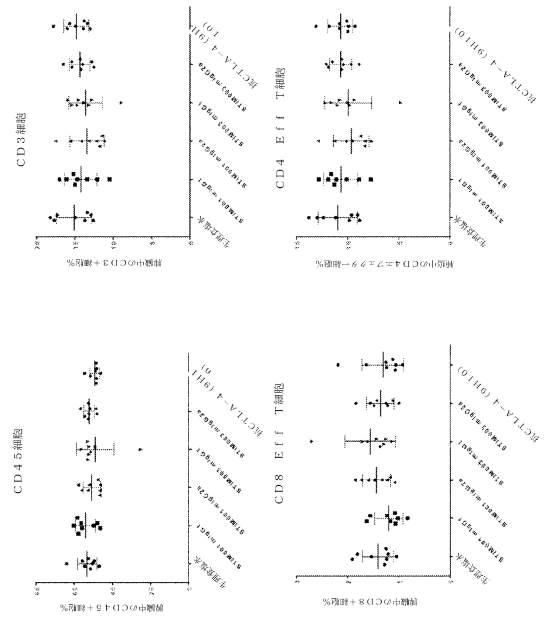
40

50

【図 2 4】



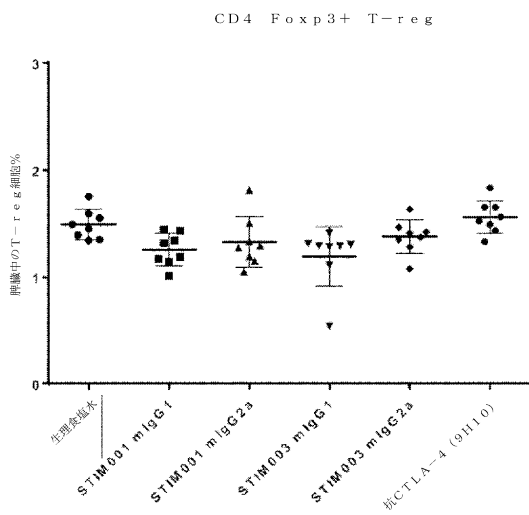
【図 2 5】



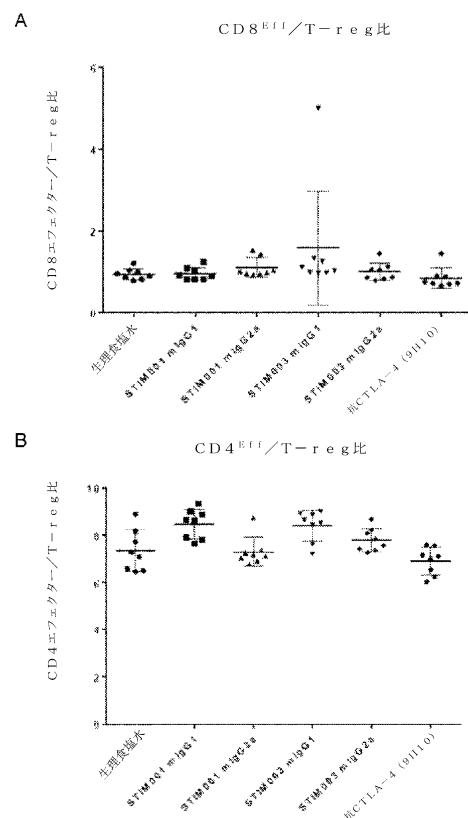
10

20

【図 2 6】



【図 2 7】



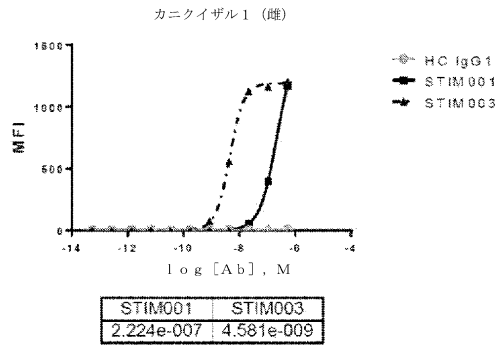
30

40

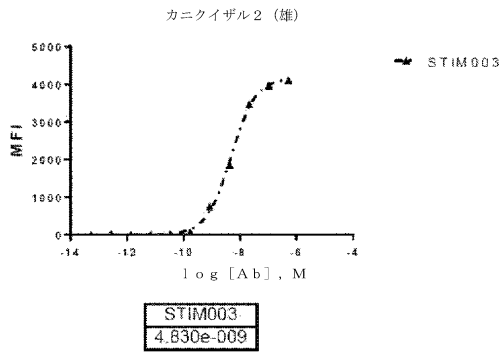
50

【図 28】

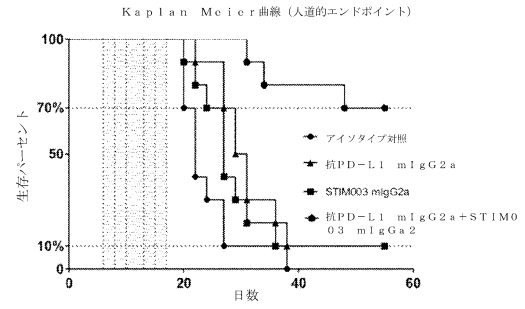
A.



B.

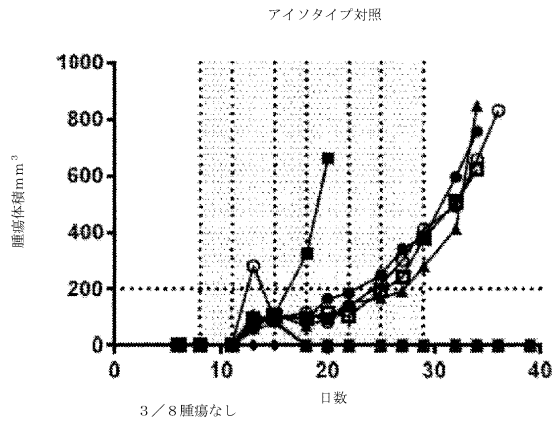


【図 29】

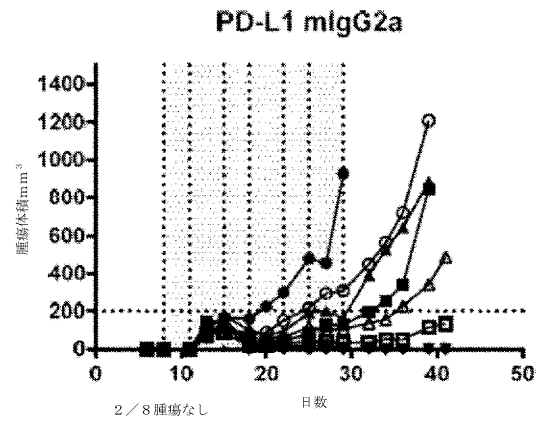


10

【図 30】



【図 31】

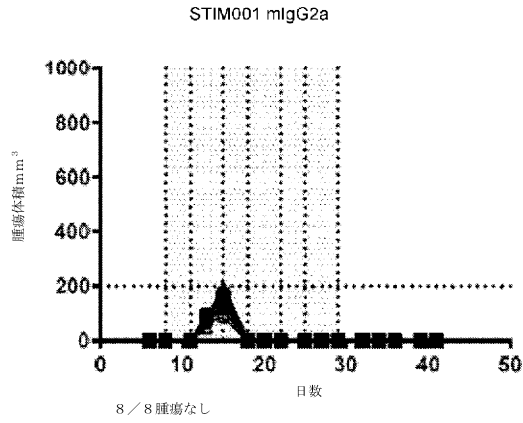


30

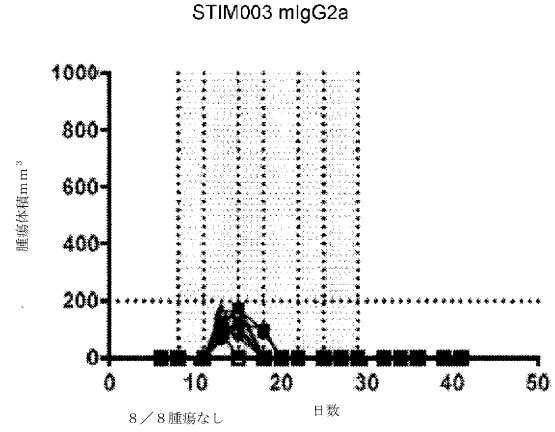
40

50

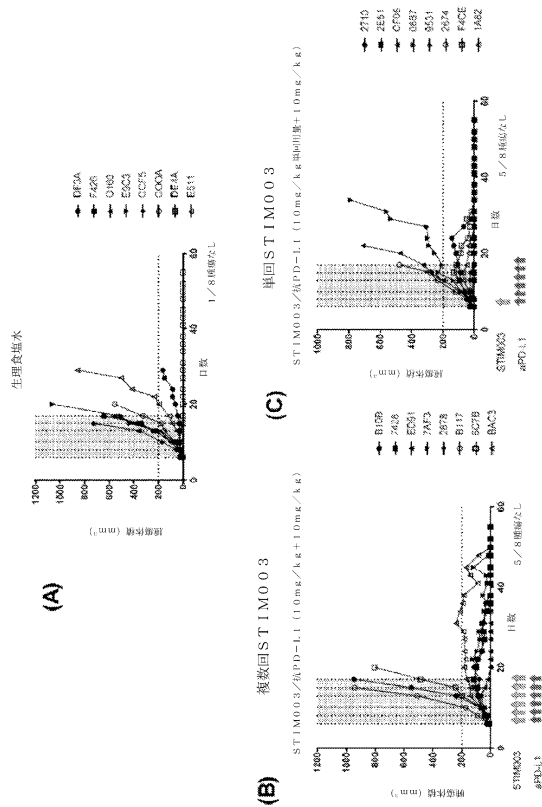
【 図 3 2 】



【 図 3 3 】



【 図 3 4 】



【 図 3 5 】

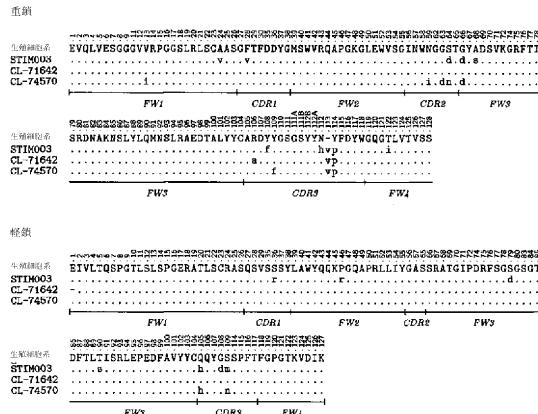
重鎖

[illegible][illegible]

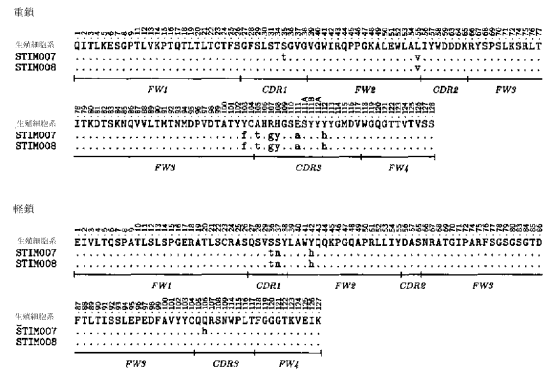
輕鐵

[illegible][illegible]

【図 3 6】

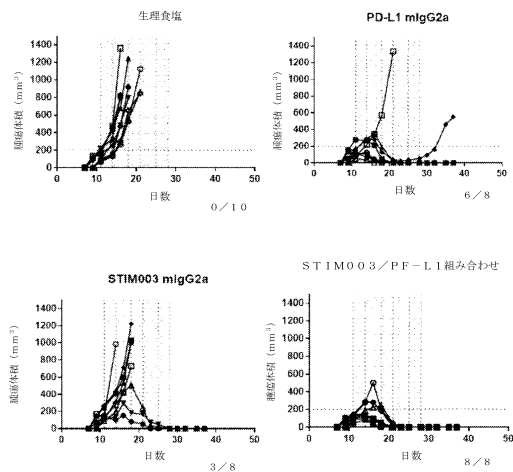


【図 3 7】

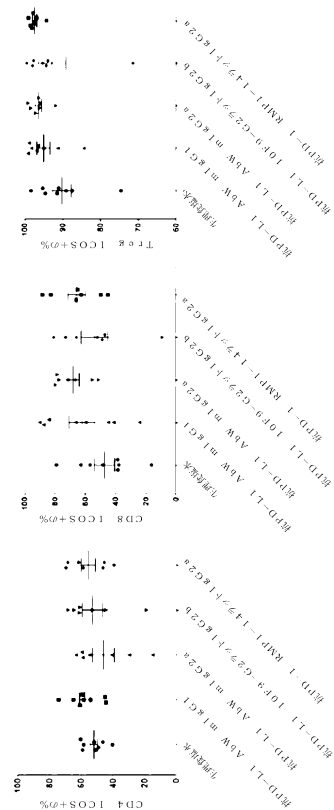


10

【図 3 8】



【図 3 9 - 1】



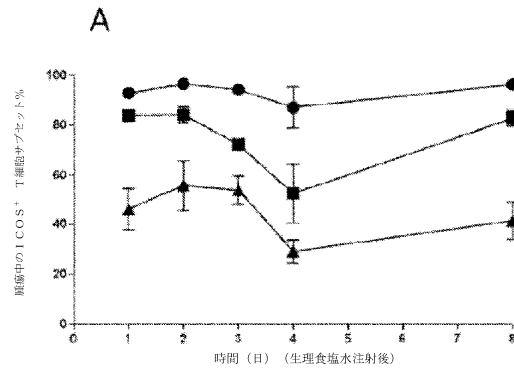
20

30

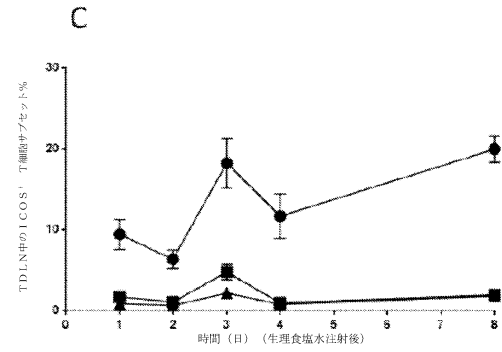
40

50

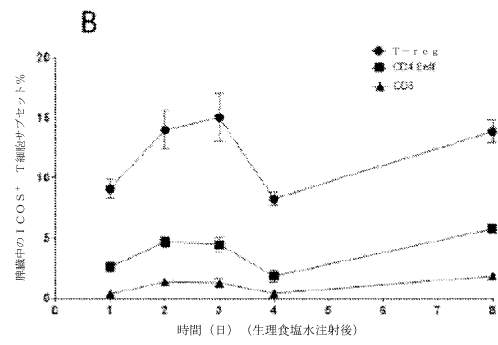
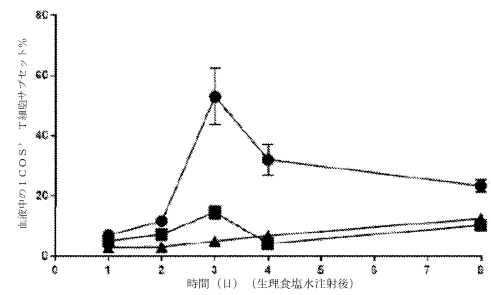
【図 4 2 - 1】



【図 4 2 - 2】

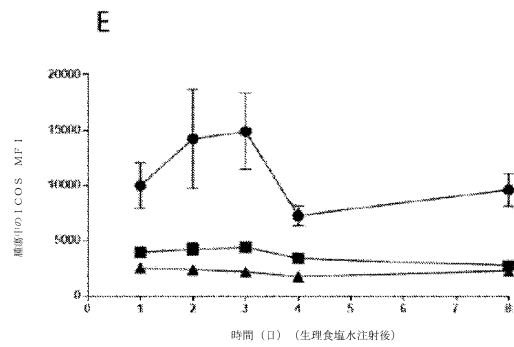


10

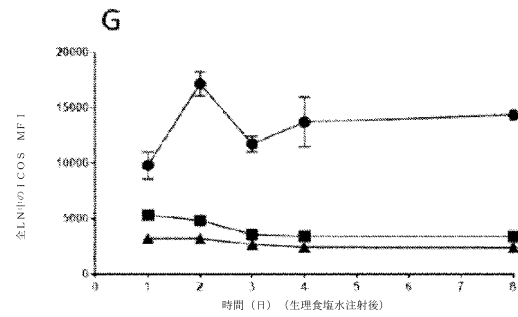
**D**

20

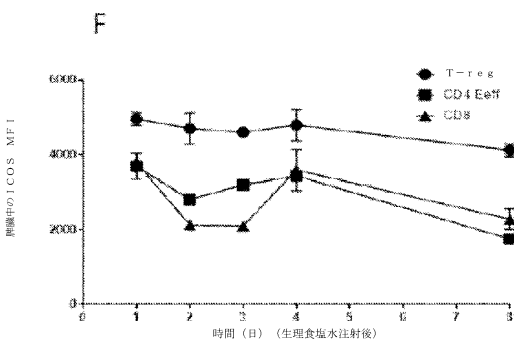
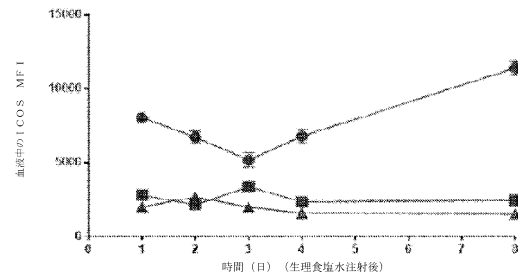
【図 4 2 - 3】



【図 4 2 - 4】



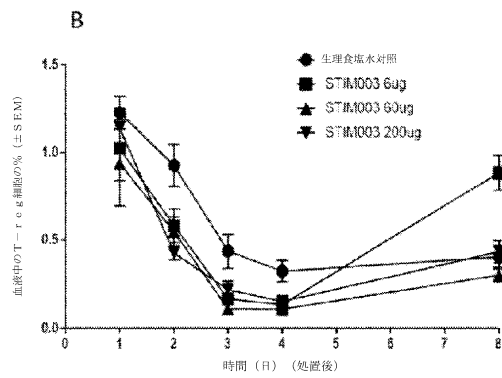
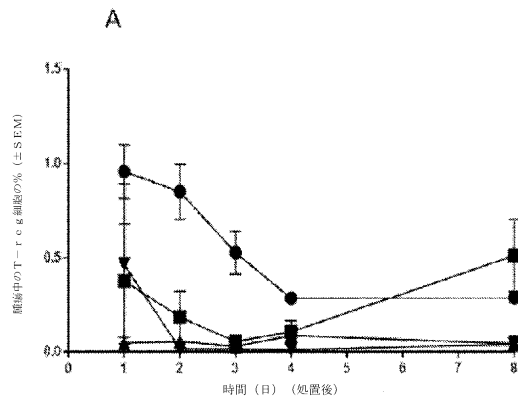
30

**H**

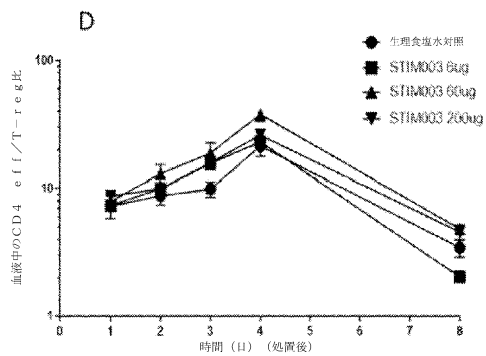
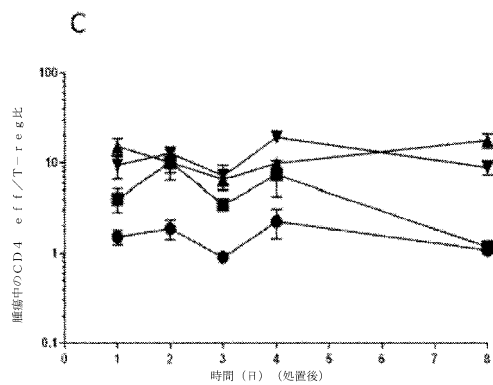
40

50

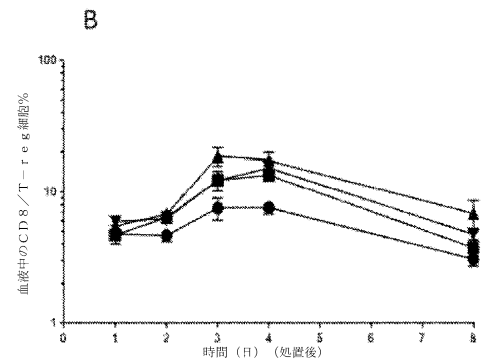
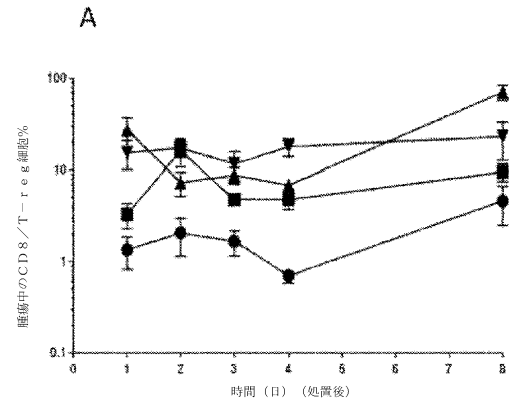
【図 4 3】



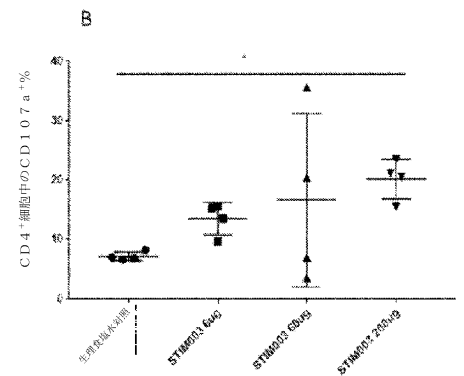
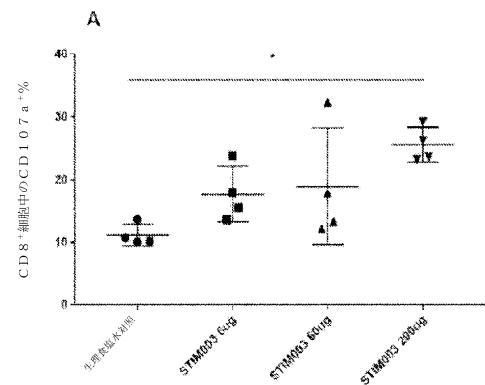
【図 4 4 - 2】



【図 4 4 - 1】



【図 4 5 - 1】



10

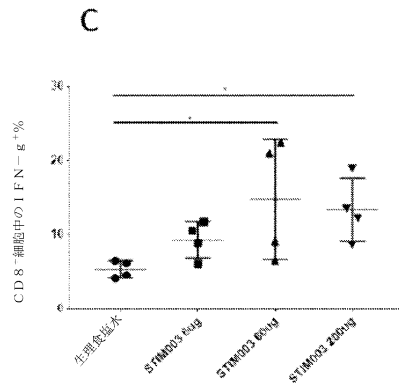
20

30

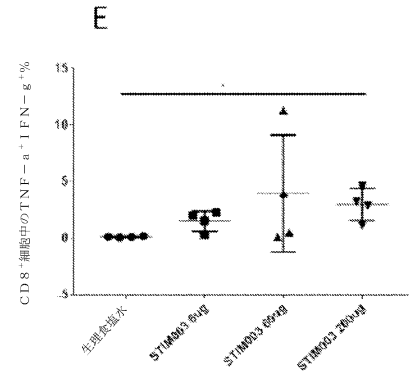
40

50

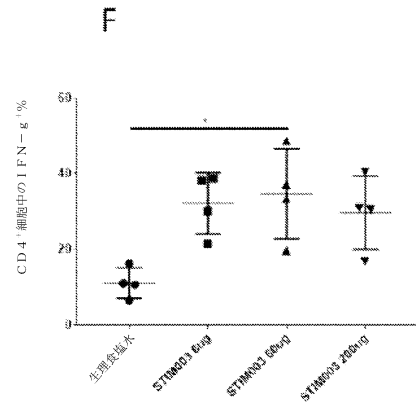
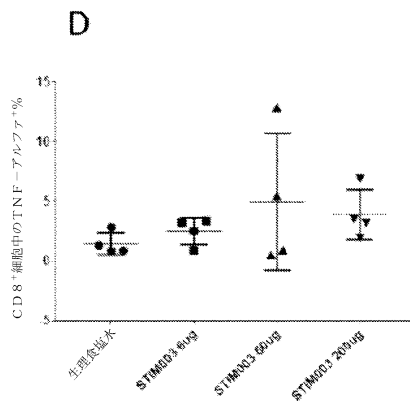
【図 45 - 2】



【図 45 - 3】

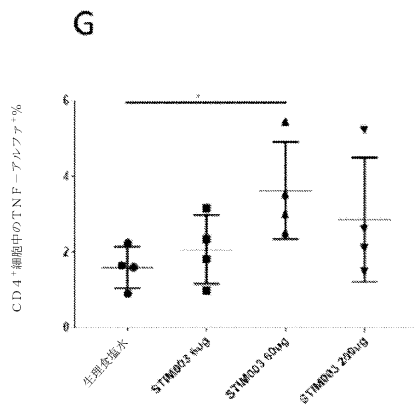


10

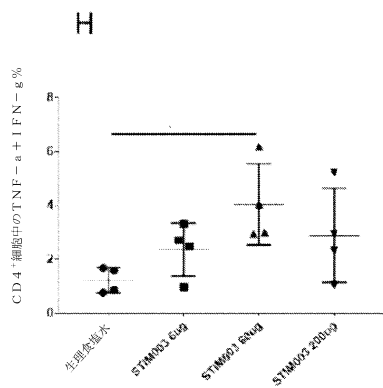


20

【図 45 - 4】



30



40

50

【配列表】

0007198752000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/02	
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
		C 1 2 N	5/10	
		C 1 2 N	15/13	

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

(31)優先権主張番号 15/354,971

(32)優先日 平成28年11月17日(2016.11.17)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 1620414.1

(32)優先日 平成28年12月1日(2016.12.1)

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

(31)優先権主張番号 1621782.0

(32)優先日 平成28年12月20日(2016.12.20)

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

(31)優先権主張番号 1702338.3

(32)優先日 平成29年2月13日(2017.2.13)

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

(31)優先権主張番号 1702339.1

(32)優先日 平成29年2月13日(2017.2.13)

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

(31)優先権主張番号 1703071.9

(32)優先日 平成29年2月24日(2017.2.24)

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

(31)優先権主張番号 15/480,525

(32)優先日 平成29年4月6日(2017.4.6)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 1709818.7

(32)優先日 平成29年6月20日(2017.6.20)

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

(31)優先権主張番号 PCT/GB2017/051794

(32)優先日 平成29年6月20日(2017.6.20)

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

(31)優先権主張番号 106120563

(32)優先日 平成29年6月20日(2017.6.20)

(33)優先権主張国・地域又は機関

台湾(TW)

(31)優先権主張番号 PCT/GB2017/051795

(32)優先日 平成29年6月20日(2017.6.20)

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

(31)優先権主張番号 106120562

(32)優先日 平成29年6月20日(2017.6.20)

(33)優先権主張国・地域又は機関

台湾(TW)

(31)優先権主張番号 PCT/GB2017/051796

(32)優先日 平成29年6月20日(2017.6.20)

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

(31)優先権主張番号 106120564

(32)優先日 平成29年6月20日(2017.6.20)

(33)優先権主張国・地域又は機関

台湾(TW)

(31)優先権主張番号 1615335.5

(32)優先日 平成28年9月9日(2016.9.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関

英国(GB)

前置審査

弁理士 富田 雅己

(74)代理人 100213849

弁理士 澄川 広司

(72)発明者 サンソン, リチャード チャールズ アルフレッド

イギリス、ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー
ノオー ザ ベネット ビルディング (ビー 9 3 0)

(72)発明者 アーキンスツール, スティーヴン ジョン

イギリス、ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー
ノオー ザ ベネット ビルディング (ビー 9 3 0)

(72)発明者 キャンベル, ジェイミー イアン

イギリス、ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー
ノオー ザ ベネット ビルディング (ビー 9 3 0)

(72)発明者 アリ, ムハンマド ハニフ

イギリス、ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー
ノオー ザ ベネット ビルディング (ビー 9 3 0)

(72)発明者 リー, イー - チャン

イギリス、ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー
ノオー ザ ベネット ビルディング (ビー 9 3 0)

(72)発明者 マコート, マシュー ジョン

イギリス、ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー
ノオー ザ ベネット ビルディング (ビー 9 3 0)

(72)発明者 サンディ, ニコル

イギリス、ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー
ノオー ザ ベネット ビルディング (ビー 9 3 0)

(72)発明者 ヴァン クリンクス, カサンドラ

イギリス、ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー
ノオー ザ ベネット ビルディング (ビー 9 3 0)

-
- (72)発明者 ゲルマシェウスキー，フォルカー
イギリス、ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー
ノオー ザ ベネット ビルディング (ビー 9 3 0)
- (72)発明者 カービー，イアン
イギリス、ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー
ノオー ザ ベネット ビルディング (ビー 9 3 0)
- (72)発明者 コズマック，ミハ
イギリス、ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー
ノオー ザ ベネット ビルディング (ビー 9 3 0)
- (72)発明者 ギャラガー，トーマス
イギリス、ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー
ノオー ザ ベネット ビルディング (ビー 9 3 0)
- (72)発明者 デアントニオ，セシリア
イギリス、ケンブリッジ シービー 2 2 3 エーティー、バブラハム リサーチ キャンパス、シー
ノオー ザ ベネット ビルディング (ビー 9 3 0)
- (72)発明者 ギリース，スティーヴン ダグラス
アメリカ合衆国、マサチューセッツ 0 1 7 4 1 - 1 0 4 4、カーライル、スワンソン レーン 4 7
- 審査官 山本 晋也
- (56)参考文献 米国特許第 1 0 0 4 7 1 3 8 (U S , B 1)
特表 2 0 1 3 - 5 0 6 6 9 0 (J P , A)
DENG ZHONG-BIN et al. , HYBRIDOMA AND HYBRIDOMICS , 米国 , MARY ANN LIEBERT
, 2004年06月 , VOL:23, NR:3 , PAGE(S):176 - 182
- (58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)
C 1 2 N
A 6 1 K
C 0 7 K
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
U n i P r o t / G e n e S e q