

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-543384
(P2013-543384A)

(43) 公表日 平成25年12月5日(2013.12.5)

(51) Int.Cl.	F 1		テーマコード (参考)
C 12 N 15/09 (2006.01)	C 12 N 15/00	A	4 B 02 4
C 07 K 16/28 (2006.01)	C 07 K 16/28	Z N A	4 B 06 4
C 12 N 1/15 (2006.01)	C 12 N 1/15		4 B 06 5
C 12 N 1/21 (2006.01)	C 12 N 1/21		4 C 08 5
C 12 N 5/10 (2006.01)	C 12 N 5/00	1 O 1	4 H 04 5
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求	(全 92 頁)	最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-532152 (P2013-532152)	(71) 出願人	504389991 ノバルティス アーゲー
(86) (22) 出願日	平成23年10月3日 (2011.10.3)		スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ 35
(85) 翻訳文提出日	平成25年5月30日 (2013.5.30)	(74) 代理人	100081422 弁理士 田中 光雄
(86) 國際出願番号	PCT/EP2011/067237	(74) 代理人	100084146 弁理士 山崎 宏
(87) 國際公開番号	W02012/045703	(74) 代理人	100122301 弁理士 富田 憲史
(87) 國際公開日	平成24年4月12日 (2012.4.12)	(72) 発明者	ホセ・エメ・カルバリド・エレラ スイス、ツェーハー-4056バーゼル、 リヒトシュトラーセ35番、ノバルティス ・ファルマ・アクチエンゲゼルシャフト
(31) 優先権主張番号	61/389,916		
(32) 優先日	平成22年10月5日 (2010.10.5)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】抗-IL12Rベータ1抗体ならびに自己免疫性および炎症性疾患の処置におけるその使用

(57) 【要約】

本発明は、ヘテロダイマーIL12およびIL23受容体の両方の非シグナル伝達鎖であるIL12R β 1に特異的に結合する抗体に関する。本発明は、さらに具体的には、血球のIL12/IL18誘導IFN生産を阻害することができるIL12およびIL23受容体アンタゴニストである特異的抗体、ならびにIFN生産、IL12およびIL23シグナル伝達を阻害することにより処置することができる病理学的疾患、例えば、リウマチ性関節炎、乾癬または炎症性腸疾患または他の自己免疫性および炎症性疾患を処置するための、該抗体の組成物および使用方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(i) 配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドのエピトープに結合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質であって、該エピトープは、a)ヒトIL12Rベータ1ポリペプチドのアミノ酸残基416から429内に含まれるか、またはb)上記a)に定義されているアミノ酸残基の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8または9個またはそれ以上を含むか、またはc)上記a)に定義されているアミノ酸残基を含み、該抗体またはタンパク質は、1nM以下のKDで配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドに結合し、そしてインビトロ競合結合アッセイで測定したとき、配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドへのIL12および/またはIL23の結合を阻害する、単離された抗体またはタンパク質。

【請求項 2】

(a) 配列番号：1のHCDR1、配列番号：2のHCDR2、配列番号：3のHCDR3を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：4のLCDR1、配列番号：5のLCDR2および配列番号：6のLCDR3を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(b) 配列番号：7のHCDR1、配列番号：8のHCDR2、配列番号：9のHCDR3を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：10のLCDR1、配列番号：11のLCDR2および配列番号：12のLCDR3を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(c) 配列番号：13のHCDR1、配列番号：14のHCDR2、配列番号：15のHCDR3を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：16のLCDR1、配列番号：17のLCDR2および配列番号：18のLCDR3を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(d) 配列番号：19のHCDR1、配列番号：20のHCDR2、配列番号：21のHCDR3を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：22のLCDR1、配列番号：23のLCDR2および配列番号：24のLCDR3を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(e) 配列番号：25のHCDR1'、配列番号：26のHCDR2'、配列番号：27のHCDR3'を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：28のLCDR1'、配列番号：29のLCDR2'および配列番号：30のLCDR3'を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(f) 配列番号：31のHCDR1'、配列番号：32のHCDR2'、配列番号：33のHCDR3'を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：34のLCDR1'、配列番号：35のLCDR2'および配列番号：36のLCDR3'を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(g) 配列番号：37のHCDR1'、配列番号：38のHCDR2'、配列番号：39のHCDR3'を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：40のLCDR1'、配列番号：41のLCDR2'および配列番号：42のLCDR3'を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(h) 配列番号：43のHCDR1'、配列番号：44のHCDR2'、配列番号：45のHCDR3'を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：46のLCDR1'、配列番号：47のLCDR2'および配列番号：48のLCDR3'を含む可変軽鎖アミノ酸配列；または

(i) CDRが、上記(a)-(h)に記載されている少なくとも1つの抗体またはタンパク質の対応するCDR配列と少なくとも60パーセント配列同一性を共有する、可変重鎖(V_H)および可変軽鎖(V_L)アミノ酸配列

のいずれかを含む単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質であって、該抗体またはタンパク質は、1nM以下のKDにて配列番号：89のIL12R1ポリペプチドに結合し、インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：89のIL12R1ポリペプチドへのIL12および/またはIL23結合を阻害する、単離された抗体またはタンパク質。

【請求項 3】

配列番号：98のカニクイザルIL12R1ポリペプチドと交差反応する、請求項1

10

20

30

40

50

または 2 に記載の単離された抗体またはタンパク質。

【請求項 4】

1 nM 以下の $I C_{50}$ にてヒト血球における $I L 1 2$ 依存性 $I F N -$ 生産を阻害する、請求項 1、2 または 3 に記載の単離された抗体またはタンパク質。

【請求項 5】

完全にヒトである、請求項 1 から 4 のいずれかに記載の単離された抗体またはタンパク質。

【請求項 6】

変異された、または化学的に修飾されたアミノ酸 $F c$ 領域を含む請求項 1 から 5 のいずれかに記載の単離された抗体またはタンパク質であって、野生型 $F c$ 領域を有する対応する抗体と比較したとき、該変異された、または化学的に修飾された $F c$ 領域は、該抗体に対して $A D C C$ 活性を付与しないか、または減少した $A D C C$ 活性を付与する、単離された抗体またはタンパク質。
10

【請求項 7】

変異された、または化学的に修飾されたアミノ酸 $F c$ 領域が変異サイレント $I g G 1$ $F c$ 領域である、請求項 6 に記載の単離された抗体またはタンパク質。

【請求項 8】

配列番号：49、配列番号：51、配列番号：53 および配列番号：55 の少なくとも 1つと少なくとも 95 パーセント配列同一性を有する、 V_H ポリペプチド配列を含む、請求項 1 から 7 のいずれかに記載の単離された抗体またはタンパク質。
20

【請求項 9】

配列番号：50、配列番号：52、配列番号：54 および配列番号：56 の少なくとも 1つと少なくとも 95 パーセント配列同一性を有する、 V_L ポリペプチド配列を含む、請求項 1 から 8 のいずれかに記載の単離された抗体またはタンパク質。

【請求項 10】

(a) 配列番号：57 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：69 の軽鎖アミノ酸配列；
 (b) 配列番号：61 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：69 の軽鎖アミノ酸配列；
 (c) 配列番号：65 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：69 の軽鎖アミノ酸配列；
 (d) 配列番号：58 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：70 の軽鎖アミノ酸配列；
 (e) 配列番号：62 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：70 の軽鎖アミノ酸配列；
 (f) 配列番号：66 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：70 の軽鎖アミノ酸配列；
 (g) 配列番号：59 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：71 の軽鎖アミノ酸配列；
 (h) 配列番号：63 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：71 の軽鎖アミノ酸配列；
 (i) 配列番号：67 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：71 の軽鎖アミノ酸配列；
 (j) 配列番号：60 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：72 の軽鎖アミノ酸配列；
 (k) 配列番号：64 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：72 の軽鎖アミノ酸配列；または、
30
 (l) 配列番号：68 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：72 の軽鎖アミノ酸配列のいずれかを含む、請求項 1 から 9 のいずれかに記載の単離された抗体またはタンパク質。
 。
 40

【請求項 11】

$I L 1 2 R - 1$ への結合から、請求項 1 から 10 のいずれかに記載の少なくとも 1 つの抗体を交差プロックするか、もしくは該抗体により交差プロックされるか、または、請求項 1 から 10 のいずれかに記載の抗体と同じエピトープへの結合に対して競合する、抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質。

【請求項 12】

(i) 1 nM 以下の K_D にて配列番号：89 の $I L 1 2 R - 1$ ポリペプチドに結合する、
 、
 (ii) インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：89 の $I L 1 2 R - 1$ ポリペプチドへの $I L 1 2$ および / または $I L 2 3$ 結合を阻害する、および
50

(i i i) 配列番号 : 9 8 のカニクイザル I L 1 2 R 1 ポリペプチドと交差反応する、請求項 1 1 に記載の単離された抗体またはタンパク質。

【請求項 1 3】

医薬としての使用のための、請求項 1 から 1 2 のいずれかに記載の単離された抗体またはタンパク質。

【請求項 1 4】

I L 1 2 R 1 により媒介されるか、または I F N 生産を阻害することにより処置することができる病理学的疾患の処置における使用のための、請求項 1 から 1 3 のいずれかに記載の単離された抗体またはタンパク質。

【請求項 1 5】

自己免疫性および炎症性疾患、例えば、リウマチ性関節炎、乾癬または炎症性腸疾患の処置における使用のための、請求項 1 から 1 4 のいずれかに記載の単離された抗体またはタンパク質。

【請求項 1 6】

1 つ以上の薬学的に許容される賦形剤、希釈剤または担体と共に、請求項 1 から 1 5 のいずれかに記載の抗体またはタンパク質を含む、医薬組成物。

【請求項 1 7】

他の活性成分をさらに含む、請求項 1 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 8】

請求項 1 から 1 5 のいずれかに記載の抗体またはタンパク質の凍結乾燥製剤。

【請求項 1 9】

治療的に許容される量の請求項 1 から 1 5 のいずれかに記載の抗体またはタンパク質を含む充填済シリンジ。

【請求項 2 0】

請求項 1 から 1 5 のいずれかに記載の抗体またはタンパク質の少なくとも重鎖および / または軽鎖可変領域をコードする単離された核酸。

【請求項 2 1】

請求項 2 0 に記載の 1 つ以上の核酸を含むクローニングまたは発現ベクター。

【請求項 2 2】

配列番号 : 7 3 - 8 8 からなる群から選択される少なくとも 1 つの核酸を含む、宿主細胞における請求項 1 から 1 5 のいずれかに記載の抗体の組換え生産のために適当なクローニングまたは発現ベクター。

【請求項 2 3】

適当なプロモーター配列に作動可能に連結した少なくとも以下のいずれかのコード配列 :

(a) 配列番号 : 7 3 および配列番号 : 8 5 ;

(b) 配列番号 : 7 7 および配列番号 : 8 5 ;

(c) 配列番号 : 8 1 および配列番号 : 8 5 ;

(d) 配列番号 : 7 4 および配列番号 : 8 6 ;

(e) 配列番号 : 7 8 および配列番号 : 8 6 ;

(f) 配列番号 : 8 2 および配列番号 : 8 6 ;

(g) 配列番号 : 7 5 および配列番号 : 8 7 ;

(h) 配列番号 : 7 9 および配列番号 : 8 7 ;

(i) 配列番号 : 8 3 および配列番号 : 8 7 ;

(j) 配列番号 : 7 6 および配列番号 : 8 8 ;

(k) 配列番号 : 8 0 および配列番号 : 8 8 ; または

(l) 配列番号 : 8 4 および配列番号 : 8 8

を含む、請求項 2 2 に記載のクローニングまたは発現ベクター。

【請求項 2 4】

請求項 2 1 から 2 3 のいずれかに記載の 1 つ以上のクローニングまたは発現ベクターを

10

20

30

40

50

含む宿主細胞。

【請求項 25】

請求項 1 から 15 のいずれかに記載の抗体またはタンパク質の生産のための方法であって、請求項 24 に記載の宿主細胞を培養すること、および、該抗体またはタンパク質を精製および回収することを含む方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ヘテロダイマー IL 12 および IL 23 受容体の両方の非シグナル伝達鎖である IL 12R 1 に特異的に結合する抗体に関する。 10

【0002】

本発明は、さらに具体的には、血球の IL 12 / IL 18 誘導 IFN 生産を阻害することができる IL 12 および IL 23 受容体アンタゴニストである特異的抗体、ならびに IFN 生産、IL 12 および / IL 23 シグナル伝達を阻害することにより処置することができる病理学的疾患、例えば、リウマチ性関節炎、乾癬または炎症性腸疾患または他の自己免疫性および炎症性疾患を処置するための、該抗体の組成物および使用方法に関する。

【背景技術】

【0003】

IL 12 受容体ベータ 1 (IL 12R 1) 鎖は、Th 1 / Th 17 媒介疾患、例えば、乾癬および他の自己免疫性および炎症性疾患の処置のための可能性のある治療標的として知られている。乾癬は、表皮層の過増殖ならびに樹状細胞および T 細胞の高度浸潤により特徴付けられる一般的な慢性炎症性皮膚疾患である。T 細胞は、タイプ 1 サイトカイン (IFN - および TNF - を含む) を分泌することにより皮膚において生じる病理学的反応について重要な役割を果たし、ケラチン生成細胞過剰増殖、血管形成および好中球浸潤を誘導する。 20

【0004】

乾癬における Th 1 免疫応答の発生に重要であると思われる 2 つのサイトカインは、インターロイキン - 12 (IL 12) およびインターロイキン - 23 (IL 23) である。両方のサイトカインは、抗原提示細胞、例えば、マクロファージおよび樹状細胞により生産され、T 細胞およびナチュラルキラー細胞を活性化することにより機能する。IL 12 および IL 23 は、IL 12 において p 35 / p 40 タンパク質サブユニット、および IL 23 において p 19 / p 40 タンパク質サブユニットからなる、可溶性サイトカインのヘテロダイマーファミリーのメンバーである。いずれかのサイトカインの p 40 サブユニットは、免疫細胞の表面で見られる膜貫通 IL 12 受容体 1 (IL 12R 1) に結合する。IL 12 p 40 / IL 12R 1 相互作用の妨害は、IL 12 および IL 23 の両方の生物学的活性を防止し得る (Presky ら J. Immunol. 160 (1998): 2174-79, Parham ら J. Immunol. 168 (2002): 5699-5708)。 30

【0005】

乾癬を含むいくつかの炎症性および自己免疫性疾患は、悪化した Th 1 および / または Th 17 応答に関連している。それらの多くは、現在、全ての患者において有効でない、一般的な免疫抑制剤または非常に選択的に作用する生物学的薬剤、例えば、抗 - TNF - 抗体のいずれかで処置される。これらは、感染のリスクを上昇させ、反復処置後に無効となることが見出された。したがって、上昇した安全性プロフィールおよび長期寛解または疾患治療を誘導する同時能力での処置に対する未だ満たされない医薬上の必要が存在する。 40

【0006】

乾癬様状態を誘導した T 細胞サブセットの移入後に投与したときでさえ、マウスにおいて、IL 12 p 40 に対する中和抗体は、乾癬病巣を成功裏に破壊した (Hong ら J. Immunol. 162.12 (1999): 7480-91)。IL 12 および IL 23 の両方を標的とする抗 - IL 1

2 p 4 0 抗体は、現在、乾癬 (Kauffmanら J.Invest Dermatol. 123.6 (2004): 1037-44、Pappら Lancet. 371.9625 (2008): 1675-84、Kimballら Arch.Dermatol. 144.2 (2008) : 200-07) 、クローン病 (Sandbornら Gastroenterology. 135.4 (2008): 1130-41) および多発性硬化症 (Segalら Lancet Neurol. 7.9 (2008): 796-804) について臨床試験中である。IL 12R 1を標的化すること、したがって、Th 1 および Th 17 細胞集団の分化および維持ならびにこれらの細胞による IL 12 および IL 23 媒介性炎症性サイトカイン生産は、改善された治療剤の機会を提供する。

【0007】

米国特許第6,046,012号は、IL 12R 1および抗-IL 12R 1に結合する抗体について、一般的に記載している。抗-マウスIL 12R 1モノクローナル抗体もまた、Becton Dickinson (Cat # 551455) により市販されている。10

【0008】

しかしながら、今日まで、自己免疫性および炎症性疾患、例えば、乾癬、リウマチ性関節炎またはクローン病の処置における使用のための、非常に強力なIL 12R 1アンタゴニスト活性を示すヒトIL 12R 1に対する結合分子は当分野において記載が存在しない。それぞれの相互作用パートナー (IL 12p40) を標的化することによる間接的な証拠のみが、当該経路を有効にしている。

【発明の概要】

【0009】

したがって、1つの局面において、本発明は、IL 12受容体およびIL 23受容体の両方に結合する抗体の抗原結合部分を含む抗体またはタンパク質であって、配列番号：89のIL 12R 1ポリペプチドに特異的に結合することを特徴とする抗体またはタンパク質を提供する。20

【0010】

1つの特定の態様において、本発明の単離された抗体またはタンパク質は、
(a) 配列番号：1のHCDR1、配列番号：2のHCDR2、配列番号：3のHCDR3を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：4のLCDR1、配列番号：5のLCDR2および配列番号：6のLCDR3を含む可変軽鎖アミノ酸配列；30

(b) 配列番号：7のHCDR1、配列番号：8のHCDR2、配列番号：9のHCDR3を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：10のLCDR1、配列番号：11のLCDR2および配列番号：12のLCDR3を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(c) 配列番号：13のHCDR1、配列番号：14のHCDR2、配列番号：15のHCDR3を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：16のLCDR1、配列番号：17のLCDR2および配列番号：18のLCDR3を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(d) 配列番号：19のHCDR1、配列番号：20のHCDR2、配列番号：21のHCDR3を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：22のLCDR1、配列番号：23のLCDR2および配列番号：24のLCDR3を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(e) 配列番号：25のHCDR1'、配列番号：26のHCDR2'、配列番号：27のHCDR3'を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：28のLCDR1'、配列番号：29のLCDR2'および配列番号：30のLCDR3'を含む可変軽鎖アミノ酸配列；40

(f) 配列番号：31のHCDR1'、配列番号：32のHCDR2'、配列番号：33のHCDR3'を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：34のLCDR1'、配列番号：35のLCDR2'および配列番号：36のLCDR3'を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(g) 配列番号：37のHCDR1'、配列番号：38のHCDR2'、配列番号：39のHCDR3'を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：40のLCDR1'、配列番号：41のLCDR2'および配列番号：42のLCDR3'を含む可変軽鎖アミノ酸配列；50

(h) 配列番号：43のHCDR1'、配列番号：44のHCDR2'、配列番号：45のHCDR3'を含む可変重鎖アミノ酸配列ならびに配列番号：46のLCDR1'、配列番号：47のLCDR2'および配列番号：48のLCDR3'を含む可変軽鎖アミノ酸配列；または

(i) CDRが、上記(a)-(h)に記載されている少なくとも1つの抗体またはタンパク質の対応するCDR配列と少なくとも60、70、80、90、95または100パーセント配列同一性を共有する、可変重鎖(V_H)および可変軽鎖(V_L)アミノ酸配列のいずれかを含み、該抗体またはタンパク質は、1nM以下、100pM以下または10pM以下の K_D にて配列番号：89のIL12R-1ポリペプチドに結合し、インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、IL12R-1ポリペプチドへのIL12および/またはIL23結合を阻害する。

【0011】

別の局面において、本発明は、(i)配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドのエピトープに結合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質であって、該エピトープは、a)配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドのアミノ酸残基416から429内に含まれるか；またはb)上記a)に定義されているアミノ酸残基の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8または9個またはそれ以上を含むか；またはc)上記a)に定義されているアミノ酸残基を含む、単離された抗体またはタンパク質を提供する。

【0012】

1つの態様において、(i)配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドのエピトープに結合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質であって、該エピトープは、a)配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドのアミノ酸残基416から429内に含まれるか；またはb)上記a)に定義されているアミノ酸残基の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8または9個またはそれ以上を含むか；またはc)上記a)に定義されているアミノ酸残基を含み、および/または(iii)上記(i)に定義されているエピトープに結合する抗体と競合する単離された抗体またはタンパク質を提供する。

【0013】

別の態様において、(i)アミド水素/ジュウテリウム交換質量分析を使用して測定されるとき、配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドのエピトープに結合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質であって、該エピトープは、a)配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドのアミノ酸残基416から429内に含まれるか；またはb)上記a)に定義されているアミノ酸残基の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8または9個またはそれ以上を含むか；またはc)上記a)に定義されているアミノ酸残基を含み、および/または(iii)上記(i)に定義されているエピトープに結合する抗体と競合する単離された抗体またはタンパク質を提供する。

【0014】

別の態様において、(i)配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドのエピトープに結合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質であって、該エピトープは、a)ヒトIL12Rベータ1ポリペプチドのアミノ酸残基416から429内に含まれるか；またはb)上記a)に定義されているアミノ酸残基の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8または9個またはそれ以上を含むか；またはc)上記a)に定義されているアミノ酸残基を含み、および/または(iii)上記(i)に定義されているエピトープに結合する抗体と競合し、該抗体またはタンパク質は、1nM以下の K_D で配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドに結合し、インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドへのIL12および/またはIL23の結合を阻害する、単離された抗体またはタンパク質を提供する。

10

20

30

40

50

【0015】

別の態様において、(i)アミド水素／ジュウテリウム交換質量分析を使用して測定されるとき、配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドのエピトープに結合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質であって、該エピトープは、a)ヒトIL12Rベータ1ポリペプチドのアミノ酸残基416から429内に含まれるか；またはb)上記a)に定義されているアミノ酸残基の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8または9個またはそれ以上を含むか；またはc)上記a)に定義されているアミノ酸残基を含み、および／または(ii)上記(i)に定義されているエピトープに結合する抗体と競合し、該抗体またはタンパク質は、1nM以下のKDで配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドに結合し、インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドへのIL12および／またはIL23の結合を阻害する、単離された抗体またはタンパク質を提供する。

10

【0016】

別の態様において、配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内のエピトープに結合する、および／または配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内のエピトープに結合する抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質と競合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質を提供する。

20

【0017】

別の態様において、アミド水素／ジュウテリウム交換質量分析を使用して測定されるとき、配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内のエピトープに結合する、および／または配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内のエピトープに結合する抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質と競合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質を提供する。

20

【0018】

別の態様において、配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内のエピトープに結合する、および／または配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内のエピトープに結合する抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質と競合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質であって、該抗体またはタンパク質は、1nM以下のKDで配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドに結合し、インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドへのIL12および／またはIL23の結合を阻害する、単離された抗体またはタンパク質を提供する。

30

【0019】

別の態様において、アミド水素／ジュウテリウム交換質量分析を使用して測定されるとき、配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内のエピトープに結合する、および／または配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内のエピトープに結合する抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質と競合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質であって、該抗体またはタンパク質は、1nM以下のKDで配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドに結合し、インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドへのIL12および／またはIL23の結合を阻害する、単離された抗体またはタンパク質を提供する。

40

【0020】

別の態様において、配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内のエピトープに結合する、および／または配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内に結合する抗体と競合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質を提供する。

50

【0021】

別の態様において、アミド水素／ジュウテリウム交換質量分析を使用して測定されるとき、配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429に結合する、および／または配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内に結合する抗体と競合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質を提供する。

【0022】

別の態様において、配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内のエピトープに結合する、および／または配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内に結合する抗体と競合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質であって、1nM以下のKDで配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドに結合し、インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドへのIL12および／またはIL23の結合を阻害する該抗体またはタンパク質を提供する。

10

【0023】

別の態様において、配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内の少なくとも1つのアミノ酸残基に結合する、および／または配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内の少なくとも1つのアミノ酸残基に結合する抗体と競合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質を提供する。

20

【0024】

別の態様において、アミド水素／ジュウテリウム交換質量分析を使用して測定されるとき、配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内の少なくとも1つのアミノ酸残基に結合する、および／または配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドの残基416から429内の少なくとも1つのアミノ酸残基に結合する抗体と競合する単離された抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質を提供する。

【0025】

本明細書に記載されている態様において、エピトープ結合は、アミド水素／ジュウテリウム交換質量分析または当分野で知られている他の慣用のエピトープマッピング技術を使用して決定され得る。

30

【0026】

本明細書に記載されている態様において、抗体競合は、本明細書に記載されているBiacoreまたはEliisaベースの交差ブロッキングアッセイを使用して、または以下の工程を使用して測定することができる。

【0027】

好ましい態様において、抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質は、上記定義のエピトープでヒトIL12Rベータ1に結合する。

【0028】

本発明の範囲内に含まれる抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質は、(i)配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドに対する特異性についてスクリーニングすること；(ii)所望により、該抗体のアフィニティーを決定すること；(iii)所望により、インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドへのIL12および／またはIL23の結合の阻害を評価すること；および、(iv)所望により、アミド水素／ジュウテリウム交換質量分析または当分野で知られている他の慣用のエピトープマッピング技術を使用して、配列番号：89のヒトIL12Rベータ1ポリペプチドのアミノ酸残基416から429により定義されるエピトープへの結合、または該エピトープ内の結合を評価すること、および／または本明細書に記載されているBiacoreまたはEliisaベースの交差ブロッキングアッセイを使用して、または当分野で知られている他の交差ブロッキングアッセイ

40

50

を使用して、上記定義のエピトープに結合する抗体との競合を評価することにより同定することができる。スクリーニング工程後、(i) 本発明の範囲内に含まれる抗体またはタンパク質は、以下の工程：(a) 抗体のアフィニティーを決定すること；(b) インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：8 9 の I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドへの I L 1 2 および / または I L 2 3 の結合の阻害を評価すること；(c) アミド水素 / ジュウテリウム交換質量分析または当分野で知られている他の慣用のエピトープマッピング技術を使用して、配列番号：8 9 のヒト I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドのアミノ酸残基 4 1 6 から 4 2 9 により定義されるエピトープへの結合、または該エピトープ内の結合を評価すること、および(d) 本明細書に記載されている Biacore または Elisa ベースの交差ブロッキングアッセイを使用して、または当分野で知られている他の交差ブロッキングアッセイを使用して、上記定義のエピトープに結合する抗体との競合を評価することの 1 または 2 または 3 または 4 つを行うことにより同定され得る。

10

【 0 0 2 9 】

本発明の範囲内に含まれる抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質は、(i) 配列番号：8 9 のヒト I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドに対する特異性についてスクリーニングすること；(i i) 該抗体のアフィニティーを決定すること；(i i i) インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：8 9 の I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドへの I L 1 2 および / または I L 2 3 の結合の阻害を評価すること；および(i v) 所望により、アミド水素 / ジュウテリウム交換質量分析または当分野で知られている他の慣用のエピトープマッピング技術を使用して、配列番号：8 9 のヒト I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドのアミノ酸残基 4 1 6 から 4 2 9 により定義されるエピトープへの結合、または該エピトープ内の結合を評価すること、および / または本明細書に記載されている Biacore または Elisa ベースの交差ブロッキングアッセイを使用して、または当分野で知られている他の交差ブロッキングアッセイを使用して、上記定義のエピトープに結合する抗体との競合を評価することにより同定することができる。

20

【 0 0 3 0 】

本発明の範囲内に含まれる抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質は、(i) 配列番号：8 9 のヒト I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドに対する特異性についてスクリーニングすること；(i i) 該抗体のアフィニティーを決定すること；(i i i) インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：8 9 の I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドへの I L 1 2 および / または I L 2 3 の結合の阻害を評価すること；および(i v) アミド水素 / ジュウテリウム交換質量分析または当分野で知られている他の慣用のエピトープマッピング技術を使用して、配列番号：8 9 のヒト I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドのアミノ酸残基 4 1 6 から 4 2 9 により定義されるエピトープへの結合、または該エピトープ内の結合を評価すること、および / または本明細書に記載されている Biacore または Elisa ベースの交差ブロッキングアッセイを使用して、または当分野で知られている他の交差ブロッキングアッセイを使用して、上記定義のエピトープに結合する抗体との競合を評価することにより同定することができる。

30

【 0 0 3 1 】

本発明の範囲内に含まれる抗体または抗体の抗原結合部分を有するタンパク質は、(i) 配列番号：8 9 のヒト I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドに対する特異性についてスクリーニングすること；および(i i) アミド水素 / ジュウテリウム交換質量分析または当分野で知られている他の慣用のエピトープマッピング技術を使用して、配列番号：8 9 のヒト I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドのアミノ酸残基 4 1 6 から 4 2 9 により定義されるエピトープへの結合、または該エピトープ内の結合を評価すること、および / または本明細書に記載されている Biacore または Elisa ベースの交差ブロッキングアッセイを使用して、または当分野で知られている他の交差ブロッキングアッセイを使用して、上記定義のエピトープに結合する抗体との競合を評価することにより同定することができる。

40

【 0 0 3 2 】

50

1つの特定の態様において、単離された抗体またはタンパク質は、約 1 nM、100 pM または 10 pM 以下の IC₅₀ でヒト血球における IL-12 依存性 IFN- 生産を阻害する。

【0033】

本発明の単離された抗体またはタンパク質は、完全ヒトまたはヒト化抗体であり得る。1つの態様において、それは、野生型 Fc 領域を有する対応する抗体と比較したとき、該抗体に対して ADC C 活性を付与しないか、または減少した ADC C 活性を付与する変異された、または化学的に修飾されたアミノ酸 Fc 領域を含む。特定の態様において、それは、変異サイレント(silent) IgG1 抗体である。

【0034】

別の態様において、本発明の抗体またはタンパク質は、本質的に、IL-12R 1 ポリペプチド(配列番号：89)に特異的に結合するペグ化された抗体の抗原結合部分からなる。

【0035】

別の態様において、本発明の抗体またはタンパク質は、配列番号：49、配列番号：51、配列番号：53 および配列番号：55 の少なくとも 1 つと少なくとも 95 または 100 パーセント配列同一性を有するポリペプチド配列を有する抗体の可変重鎖領域(V_H)を含む。

【0036】

別の態様において、本発明の抗体またはタンパク質は、配列番号：50、配列番号：52、配列番号：54 および配列番号：56 の少なくとも 1 つと少なくとも 95 または 100 パーセント配列同一性を有するポリペプチド配列を有する抗体の可変軽鎖領域(V_L)を含む。

【0037】

特定の態様において、本発明の抗体は、

(a) 配列番号：57 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：69 の軽鎖アミノ酸配列からなる mA b 1；

(b) 配列番号：61 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：69 の軽鎖アミノ酸配列からなる mA b 2；

(c) 配列番号：65 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：69 の軽鎖アミノ酸配列からなる mA b 3；

(d) 配列番号：58 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：70 の軽鎖アミノ酸配列からなる mA b 4；

(e) 配列番号：62 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：70 の軽鎖アミノ酸配列からなる mA b 5；

(f) 配列番号：66 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：70 の軽鎖アミノ酸配列からなる mA b 6；

(g) 配列番号：59 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：71 の軽鎖アミノ酸配列からなる mA b 7；

(h) 配列番号：63 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：71 の軽鎖アミノ酸配列からなる mA b 8；

(i) 配列番号：67 の重鎖アミノ酸配列および配列番号：71 の軽鎖アミノ酸配列からなる mA b 9；

(j) 配列番号：60 の重鎖配列および配列番号：72 の軽鎖配列からなる mA b 10；

(k) 配列番号：64 の重鎖配列および配列番号：72 の軽鎖配列からなる mA b 11；または、

(l) 配列番号：68 の重鎖配列および配列番号：72 の軽鎖配列からなる mA b 12；

(m) 配列番号：90 の重鎖配列および配列番号：69 の軽鎖配列からなる mA b 13；

(n) 配列番号：91 の重鎖配列および配列番号：70 の軽鎖配列からなる mA b 14；

(o) 配列番号：92 の重鎖配列および配列番号：71 の軽鎖配列からなる mA b 15；

10

20

30

40

50

および、

(p) 配列番号 : 9 3 の重鎖配列および配列番号 : 7 2 の軽鎖配列からなる m A b 1 6 からなる群から選択される。

【 0 0 3 8 】

別の態様において、本発明の抗体または結合タンパク質は、少なくとも 1 つの上記定義の抗体 m A b 1 - m A b 1 6 により I L 1 2 R 1 への結合から交差ブロックされる。あるいは、本発明の単離された抗体または結合タンパク質は、I L 1 2 R 1 への結合から少なくとも 1 つの抗体 m A b 1 - m A b 1 6 を交差ブロックするものの中から選択され得る。

【 0 0 3 9 】

本発明はさらに、さらに好ましくは、I L 1 2 R 1 が媒介するか、または I F N 生産、I L 1 2 および / または I L 2 3 シグナル伝達を阻害することにより処置することができる病理学的疾患の処置のための、医薬として使用するための本発明の該抗体またはタンパク質、特に m A b 1 から m A b 1 6 抗体の使用に関する。1 つの特定の態様において、本発明の抗体またはタンパク質は、自己免疫性および炎症性疾患、例えば、リウマチ性関節炎、乾癬または炎症性腸疾患の処置のために使用され得る。

【 0 0 4 0 】

本発明はまた、該抗体またはタンパク質を、1 つ以上の薬学的に許容される賦形剤、希釈剤または担体と共に含む医薬組成物を含む。1 つの特定の態様において、医薬組成物は、1 つ以上の他の活性成分をさらに含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 1 】

1 つの特定の態様において、該医薬組成物は凍結乾燥製剤である。別の特定の態様において、医薬組成物は、好ましくは充填済シリンジとして調製された、治療的に許容される量の本発明の抗体またはタンパク質を含む液体製剤である。

【 0 0 4 2 】

本発明はまた、本発明の抗体またはタンパク質を生産するための方法に関する。このような方法は、宿主細胞において、特に、本発明の抗体またはタンパク質、例えば、m A b 1 - m A b 1 6 の組換え生産のための、本発明の抗体またはタンパク質の少なくとも重および / または軽鎖可変領域をコードする核酸分子またはこのような核酸を含むクローニング発現ベクターを含む。特定の態様において、このようなクローニングまたは発現ベクターは、配列番号 : 7 3 - 8 8 および配列番号 : 9 4 - 9 7 からなる群から選択される少なくとも 1 つの核酸を含む。別の態様において、それは、適当なプロモーター配列に作動可能に連結した、m A b 1 から m A b 1 6 のいずれか 1 つの重鎖および軽鎖配列の少なくとも以下のコード配列のいずれかを含む：

- (a) m A b 1 : 配列番号 : 7 3 および配列番号 : 8 5 ;
- (b) m A b 2 : 配列番号 : 7 7 および配列番号 : 8 5 ;
- (c) m A b 3 : 配列番号 : 8 1 および配列番号 : 8 5 ;
- (d) m A b 4 : 配列番号 : 7 4 および配列番号 : 8 6 ;
- (e) m A b 5 : 配列番号 : 7 8 および配列番号 : 8 6 ;
- (f) m A b 6 : 配列番号 : 8 2 および配列番号 : 8 6 ;
- (g) m A b 7 : 配列番号 : 7 5 および配列番号 : 8 7 ;
- (h) m A b 8 : 配列番号 : 7 9 および配列番号 : 8 7 ;
- (i) m A b 9 : 配列番号 : 8 3 および配列番号 : 8 7 ;
- (j) m A b 1 0 : 配列番号 : 7 6 および配列番号 : 8 8 ;
- (k) m A b 1 1 : 配列番号 : 8 0 および配列番号 : 8 8 ;
- (l) m A b 1 2 : 配列番号 : 8 4 および配列番号 : 8 8 ;
- (m) m A b 1 3 : 配列番号 : 9 4 および配列番号 : 8 5 ;
- (n) m A b 1 4 : 配列番号 : 9 5 および配列番号 : 8 6 ;
- (o) m A b 1 5 : 配列番号 : 9 6 および配列番号 : 8 7 ; または
- (p) m A b 1 6 : 配列番号 : 9 7 および配列番号 : 8 8 .

【0043】

本発明はさらに、上記1つ以上のクローニングまたは発現ベクターを含む宿主細胞、ならびに、本発明の抗体またはタンパク質、特にmAb1-mAb16の生産のための方法であって、宿主細胞を培養すること、該抗体またはタンパク質を精製および回収することを含む方法に関する。

【0044】

本発明がより容易に理解されるために、特定の用語を最初に定義する。さらなる定義は、詳細な説明全体を通して示される。

【0045】

「免疫応答」なる用語は、例えば、リンパ球、抗原提示細胞、食細胞、顆粒球、および上記細胞または肝臓により生産される可溶性高分子（抗体、サイトカインおよび補体を含む）の、侵入性病原体、病原体に感染した細胞または組織、癌性細胞、または、自己免疫もしくは病理学的炎症の場合には、正常ヒト細胞または組織を、選択的に損傷し、破壊し、または人体から除去する作用を示す。10

【0046】

「シグナル変換経路」または「シグナル伝達活性」は、一般的にタンパク質-タンパク質相互作用、例えば、受容体への増殖因子の結合により開始され、細胞のある部分から細胞の別の部分へのシグナルの伝達をもたらす生化学的因果関係を示す。一般的に、該伝達は、シグナル変換を引き起こす一連の反応における1つ以上のタンパク質上の1つ以上のチロシン、セリンまたはスレオニン残基の特異的リン酸化を含む。最後から2番目のプロセスは、一般的に核の事象を含み、遺伝子発現の変化をもたらす。20

【0047】

IL12R₁またはIL12受容体ベータ₁なる用語は、他に記載がない限り、配列番号：89で定義されるヒトIL12R₁を示す。

【0048】

p40なる用語は、他に記載がない限り、配列番号：99で定義されるヒトIL12サイトカインのヒトp40サブユニットを示す。

【0049】

p35なる用語は、他に記載がない限り、配列番号：100で定義されるヒトIL12サイトカインのヒトp35サブユニットを示す。30

【0050】

p19なる用語は、他に記載がない限り、配列番号：101で定義されるヒトIL23サイトカインのヒトp19サブユニットを示す。

【0051】

本明細書における「抗体」なる用語は、抗体全体およびあらゆる抗原結合フラグメント（すなわち、「抗原結合部分」）またはそれらの一本鎖を含む。

【0052】

天然「抗体」は、ジスルフィド結合により相互接続された少なくとも2つの重（H）鎖および2つの軽（L）鎖を含む糖タンパク質である。それぞれの重鎖は、重鎖可変領域（本明細書においてV_Hと略す）および重鎖定常領域で構成される。重鎖定常領域は、3つのドメイン、CH1、CH2およびCH3で構成される。それぞれの軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書においてV_Lと略す）および軽鎖定常領域で構成される。軽鎖定常領域は、1つのドメイン、C_Lで構成される。V_HおよびV_L領域は、より保存されたフレームワーク領域（FR）と称される領域と共に散在する、相補性決定領域（CDR）と称される超可変性の領域にさらに細分することができる。それぞれのV_HおよびV_Lは、アミノ末端からカルボキシ末端へ以下の順番で並んだ3つのCDRおよび4つのFRで構成される：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、免疫系の種々の細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的補体系の第一成分（C1q）を含む宿主組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介し得る4050

【0053】

本明細書において使用される抗体の「抗原結合部分」（または単に「抗原部分」）なる用語は、抗原（例えば、IL12R 1の一部）に特異的に結合する能力を保持する抗体の全長または1つ以上のフラグメントを示す。抗体の抗原結合機能は、全長抗体のフラグメントにより行うことができる事が知られている。抗体の「抗原結合部分」なる用語内に含まれる結合フラグメントの例は、Fabフラグメント、VL、 VH、 CL およびCH 1ドメインからなる一価フラグメント；F(ab)2 フラグメント、ヒンジ領域においてジスルフィド架橋によって連結した2つのFabフラグメントを含む二価フラグメント；VH およびCH 1メインからなるFd フラグメント；抗体の単一のアームのVL およびVH ドメインからなるFv フラグメント；VH ドメインからなるdAb フラグメント（Wardら 1989 Nature 341:544-546）；および単離された相補性決定領域（CDR）、またはこのような抗原結合部分を含むあらゆる融合タンパク質を含む。

10

【0054】

さらに、Fv フラグメントの2つのドメインであるVL およびVH は別々の遺伝子によりコードされているが、それらは、組換え方法を使用して、VL およびVH 領域が対になって一価の分子を形成する一本鎖タンパク質（一本鎖Fv（scFv）として知られる）として作成されることを可能にする合成リンカーによって連結することができる。例えば、Birdら 1988 Science 242:423-426; およびHustonら 1988 Proc. Natl. Acad. Sci. 85: 5879-5883参照。このような一本鎖抗体はまた、抗体の「抗原結合部分」なる用語内に含まれることを意図する。これらの抗体フラグメントは当業者に知られている慣用の技術を使用して得られ、該フラグメントはインタクトな抗体と同じ方法で有用性についてスクリーニングされる。

20

【0055】

本明細書において使用される「単離された抗体」は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体を示す（例えば、IL12R 1に特異的に結合する単離された抗体は、IL12R 1以外の他の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない）。しかしながら、IL12R 1に特異的に結合する単離された抗体は、他の抗原、例えば、他の種のIL12R 1分子に対する交差反応性を有するものであってもよい。さらに、単離された抗体は、他の細胞物質および/または化学物質を実質的に含まないものであってもよい。

30

【0056】

本明細書において使用される「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」なる用語は、単一の分子組成物の抗体分子の調製物を示す。モノクローナル抗体組成物は、特定のエピトープに対する単一の結合特異性および親和性を示す。

【0057】

本明細書において使用される「ヒト抗体」なる用語は、フレームワークおよびCDR領域の両方がヒト起源の配列に由来するものである可変領域を有する抗体を含むことを意図する。さらに、該抗体が定常領域を含むとき、定常領域も、このようなヒト配列、例えば、ヒト生殖細胞系列配列に由来するものであるか、または、ヒト生殖細胞系列配列の変異体バージョンであるか、あるいは、該抗体は、例えば、Knappikら(2000. J Mol Biol 296, 57-86)に記載されているヒトフレームワーク配列分析から得られるコンセンサスフレームワーク配列を含むものである。

40

【0058】

本発明のヒト抗体は、ヒト配列によってコードされないアミノ酸残基（例えば、インビトロのランダムもしくは部位特異的変異誘発またはインビオの体細胞変異により導入される変異）を含み得る。しかしながら、本明細書において使用される「ヒト抗体」なる用語は、別の哺乳動物種、例えばマウスの生殖細胞系列に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列上に移植された抗体を含むことを意図していない。

【0059】

「ヒトモノクローナル抗体」なる用語は、フレームワークおよびCDR領域の両方がヒ

50

ト配列由来である可変領域を有する单一の結合特異性を示す抗体を示す。

【0060】

本明細書において使用される「組換えヒト抗体」なる用語は、組換え手段により調製、発現、作成または単離される全てのヒト抗体、例えば、ヒト免疫グロブリン遺伝子のトランスジェニックまたは染色体導入である動物（例えば、マウス）または該動物から調製されたハイブリドーマから単離される抗体、ヒト抗体を発現するように形質転換された宿主細胞、例えば、トランスフェクトーマから単離される抗体、組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離される抗体、および、ヒト免疫グロブリン遺伝子配列の全てまたは一部を他のDNA配列へスプライシングすることを含む他のいづれかの手段により調製、発現、作成または単離される抗体を含む。このような組換えヒト抗体は、フレームワークおよびCDR領域が、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列に由来するものである可変領域を有する。1つの態様において、しかしながら、このような組換えヒト抗体は、インビトロの変異誘発（または、ヒトIg配列に関してトランスジェニック動物を使用するとき、インビボの体細胞変異誘発）に付すことができ、したがって、該組換え抗体のV_HおよびV_L領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系列V_HおよびV_L配列に由来し、関連するが、インビボのヒト抗体生殖細胞系列レパートリー内には天然には存在しない可能性がある配列である。

10

【0061】

本明細書において使用される「アイソタイプ」は、重鎖定常領域遺伝子により提供される抗体クラス（例えば、IgM、IgE、IgG、例えば、IgG1またはIgG4）を示す。

20

【0062】

「抗原を認識する抗体」および「抗原に特異的な抗体」なる語句は、「抗原に特異的に結合する抗体」なる用語と本明細書において互換的に使用される。

【0063】

本明細書において使用される「IL12R 1ポリペプチドに特異的に結合する」抗体またはタンパク質は、100nM以下、10nM以下、1nM以下、100pM以下または10pM以下のK_DでヒトIL12R 1ポリペプチドに結合する抗体またはタンパク質を示すことが意図される。「IL12R 1以外の抗原と交差反応する」抗体は、10nM以下、1nM以下または100pM以下のK_Dで抗原に結合する抗体を示すことが意図される。「特定の抗原と交差反応しない」抗体は、100nM以上のK_D、または1μM以上のK_D、または10μM以上のK_Dで抗原に結合する抗体を示すことが意図される。1つの態様において、抗原と交差反応しないこのようないくつかの抗体は、標準結合アッセイにおいてこれらのタンパク質に対する検出不可能な結合を本質的に示す。

30

【0064】

本明細書において使用される「K_{assoc}」または「K_a」なる用語は、特定の抗体-抗原相互作用の会合速度を示すことを意図し、本明細書において使用される「K_{diss}」または「K_d」なる用語は、特定の抗体-抗原相互作用の解離速度を示すことを意図する。

40

【0065】

本明細書において使用される「K_D」なる用語は、K_aに対するK_dの比（すなわちK_d/K_a）から得られ、モル濃度（M）として表される解離定数を示すことを意図する。抗体についてのK_D値は、当該分野において十分に確立された方法を使用して決定することができる。抗体のK_Dを決定するための方法は、表面プラズモン共鳴を使用すること、またはバイオセンサー系、例えば、Biacore（登録商標）システムを使用することによる。Biacore（登録商標）システムで抗-IL12R 1抗体K_Dを測定するためのアッセイは、以下の実施例に記載されている。

【0066】

本明細書において使用される「アフィニティー」なる用語は、单一の抗原性部位における抗体と抗原の間の相互作用の強さを示す。それぞれの抗原部位内において、抗体「ア-

50

ム」の可変領域は、多数の部位において弱い非共有結合的力を介して抗原と相互作用する；相互作用が大きければ大きいほど、アフィニティーは強くなる。

【0067】

本明細書において使用される「親和性」なる用語は、抗体 - 抗原複合体の全体的安定性または強度の有益な尺度を示す。それは、3つの主な要因：抗体エピトープアフィニティー；抗原および抗体両方の価数；および相互作用する部分の構造的配置によって制御される。最後に、これらの因子は、抗体の特異性、即ち、特定の抗体が正確な抗原エピトープに結合している可能性を規定する。

【0068】

本明細書において使用される IL 12 R 1 ポリペプチドへの IL 12 および / または IL 2 3 の結合を阻害する抗体またはタンパク質は、インビトロ競合的結合アッセイ、例えば、BioverisTM アッセイにおいて測定されるとき、10 nM 以下の IC₅₀ で、好ましくは 1 nM 以下の IC₅₀ で、さらに好ましくは 100 pM 以下の IC₅₀ で、IL 12 R 1 ポリペプチドへの IL 12 および / または IL 2 3 の結合を阻害する抗体またはタンパク質を示すことを意図する。このようなアッセイは、以下の実施例においてより詳細に記載されている。

【0069】

本明細書において使用される「IL 12 R アンタゴニスト」なる用語は、ヒト細胞アッセイ、例えば、ヒト血球における IL 12 依存性 IFN 生産アッセイにおいて IL 12 の存在下で IL 12 R 1 誘導シグナル伝達活性を阻害する抗体またはタンパク質を示すことを意図する。このようなアッセイは、以下の実施例においてより詳細に記載されている。いくつかの態様において、本発明の抗体またはタンパク質は、10 nM 以下、1 nM 以下または 100 pM 以下の IC₅₀ でヒト血球アッセイにおいて測定されるとき、IL 12 依存性 IFN 生産を阻害する。このようなアッセイは、以下の実施例においてより詳細に記載されている。

【0070】

本明細書において使用される「IL 2 3 R アンタゴニスト」なる用語は、ヒト細胞アッセイ、例えば、ヒト血球における IL 2 3 依存性 IFN 生産アッセイにおいて IL 2 3 の存在下で IL 12 R 1 誘導シグナル伝達活性を阻害する抗体を示すことを意図する。このようなアッセイは、以下の実施例においてより詳細に記載されている。いくつかの態様において、本発明の抗体またはタンパク質は、10 nM 以下、1 nM 以下または 100 pM 以下の IC₅₀ でヒト血球アッセイにおいて測定されるとき、IL 2 3 IFN 生産を阻害する。このようなアッセイは、以下の実施例においてより詳細に記載されている。

【0071】

本明細書において使用される「アゴニスト活性を有しない」抗体は、細胞ベースのアッセイ、例えば、ヒト血球における IL 12 IFN 生産アッセイでの IL 12 の非存在下で、IL 12 R 1 媒介シグナル伝達活性を有意に増加させない抗体を示すことを意図する。このようなアッセイは、以下の実施例においてより詳細に記載されている。

【0072】

本明細書において使用される、全血液細胞における IL 12 エキソビボ IFN 生産を阻害する抗体またはタンパク質は、10 μg / ml を超える抗 - IL 12 R 1 mAb 血漿レベルで、コントロールレベルの 10 % 未満のレベルに IL 12 エキソビボ IFN 生産を低下させる抗体またはタンパク質を示すことを意図する。いくつかの態様において、それは、10 μg / ml を超える抗 - IL 12 R 1 mAb 血漿レベルで靈長類血球における IL 12 エキソビボ IFN 生産を完全に破壊する抗体またはタンパク質を示す。このようなアッセイは、以下の実施例においてより詳細に記載されている。

【0073】

本明細書において使用される「ADC CC」または「抗体依存性細胞毒性」活性なる用語

10

20

30

40

50

は、細胞を枯渇させる活性を示す。ADC活性は、以下の実施例においてより詳細に記載されているADCアッセイにより測定することができる。

【0074】

本明細書において使用される、本発明の抗体またはタンパク質に対する「選択性」なる用語は、特定の標的ポリペプチドに結合するが、密接に関係するポリペプチドには結合しない抗体またはタンパク質を示す。

【0075】

本明細書において使用される抗体に対する「高親和性」なる用語は、標的抗原に対して 1 nM 以下の K_D を有する抗体を示す。本明細書において使用される「対象」なる用語は、すべてのヒトまたは非ヒト動物を含む。10

【0076】

「非ヒト動物」なる用語は、全ての脊椎動物、例えば、哺乳動物および非哺乳動物、例えば、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、鳥類、両生動物、は虫類などを含む。

【0077】

本明細書において使用される「最適化」なる用語は、生産細胞または生物体、一般的に真核細胞、例えば、ピチア(Pichia)細胞、トリコデルマ(Trichoderma)細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)またはヒト細胞において好ましいコドンを使用して、アミノ酸配列をコードするように変更されたヌクレオチド配列を意味する。最適化されたヌクレオチド配列は、「親」配列としても知られている出発ヌクレオチド配列によって元々コードされていたアミノ酸配列を完全に、または可能な限り多く保持するように操作される。本明細書における最適化された配列は、CHO哺乳動物細胞において好ましいコドンを有するように操作されているが、しかしながら、他の真核細胞におけるこれらの配列の最適化された発現もまた本明細書において構想される。最適化されたヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列もまた、最適化されていると称される。20

【0078】

本明細書において使用される2つの配列間の同一性パーセントは、2つの配列の最適なアラインメントのために導入されるために必要であるギャップの数およびそれぞれのギャップの長さを考慮して、配列で共有される同一の位置の数の関数(すなわち、%同一性 = 同一の位置の# / 全部の位置の# × 100)である。配列間の比較および2つの配列間の同一性パーセントの決定は、以下に記載されるとおり、数学アルゴリズムを使用して、成し遂げることができる。30

【0079】

2つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、ALIGNプログラム(バージョン2.0)に組み込まれているE. MeyersおよびW. Millerのアルゴリズム(Comput. Appl. Biosci., 4:11-17, 1988)を使用し、PAM120重み付き残基表、12のギャップ長ペナルティおよび4のギャップペナルティを使用して決定することができる。あるいは、2つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、GCGソフトウェアパッケージ(<http://www.gcg.com>において利用できる)中のGAPプログラムに組み込まれているNeedlemanおよびWunsch(J. Mol. Biol. 48:444-453, 1970)アルゴリズムを使用し、Blossom62マトリックスまたはPAM250マトリックスのいずれか、および16、14、12、10、8、6または4のギャップ重みおよび1、2、3、4、5または6の長さ重みを使用して決定することができる。40

【0080】

2つのアミノ酸配列間の同一性パーセントはまた、例えば、アルゴリズム、例えば、核酸配列について、デフォルトとして、11のワード長(W)、10の期待値(E)、M=5、N=4、および両鎖比較を使用するBLASTNプログラムを使用して決定され得る。

【0081】

「交差ブロックする」、「交差ブロックされる」および「交差ブロッキング」なる用語

は、標準競合的結合アッセイにおいて他の抗体または結合剤と I L 1 2 R 1 との結合を妨げる抗体または他の結合剤の能力を意味するために、本明細書において互換的に使用される。

【 0 0 8 2 】

抗体または他の結合剤が別の抗体または結合分子と I L 1 2 R 1 との結合を妨げることができる能力または程度、およびそれを本発明による交差プロックすると言えるか否かは、標準競合結合アッセイを使用して決定することができる。1つの適当なアッセイは、表面プラズモン共鳴技術を使用して相互作用の程度を測定することができる Biacore 技術（例えば、BIAcore 3000 装置（Biacore, Uppsala, Sweden）を使用することにより）の使用を含む。交差プロッキングを測定するための別のアッセイは、ELISA ベースのアプローチを使用する。これらの方法のさらなる詳細は、以下の実施例に挙げられている。10

【 0 0 8 3 】

本発明において、本発明の交差プロッキング抗体または他の結合剤は、抗体または結合剤の組合せ（混合）の記録された結合が、組合せにおいて、2つの抗体または結合剤の（上記定義のとおり）最大理論結合の 80 % から 0 . 1 %（例えば、80 % から 4 %）、具体的には、最大理論結合の 75 % から 0 . 1 %（例えば、75 % から 4 %）、さらに具体的には、最大理論結合の 70 % から 0 . 1 %（例えば、70 % から 4 %）、さらに具体的には、65 % から 0 . 1 %（例えば、65 % から 4 %）であるように、記載された BIA core 交差プロッキングアッセイにおいて I L 1 2 R 1 に結合する。20

【 0 0 8 4 】

溶液相抗 - I L 1 2 R 1 抗体が、溶液相抗 - I L 1 2 R 1 抗体（すなわち陽性コントロールウェル）の非存在下で得られた I L 1 2 R 1 検出シグナルと比較して、I L 1 2 R 1 検出シグナル（すなわち被覆された抗体に結合された I L 1 2 R 1 の量）の 60 % から 100 %、具体的には 70 % から 100 %、さらに具体的には 80 % から 100 % の減少を引き起こすことができるとき、抗体は、実施例に記載されている ELISA アッセイにおいて交差プロッキングとして定義される。

【 0 0 8 5 】

組換え抗体

本発明の抗体は、単離され、以下の表 1 に記載されている全長重鎖および軽鎖アミノ酸配列により構造的に特徴付けられるヒト組換え抗体 mAb1 - mAb16 を含む：30

表 1 : mAb1 - mAb16 の全長重鎖および軽鎖アミノ酸配列

【表1】

抗体	全長重鎖 アミノ酸配列	全長軽鎖 アミノ酸配列
mAb 1	配列番号：57	配列番号：69
mAb 2	配列番号：61	配列番号：69
mAb 3	配列番号：65	配列番号：69
mAb 4	配列番号：58	配列番号：70
mAb 5	配列番号：62	配列番号：70
mAb 6	配列番号：66	配列番号：70
mAb 7	配列番号：59	配列番号：71
mAb 8	配列番号：63	配列番号：71
mAb 9	配列番号：67	配列番号：71
mAb 10	配列番号：60	配列番号：72
mAb 11	配列番号：64	配列番号：72
mAb 12	配列番号：68	配列番号：72
mAb 13	配列番号：90	配列番号：69
mAb 14	配列番号：91	配列番号：70
mAb 15	配列番号：92	配列番号：71
mAb 16	配列番号：93	配列番号：72

10

20

【0086】

本発明のこのような単離された抗体mAb 1 - mAb 16の対応する可変領域、V_HおよびV_Lアミノ酸配列は、以下の表2に示される。

表2：mAb 1 - mAb 16の可変重鎖および軽鎖アミノ酸配列

【表2】

抗体	可変重鎖 アミノ酸配列	可変軽鎖 アミノ酸配列
mAb 1、mAb 2、mAb 3、mAb 13	配列番号：49	配列番号：50
mAb 4、mAb 5、mAb 6、mAb 14	配列番号：51	配列番号：52
mAb 7、mAb 8、mAb 9、mAb 15	配列番号：53	配列番号：54
mAb 10、mAb 11、mAb 12、mAb 16	配列番号：55	配列番号：56

30

40

【0087】

本発明の他の抗体は、上記配列に記載されているCDR領域とCDR領域において少なくとも60、70、80、90、95または100同一性パーセントを有する、アミノ酸欠失、挿入または置換により変異されているアミノ酸を有するものを含む。いくつかの様において、本発明の抗体は、わずか1、2、3、4または5個のアミノ酸が、上記配列に記載されているCDR領域と比較したとき、CDR領域におけるアミノ酸欠失、挿入または置換により変異されている変異アミノ酸配列を含む、mAb 1 - mAb 16のいずれか1つの変異体である。

【0088】

mAb 1 - mAb 16の全長軽鎖および重鎖ヌクレオチドコード配列は、以下の表3に示される。

50

表3：全長重鎖および軽鎖DNAコード配列

【表3】

抗体	全長重鎖 DNAコード配列	全長軽鎖 DNAコード配列
mAb 1	配列番号：73	配列番号：85
mAb 2	配列番号：77	配列番号：85
mAb 3	配列番号：81	配列番号：85
mAb 4	配列番号：74	配列番号：86
mAb 5	配列番号：78	配列番号：86
mAb 6	配列番号：82	配列番号：86
mAb 7	配列番号：75	配列番号：87
mAb 8	配列番号：79	配列番号：87
mAb 9	配列番号：83	配列番号：87
mAb 10	配列番号：76	配列番号：88
mAb 11	配列番号：80	配列番号：88
mAb 12	配列番号：84	配列番号：88
mAb 13	配列番号：94	配列番号：85
mAb 14	配列番号：95	配列番号：86
mAb 15	配列番号：96	配列番号：87
mAb 16	配列番号：97	配列番号：88

10

20

【0089】

本発明の抗体をコードする他の核酸は、上記または以下の表4および5の配列に記載されているCDR対応コード領域と少なくとも60、70、80、90、95または100同一性パーセントを有する、ヌクレオチド欠失、挿入または置換により変異されている核酸を含む。

【0090】

いくつかの態様において、それは、わずか1、2、3、4または5個のヌクレオチドが、上記または以下の表4および5の配列に記載されているCDRコード領域とCDRコード領域においてヌクレオチド欠失、挿入または置換により変化されている変異核酸を含む。

30

【0091】

同じエピトープに結合する抗体において、V_H、V_L、全長軽鎖および全長重鎖配列（ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列）は、「混合し、マッチングして」、本発明の他の抗-IL12R-1結合分子を作製することができる。このような「混合し、マッチングした」抗体のIL12R-1結合は、上記結合アッセイまたは他の慣用の結合アッセイ（例えば、ELISA）を使用して試験することができる。これらの鎖を混合し、マッチングしたとき、特定のV_H/V_LペアからのV_H配列は、構造的に類似のV_H配列で置換されるべきである。同様に、特定の全長重鎖/全長軽鎖ペアからの全長重鎖配列は、構造的に類似の全長重鎖配列で置換されるべきである。同様に、特定のV_H/V_LペアからのV_L配列は、構造的に類似のV_L配列で置換されるべきである。同様に、特定の全長重鎖/全長軽鎖ペアからの全長軽鎖配列は、構造的に類似の全長軽鎖配列で置換されるべきである。したがって、1つの局面において、本発明は、配列番号：49、51、53および55からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号：50、52、54および56からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する単離された組換え抗体であって；該重鎖および軽鎖領域は、該抗体がIL12R-1に特異的に結合するように選択される組換え抗体を提供する。

40

【0092】

50

本発明のいくつかの抗体の V_H CDR1（使用される CDR 定義に依存して HCDR1 または HCDR1' とも称される）、 V_H CDR2（使用される CDR 定義に依存して HCDR2 または HCDR2' とも称される）、 V_H CDR3（使用される CDR 定義に依存して HCDR1 または HCDR1' とも称される）、 V_L CDR1（使用される CDR 定義に依存して LCDR1 または LCDR1' とも称される）、 V_L CDR2（使用される CDR 定義に依存して LCDR2 または LCDR2' とも称される）、 V_L CDR3（使用される CDR 定義に依存して LCDR3 または LCDR3' とも称される）のアミノ酸配列の例は、以下の表 4 および 5 に示される。

【0093】

表 4において、本発明のいくつかの抗体の CDR 領域は、Kabat 系を使用して表される（Kabat, E. Aら 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242, Zhao&Lu, 2009, Molecular Immunology 47: 694-700も参照）。

10

【0094】

読みやすさのために、CDR 領域が Kabat 定義にしたがって示されるとき、それらは、それぞれ、以下、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3 と称される。

表 4 : Kabat 定義にしたがう mAb1 から mAb16 の CDR 領域

【表 4】

元の抗体	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb1、mAb2、mAb3、mAb13	配列番号 :1	配列番号 :2	配列番号 :3	配列番号 :4	配列番号 :5	配列番号 :6
mAb4、mAb5、mAb6、mAb14	配列番号 :7	配列番号 :8	配列番号 :9	配列番号 :10	配列番号 :11	配列番号 :12
mAb7、mAb8、mAb9、mAb15	配列番号 :13	配列番号 :14	配列番号 :15	配列番号 :16	配列番号 :17	配列番号 :18
mAb10、mAb11、mAb12、mAb16	配列番号 :19	配列番号 :20	配列番号 :21	配列番号 :22	配列番号 :23	配列番号 :24

20

【0095】

表 5において、本発明の同じ抗体の CDR 領域は、Chothia 系を使用して示される（Al-Lazikani ら 1997. J. Mol. Biol. 273, 927-948）。読みやすさのために、CDR 領域が Chothia 定義にしたがって示されるとき、それらは、それぞれ、以下、HCDR1'、HCDR2'、HCDR3'、LCDR1'、LCDR2'、LCDR3' と称される。

30

表 5 : Chothia 定義にしたがう mAb1 から mAb16 の CDR 領域

【表 5】

元の抗体	HCDR1'	HCDR2'	HCDR3'	LCDR1'	LCDR2'	LCDR3'
mAb1、mAb2、mAb3、mAb13	配列番号 :25	配列番号 :26	配列番号 :27	配列番号 :28	配列番号 :29	配列番号 :30
mAb4、mAb5、mAb6、mAb14	配列番号 :31	配列番号 :32	配列番号 :33	配列番号 :34	配列番号 :35	配列番号 :36
mAb7、mAb8、mAb9、mAb15	配列番号 :37	配列番号 :38	配列番号 :39	配列番号 :40	配列番号 :41	配列番号 :42
mAb10、mAb11、mAb12、mAb16	配列番号 :43	配列番号 :44	配列番号 :45	配列番号 :46	配列番号 :47	配列番号 :48

40

【0096】

50

これらの抗体のそれぞれが I L 1 2 R 1 に結合することができ、抗原結合特異性が C D R 1、2 および 3 領域により主に提供されることを考慮すると、V_H C D R 1、2 および 3 配列ならびに V_L C D R 1、2 および 3 配列は、「混合し、マッチングする」ことができる（すなわち、異なる抗体からの C D R は混合し、マッチングすることができ、V_H C D R 1、2 および 3 ならびに V_L C D R 1、2 および 3 を含むそれぞれの抗体は本発明の他の抗-I L 1 2 R 1 結合分子を生成する）。このような「混合し、マッチングする」抗体の I L 1 2 R 1 結合は、上記および実施例の結合アッセイまたは他の慣用のアッセイ（例えば、E L I S A）を使用して試験することができる。V_H C D R 配列を混合し、マッチングしたとき、特定の V_H 配列からの C D R 1、C D R 2 および / または C D R 3 配列は、構造的に同様の C D R 配列で置換されるべきである。同様に、V_L C D R 配列を混合し、マッチングしたとき、特定の V_L 配列からの C D R 1、C D R 2 および / または C D R 3 配列は、構造的に同様の C D R 配列で置換されるべきである。新規 V_H および V_L 配列が、1つ以上の V_H および / または V_L C D R 領域配列を、本発明のモノクローン抗体に対して本明細書に示されている C D R 配列からの構造的に同様の配列で置換することにより作製することは、当業者に容易に理解される。

10

【0097】

1つの態様において、単離された組換え抗体またはその抗原結合領域を含むタンパク質は、配列番号：1、7、13 および 19 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 1；配列番号：2、8、14 および 20 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 2；配列番号：3、9、15 および 21 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 3；配列番号：4、10、16 および 22 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 1；配列番号：5、11、17 および 23 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 2；ならびに配列番号：6、12、18 および 24 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 3 を有し、該 C D R 領域は、本発明の抗体またはタンパク質が I L 1 2 R 1 に特異的に結合するように選択される。

20

【0098】

別の態様において、単離された組換え抗体またはその抗原結合領域を含むタンパク質は、配列番号：25、31、37 および 43 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 H C D R 1'；配列番号：26、32、38 および 44 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 H C D R 2'；配列番号：27、33、39 および 45 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 H C D R 3'；配列番号：28、34、40 および 46 からなる群から選択されるアミノ酸配列軽鎖可変領域を含む L C D R 1'；配列番号：29、35、41 および 47 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 L C D R 2'；および配列番号：30、36、42 および 48 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 L C D R 3' を有し、該 C D R 領域は、本発明の抗体またはタンパク質が I L 1 2 R 1 に特異的に結合することができるように選択される。

30

【0099】

1つの態様において、本発明の抗体またはタンパク質は、

40

(a) 配列番号：1 の H C D R 1、配列番号：2 の H C D R 2、配列番号：3 の H C D R 3 を含む可変重鎖アミノ酸配列および配列番号：4 の L C D R 1、配列番号：5 の L C D R 2 および配列番号：6 の L C D R 3 を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(b) 配列番号：7 の H C D R 1、配列番号：8 の H C D R 2、配列番号：9 の H C D R 3 を含む可変重鎖アミノ酸配列および配列番号：10 の L C D R 1、配列番号：11 の L C D R 2 および配列番号：12 の L C D R 3 を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(c) 配列番号：13 の H C D R 1、配列番号：14 の H C D R 2、配列番号：15 の H C D R 3 を含む可変重鎖アミノ酸配列および配列番号：16 の L C D R 1、配列番号：17 の L C D R 2 および配列番号：18 の L C D R 3 を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(d) 配列番号：19 の H C D R 1、配列番号：20 の H C D R 2、配列番号：21 の H

50

C D R 3 を含む可変重鎖アミノ酸配列および配列番号：2 2 の L C D R 1 、配列番号：2 3 の L C D R 2 および配列番号：2 4 の L C D R 3 を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(e) 配列番号：2 5 の H C D R 1 ' 、配列番号：2 6 の H C D R 2 ' 、配列番号：2 7 の H C D R 3 ' を含む可変重鎖アミノ酸配列および配列番号：2 8 の L C D R 1 ' 、配列番号：2 9 の L C D R 2 ' および配列番号：3 0 の L C D R 3 ' を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(f) 配列番号：3 1 の H C D R 1 ' 、配列番号：3 2 の H C D R 2 ' 、配列番号：3 3 の H C D R 3 ' を含む可変重鎖アミノ酸配列および配列番号：3 4 の L C D R 1 ' 、配列番号：3 5 の L C D R 2 ' および配列番号：3 6 の L C D R 3 ' を含む可変軽鎖アミノ酸配列；

(g) 配列番号：3 7 の H C D R 1 ' 、配列番号：3 8 の H C D R 2 ' 、配列番号：3 9 の H C D R 3 ' を含む可変重鎖アミノ酸配列および配列番号：4 0 の L C D R 1 ' 、配列番号：4 1 の L C D R 2 ' および配列番号：4 2 の L C D R 3 ' を含む可変軽鎖アミノ酸配列；または、

(h) 配列番号：4 3 の H C D R 1 ' 、配列番号：4 4 の H C D R 2 ' 、配列番号：4 5 の H C D R 3 ' を含む可変重鎖アミノ酸配列および配列番号：4 6 の L C D R 1 ' 、配列番号：4 7 の L C D R 2 ' および配列番号：4 8 の L C D R 3 ' を含む可変軽鎖アミノ酸配列

のいずれかを含む。

【 0 1 0 0 】

抗体の可変領域または全長鎖がヒト生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子を使用するシステムから得られる、本明細書において使用されるヒト抗体は、特定の生殖細胞系列配列「の生成物」である、または「に由来する」重鎖または軽鎖可変領域または全長重鎖または軽鎖を含む。このようなシステムは、ヒト免疫グロブリン遺伝子を有するトランスジェニックマウスを、興味ある抗原またはで免疫すること、ファージにディスプレイされたヒト免疫グロブリン遺伝子ライブラリーを興味ある抗原でスクリーニングすることを含む。ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列「の生成物」である、または「に由来する」ヒト抗体は、ヒト抗体のアミノ酸配列をヒト生殖細胞系列免疫グロブリンのアミノ酸配列と比較し、ヒト抗体の配列と配列において最も近接する（すなわち、最大の%同一性）ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列を選択することによりそれ自体同定することができる。特定のヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列「の生成物」である、または「に由来する」ヒト抗体は、例えば、自然体細胞変異または部位特異的変異の意図的導入による、生殖細胞系列配列と比較したアミノ酸の違いを含み得る。しかしながら、選択されたヒト抗体は、一般的に、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列とアミノ酸配列において少なくとも 9 0 % 同一であり、他の種の生殖細胞系列免疫グロブリニアミノ酸配列（例えば、マウス生殖細胞系列配列）と比較したとき、ヒト抗体をヒトであると同定するアミノ酸残基を含む。ある場合において、ヒト抗体は、生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列と、アミノ酸配列において少なくとも 6 0 % 、 7 0 % 、 8 0 % 、 9 0 % または少なくとも 9 5 % 、あるいは少なくとも 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % または 9 9 % 同一であり得る。一般的に、特定のヒト生殖細胞系列配列に由来するヒト抗体は、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列とわずか 1 0 個のアミノ酸の違いしか示さない。ある場合において、ヒト抗体は、生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子によってコードされるアミノ酸配列とわずか 5 、あるいはわずか 4 、 3 、 2 または 1 個のアミノ酸の違いしか示さなくてもよい。

【 0 1 0 1 】

同種抗体

さらに別の態様において、本発明の抗体またはタンパク質は、特に表 1 における、前記抗体 m A b 1 - m A b 1 6 のアミノ酸またはヌクレオチド配列と同種である、全長重鎖および軽鎖アミノ酸配列；全長重鎖および軽鎖ヌクレオチド配列、可変領域重鎖および軽鎖ヌクレオチド配列、または可変領域重鎖および軽鎖アミノ酸配列、または全 6 つの C D R

10

20

30

40

50

領域アミノ酸配列またはヌクレオチドコード配列を有し、元の mAb1 - mAb16 抗体の所望の機能特性を保持する。

【0102】

元の mAb1 - mAb16 抗体の所望の機能特性は、

(i) 例えれば、実施例に記載されている Biacore アッセイにおいて測定されるとき、 1 nM 以下、 100 pM 以下または 10 pM 以下である K_D で、 IL12R1 への結合親和性 (IL12R1 への特異的結合)；

(ii) 例えれば、実施例に記載されている IL12 または IL23 インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されるとき、 10 nM 以下または 1 nM 以下または 100 pM 以下である IC_{50} で、 IL12R1 への IL12 または IL23 結合の競合的阻害；

(iii) 例えれば、実施例に記載されているヒト血球アッセイにおいて IL12 または IL23 依存性 IFN 生産を測定されるとき、 10 nM 以下または 1 nM 以下または 100 pM 以下である IC_{50} で、ヒト血球における IFN 生産の IL12 および / または IL23 依存性阻害；

(iv) 靈長類血球におけるエキソビオ IFN - 生産の IL12 依存性阻害；

(v) 配列番号 : 98 のカニクイザル IL12R1 ポリペプチドとの交差反応性；

(vi) 薬物開発のための適当な特性、特に、高い濃度で、すなわち、 50 mg/mL を超えて製剤中で凝集しない；および、

(vii) ADC活性を付与しないか、または減少した ADC活性を付与するからなる群から選択され得る。

【0103】

例えれば、本発明は、可変重鎖 (V_H) および可変軽鎖 (V_L) 配列を含む mAb1 - mAb16 の同種抗体（またはその抗原結合部分を含む結合タンパク質）に関し、これらの CDR 配列、すなわち 6 個の CDR 領域 ; HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3 または HCDR1'、HCDR2'、HCDR3'、LCDR1'、LCDR2'、LCDR3' は、mAb1 - mAb16 の少なくとも 1 つの抗体の対応する CDR 配列と少なくとも 60、70、90、95 または 100 パーセント配列同一性を共有し、該同種抗体または結合タンパク質は、IL12R1 に特異的に結合し、該抗体または結合タンパク質は、IL12R1 への IL12 および IL23 結合を阻害するか、ヒト血球における IL12 依存性 IFN 生産を阻害するか、ヒト血球における IL23 依存性 IFN 生産を阻害するか、または靈長類血球における IL12 エキソビオ IFN - 生産を阻害する、機能特性の少なくとも 1 つを示す。関連の特定の態様において、同種抗体または結合タンパク質は、 1 nM 以下の K_D で IL12R1 に結合し、 1 nM 以下の IC_{50} でインビトロ競合的結合アッセイ、例えれば、BiovirisTM アッセイにおいて測定されたとき、IL12R1 への IL12 および / または IL23 結合を阻害する。mAb1 - mAb16 の CDR は、上記表 4 および 5 に定義される。

【0104】

本発明はさらに、mAb1 - mAb16 抗体のいずれか 1 つの対応する重鎖および軽鎖可変領域と少なくとも 80%、90% または少なくとも 95% または 100% 同一である重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む mAb1 - mAb16 の同種抗体（またはその抗原結合部分を含む結合タンパク質）に関し、該同種抗体または結合タンパク質は、IL12R1 に特異的に結合し、IL12R1 への IL12 および IL23 結合を阻害するか、ヒト血球における IL12 依存性 IFN 生産を阻害するか、ヒト血球における IL23 依存性 IFN 生産を阻害するか、または靈長類血球における IL12 エキソビオ IFN - 生産を阻害する、機能特性の少なくとも 1 つを示す。関連の特定の態様において、同種抗体または結合タンパク質は、 1 nM 以下の K_D で IL12R1 に結合し、 1 nM 以下の IC_{50} でインビトロ競合的結合アッセイ、例えれば、BiovirisTM アッセイにおいて測定されたとき、IL12R1 への IL12 および / または IL23 結合を阻害する。

10

20

30

40

50

セイにおいて測定されたとき、IL12R₁へのIL12および/またはIL23結合を阻害する。mAb1-mAb16のV_HおよびV_Lアミノ酸配列は、上記表2に定義される。

【0105】

別の例において、本発明は、可変重鎖が、mAb1-mAb16の可変重鎖および軽鎖の対応するコードヌクレオチド配列と少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%または100%同一であるヌクレオチド配列によってコードされる、全長重鎖および全長軽鎖を含むmAb1-mAb16の同種抗体（またはその抗原結合部分を含む結合タンパク質）に関し、該同種抗体または結合タンパク質は、IL12R₁に特異的に結合し、IL12R₁へのIL12およびIL23結合を阻害するか、ヒト血球におけるIL12依存性IFN生産を阻害するか、ヒト血球におけるIL23依存性IFN生産を阻害するか、または靈長類血球におけるIL12エキソビポIFN-生産を阻害する、機能特性の少なくとも1つを示す。関連の特定の態様において、同種抗体または結合タンパク質は、1nM以下のK_DでIL12R₁に結合し、1nM以下のIC₅₀でインビトロ競合的結合アッセイ、例えば、BioverisTMアッセイにおいて測定されたとき、IL12R₁へのIL12および/またはIL23結合を阻害する。mAb1からmAb16の可変領域のコードヌクレオチド配列は、mAb1-mAb16の全長コードヌクレオチド配列を示す表3およびmAb1-mAb16の可変領域のアミノ酸配列を示す表2に由来し得る。

10

【0106】

種々の態様において、抗体の抗原結合部分を含む抗体または結合タンパク質は、1つ以上、2つ以上、3つ以上または4つ以上の上記の所望の機能特性を示し得る。本発明の抗体またはタンパク質は、例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体であり得る。好ましくは、抗体またはタンパク質は、完全ヒトサイレント抗体、好ましくは完全ヒトサイレントIgG1抗体である。

20

【0107】

本明細書において使用される「サイレント」抗体なる用語は、実施例に記載されているADCC活性アッセイにおいて測定されるとき、ADCC活性を付与しないか、または減少したADCC活性を付与する抗体を示す。

30

【0108】

1つの態様において「ADCC活性を付与しないか、または減少したADCC活性を付与する」なる用語は、サイレント抗体が、対応する野生型（非サイレント）抗体で観察されるADCC活性の50%以下、例えば10%以下であるADCC活性を示すことを意味する。

【0109】

サイレントエフェクター機能は、抗体のFc定常部分における変異により得ることができ、文献：Strohl 2009 (LALA & N297A); Baudino 2008, D265A (Baudinoら J.Immunol. 181 (2008): 6664-69, Strohl, CO Biotechnology 20 (2009): 685-91)に記載されている。サイレントIgG1抗体の例は、IgG1 Fcアミノ酸配列におけるL234AおよびL235A変異を含むいわゆるLALA変異体を含む。サイレントIgG1抗体の別の例は、D265A変異を含む。別のサイレントIgG1抗体は、N297A変異を含み、グリコシル化されていない抗体または非-グリコシル化抗体となる。

40

【0110】

変異アミノ酸配列を有する抗体は、コード核酸分子の変異誘発（例えば、部位特異的またはPCR媒介性変異誘発）させ、次に、コードする変化した抗体を、保持された機能（すなわち、上記の機能）について、本明細書に記載されている機能アッセイを使用して試験することにより得ることができる。

【0111】

保存的修飾を有する抗体

1つの態様において、本発明の抗体（またはその抗原結合部分を含む結合タンパク質）

50

は、H C D R 1 、 H C D R 2 および H C D R 3 配列（または H C D R 1' 、 H C D R 2' および H C D R 3' ）を含む重鎖可変領域および L C D R 1 、 L C D R 2 および L C D R 3 配列（または L C D R 1' 、 L C D R 2' および L C D R 3' ）を含む軽鎖可変領域を有し、1つ以上のこれらの C D R 配列は、本明細書に記載されている m A b 1 から m A b 1 6 抗体に基づく特定のアミノ酸配列またはその保存的修飾を有し、該抗体またはタンパク質は、本発明の抗 - I L 1 2 R 1 抗体の所望の機能特性を保持する。

【 0 1 1 2 】

本明細書において使用される「保存的配列修飾」なる用語は、アミノ酸残基が同様の側鎖を有するアミノ酸残基で置換されているアミノ酸置換を示すことが意図される。同様の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当分野で定義されている。これらのファミリーは、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、ベータ - 分岐側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）および芳香族性側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を有するアミノ酸を含む。したがって、本発明の抗体の C D R 領域内の1つ以上のアミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーからの他のアミノ酸残基で置換することができ、変化した抗体は、本明細書に記載されている機能アッセイを使用して保持された機能について試験することができる。10

【 0 1 1 3 】

修飾は、当分野で知られている標準技術、例えば、部位特異的変異誘発および P C R 媒介性変異誘発により、本発明の抗体に導入することができる。20

【 0 1 1 4 】

m A b 1 - m A b 1 6 のいずれか1つと交差ブロックする、および / または m A b 1 - m A b 1 6 と同じエピトープに結合する抗体

抗体 m A b 1 - m A b 1 6 は、互いに、交差競合することが示された。したがって、さらなる抗体は、標準 I L 1 2 R 1 結合アッセイにおいて、本発明の他の抗体、例えば m A b 1 - m A b 1 6 と統計的に有意な方法において交差競合する（例えば、結合を競合的に阻害する）能力に基づいて同定することができる。試験抗体は、最初に、例えば、以下に記載されるファージディスプレイ技術を使用して、例えばヒト組換え抗体ライブラリーから、I L 1 2 R 1 に対する結合親和性についてスクリーニングされ得る。ヒト I L 1 2 R 1 への本発明の抗体の結合と交差競合するか、または該結合を阻害する試験抗体の能力は、該試験抗体が、ヒト I L 1 2 R 1 への結合に対して、理論に縛られないが、競合する抗体として、ヒト I L 1 2 R 1 上の同じ、または関連の（例えば、構造的に同様または空間的に近似）エピトープに結合し得る抗体と競合することができるということを証明する。B i a c o r e または E l i s a ベースの交差ブロッキングアッセイの例は、実施例により詳細に記載されている。30

【 0 1 1 5 】

したがって、1つの態様において、本発明は、I L 1 2 R 1 への結合から、m A b 1 - m A b 1 6 の少なくとも1つの抗体と交差ブロックするか、または該抗体により交差ブロックされる単離された抗体またはタンパク質であって、40

(i) 1 n M 以下の K D で配列番号：8 9 の I L 1 2 R 1 ポリペプチドに結合し、(ii) インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：8 9 の I L 1 2 R 1 ポリペプチドへの I L 1 2 および / または I L 2 3 結合を阻害する抗体またはタンパク質を提供する。

【 0 1 1 6 】

1つの特定の態様において、本発明のこのような交差ブロッキング抗 - I L 1 2 R 1 抗体またはタンパク質は、配列番号：9 8 のカニクイザル I L 1 2 R 1 ポリペプチドとさらに交差反応する。50

【0117】

別の態様において、本発明は、本明細書に記載されている種々の特定の抗-Ig12R 1抗体mAb1-mAb16と同じエピトープに結合する、抗体またはその抗原結合部分を含むタンパク質を提供する。

【0118】

特定の態様において、交差ブロッキング抗体またはタンパク質、または、mAb1-mAb16のいずれか1つとヒトIg12R 1上の同じエピトープに結合する抗体またはタンパク質は、ヒト組換え抗体である。このようなヒト組換え抗体は、実施例に記載されているように調製および単離することができる。

【0119】

10

操作および修飾された抗体

本発明の抗原結合部分を含む他の抗体またはタンパク質は、上記mAb1-mAb16のV_Hおよび/またはV_L配列の1つ以上を有する抗体を、修飾された抗体を操作するための出発物質として使用して調製することができ、修飾された抗体は、出発抗体とは異なる特性を有し得る。一方または両方の可変領域（すなわち、V_Hおよび/またはV_L）、例えば、1つ以上のCDR領域および/または1つ以上のフレームワーク領域における1つ以上の残基を修飾することにより、抗体を操作することができる。さらに、あるいは、定常領域、例えば、抗体のエフェクター機能を変化させるために、定常領域内の残基を修飾することにより、抗体を操作することができる。

【0120】

20

実施することができる可変領域操作の一種が、CDR移植(CDR移植ing)である。抗体は、6つの重鎖および軽鎖相補性決定領域(CDR)に位置するアミノ酸残基によって主として標的抗原と相互作用する。この理由のため、CDR内のアミノ酸配列は、CDR外の配列よりも個々の抗体間でより多様である。CDR配列はほとんどの抗体-抗原相互作用に関与するため、異なる特性を有する異なる抗体由来のフレームワーク配列上に移植した特定の天然抗体由来のCDR配列を含む発現ベクターを構築することにより、特定の天然の特性を模倣する組換え抗体を発現することが可能である（例えば、Riechmann, Lら 1998 Nature 332:323-327; Jones, Pら 1986 Nature 321:522-525; Queen, Cら 1989 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:10029-10033; Winterによる米国特許第5,225,539号ならびにQueenらによる米国特許第5,530,101; 5,585,089; 5,693,762および6,180,370号参照）。

30

【0121】

したがって、本発明の別の態様は、表4または5において定義されているmAb1-mAb16のいずれか1つの6つのCDR領域を含み、元の抗体と異なるフレームワーク配列を含む単離された組換えCDR移植抗-Ig12R 1抗体に関する。

【0122】

40

このようなフレームワーク配列は、生殖細胞系列抗体遺伝子配列を含む公開DNAデータベースまたは公開文献から得ることができる。例えば、ヒト重鎖および軽鎖可変領域遺伝子のための生殖細胞系列DNA配列は、「VBbase」ヒト生殖細胞系列配列データベース(www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbaseでインターネットで利用できる)、ならびにKabat, E. Aら 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Tomlinson, I. Mら 1992 J. Mol. Biol. 227:776-798; およびCox, J. P. Lら 1994 Eur. J Immunol. 24:827-836において、見いだすことができる。

【0123】

50

フレームワーク配列の例は、mAb1-mAb16のいずれか1つにおいて使用されるフレームワーク配列と構造的に類似のものである。V_H CDR1、2および3配列ならびにV_L CDR1、2および3配列は、フレームワーク配列が由来する生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子において見られるものと同一の配列を有するフレームワーク領域上に移植することができ、あるいは、該CDR配列は、生殖細胞系列配列と比較して1つ以上

の変異を含むフレームワーク領域上に移植することができる。例えば、場合によっては、抗体の抗原結合能力を維持または向上するために、フレームワーク領域内の残基を変異させることが有益であるということが見出されている（例えば、Queenによる米国特許第5,530,101; 5,585,089; 5,693,762および6,180,370号参照）。

【0124】

別の種類の可変領域修飾は、 V_H および / または V_L CDR1、CDR2 および / または CDR3 領域内のアミノ酸残基を変異させ、それにより、興味ある抗体の 1 つ以上の結合特性（例えば、アフィニティー）を改善することであり、「親和性成熟」として知られる。「部位特異的変異誘発または PCR 媒介変異誘発を実施して変異を導入でき、抗体結合または他の興味ある機能特性に対する効果は、本明細書に記載され、実施例に提供されるインビトロまたはインビオアッセイにおいて評価することができる。したがって、1 つの態様において、本発明は、mAb1 - mAb16 抗体の 1 つに由来のアフィニティー媒介抗体に関する。（上記に議論されるような）保存的修飾を導入することができる。変異は、アミノ酸置換、付加または欠失であり得る。さらに、一般的に、CDR 領域内のわずか 1、2、3、4 または 5 つの残基が変化される。例えば、本発明の抗体は、CDR 領域内のわずか 1、2、3、4 または 5 つの残基が変化されている、mAb1 - mAb16 の 1 つの 6 つの CDR を含むアフィニティー変異抗体である。

10

【0125】

したがって、別の態様において、本発明は、抗体の重鎖および / または軽鎖アミノ酸配列が、元の配列と比較して、1、2、3、4 または 5 つのアミノ酸置換、欠失または付加を含むことを除いて、mAb1 から mAb16 抗体の少なくとも 1 つの対応する重鎖および軽鎖可変領域と同一である重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む単離され操作された抗 - IL12R1 抗体を提供する。

20

【0126】

別のフレームワークまたはスカフォールドへの抗原 - 結合ドメインの移植

得られるポリペプチドが IL12R1 に特異的に結合する mAb1 から mAb16 の少なくとも 1 つの結合領域を含む限り、多種多様の抗体 / 免疫グロブリンフレームワークまたはスカフォールドが使用できる。このようなフレームワークまたはスカフォールドは、ヒト免疫グロブリンの 5 つの主なイディオタイプまたはそれらのフラグメント（例えば、本明細書の他に記載されているもの）を含み、また、好ましくはヒト化局面を有する、他の動物種の免疫グロブリンを含む。単一の重鎖抗体、例えば、ラクダにおいて同定されるものは、この点において特定の興味のあるものである。新規フレームワーク、スカフォールドおよびフラグメントが、当業者により発見および開発され続けている。

30

【0127】

1 つの局面において、本発明は、本発明の CDR を移植することができる非免疫グロブリンスカフォールドを使用して、非免疫グロブリンベースの抗体を產生することに関する。既知の、または将来の非免疫グロブリンフレームワークおよびスカフォールドは、配列番号 : 89 の標的タンパク質に特異的な結合領域を含む限り、使用され得る。このような化合物は、本明細書において、「標的特異的な結合領域を含むポリペプチド」と称される。非免疫グロブリンフレームワークの例は、以下の節にさらに記載されている（ラクダ抗体および非抗体スカフォールド）。

40

【0128】

ラクダ抗体

ラマ種 (*Lama pacos*、*Lama glama* および *Lama vicugna*) などの新世界メンバーを含む、ラクダおよびヒトコブラクダ (*Camelus bactrianus* および *Camelus dromaderius*) ファミリーのメンバーから得た抗体タンパク質は、サイズ、構造の複雑性およびヒト対象に対する抗原性について、特徴付けられている。天然に見出される哺乳動物のこのファミリー由来の特定の IgG 抗体は、軽鎖を欠き、したがって、他の動物由来の抗体における 2 つの重鎖および

50

2つの軽鎖を有する典型的な4鎖の四次構造とは構造的に異なる。PCT公開WO94/04678参照。

【0129】

V_{HH} と同定される小さな1個の可変ドメインであるラクダ抗体の領域は、遺伝子操作により標的に対して高親和性を有する小タンパク質を得て、「ラクダナノボディ」として知られる低分子量抗体由来タンパク質を得ることができる。1998年6月2日公開の米国特許第5,759,808号参照; Stijlemans, Bら 2004 J Biol Chem 279: 1256-1261; Dumoulin, Mら 2003 Nature 424: 783-788; Pleschberger, Mら 2003 Bioconjugate Chem 14: 440-448; Cortez-Retamozo, Vら 2002 Int J Cancer 89: 456-62; およびLauwers, Mら 1998 EMBO J 17: 3512-3520も参照。ラクダ抗体および抗体フラグメントの操作されたライブラリーは、例えば、Ablynx、Ghent、Belgiumから市販されている。非ヒト起源の他の抗体として、ラクダ抗体のアミノ酸配列を組換えるに変化させて、ヒト配列により似た配列を得ることができ、すなわち、ナノボディを「ヒト化」することができる。したがって、ヒトに対するラクダ抗体の天然の低い抗原性をさらに低下させることができる。10

【0130】

ラクダナノボディは、ヒトIgG分子の約10分の1の分子量を有し、該タンパク質は、わずか数ナノメートルの物理的直径を有する。小さいサイズの一つの帰結は、より大きな抗体タンパク質には機能的に不可視の抗原部位に結合するというラクダ抗体の能力であり、すなわち、ラクダナノボディは、従来の免疫学的技術を使用して隠される抗原を検出する試薬として、可能性のある治療剤として有用である。したがって、小さいサイズのさらに別の帰結は、ラクダナノボディが標的タンパク質の溝または小さな割れ目の特定の部位に結合することの結果として、阻害でき、したがって、伝統的な抗体のものよりも伝統的な低分子量薬物の機能により似た能力を提供できることである。20

【0131】

低分子量および緻密化サイズは、さらに、極めて熱安定であり、極端なpHおよびタンパク分解に安定であり、低い抗原性をラクダナノボディにもたらす。別の帰結は、ラクダナノボディが循環系から組織に容易に移動すること、および血液脳関門を通過して神経組織に作用する障害を処置することができる。ナノボディはさらに、薬物の血液脳関門通過を促進することができる。2004年8月19日公開の米国特許番号第20040161738号参照。ヒトへの低抗原性と組み合わさったこれらの特徴は、大きな治療的可能性を示す。さらに、これらの分子は、原核細胞、例えば大腸菌において完全に発現され、バクテリオファージにおいて融合タンパク質として発現され、機能的である。30

【0132】

操作されたナノボディは、45分から2週間のレシピエント対象における半減期を有するように、さらに遺伝子操作によりカスタマイズすることができる。特定の態様において、ラクダ抗体またはナノボディは、例えばPCT公開WO94/04678に記載されているとおり、本発明のヒト抗体のmAb1からmAb16の1つの重鎖または軽鎖のCDR配列を、ナノボディまたは単一ドメイン抗体フレームワーク配列内に移植することにより、得られる。40

【0133】

非抗体スカフォールド

既知の非免疫グローブリンフレームワークまたはスカフォールドは、限定はしないが、アドネクチン(フィブロネクチン)(Compound Therapeutics, Inc., Waltham, MA)、アンキリン(Molecular Partners AG, Zurich, Switzerland)、ドメイン抗体(Domantis, Ltd(Cambridge, MA)およびAblynx nv(Zwijnaarde, Belgium))、リポカリン(Anticalin)(Pieris Proteolab AG, Freising, Germany)、小モジュラー免疫医薬(Trubion Pharmaceuticals Inc., Seattle, WA)、マキシボディ(maxybodies)(Avidia, Inc. (Mountain View, CA))、プロテインA(Affibody AG, Sweden)およびアフィリン(ガンマクリスタリン(crystalline)またはユビキチン)(Scil Proteins GmbH, Halle, Germany)、タ

10

20

30

40

50

ンパク質エピトープ模擬物 (Polyphor Ltd, Allschwil, Switzerland) を含む。

【0134】

(i) フィブロネクチンスカフォールド

フィブロネクチンスカフォールドは、好ましくは、フィブロネクチンIII型ドメイン（例えば、フィブロネクチンIII型の第10モジュール（10Fn3ドメイン））に基づく。フィブロネクチンIII型ドメインは、互いにパックしてタンパク質のコアを形成する、2つのベータシート間に分布する7または8個のベータストランドを有し、さらに、ベータストランドと互いに結合し、溶媒に曝されるループ（CDRに類似する）を含む。ベータシートサンドイッチの各端にかかるループが少なくとも3個存在し、該端はベータストランドの方向に垂直なタンパク質の境界である（米国特許第6,818,418）。

10

【0135】

これらのフィブロネクチンベースのスカフォールドは免疫グロブリンではないが、全体的な折りたたみは、最も小さい機能性抗体フラグメントであり、ラクダおよびラマIgGの全抗原認識ユニットを含む重鎖可変領域のものと極めて関連している。この構造のため、非免疫グロブリン抗体は、抗体の性質およびアフィニティーにおいて類似する抗原結合特性を模倣する。これらのスカフォールドは、インビボでの抗体の親和性成熟のプロセスと類似であるインビトロでのループランダム化およびシャッフル戦略において使用することができます。これらのフィブロネクチンベースの分子は、該分子のループ領域を、標準クローニング技術を使用してmAb1からmAb16の1つのCDRで置換するとき、スカフォールドとして使用することができる。

20

【0136】

(ii) アンキリン - 分子パートナー

該技術は、異なる標的に結合するために使用することができる可変領域を保持するためのスキヤフォールドとして、アンキリン由来反復モジュールを備えるタンパク質を使用することに基づく。アンキリン反復モジュールは、2つの逆平行ヘリックスおよびターンからなる33アミノ酸ポリペプチドである。可変領域の結合は、通常、リボソームディスプレイを使用することにより最適化される。

30

【0137】

(iii) マキシボディ / アビマー(Avimer) - アビディア(Avidia)

アビマーは、天然Aドメイン含有タンパク質、例えば、LRP-1に由来する。これらのドメインは、本来、タンパク質 - タンパク質相互作用のために使用され、ヒトにおいて250個以上のタンパク質がAドメインに構造的に基づく。アビマーは、アミノ酸リンカーを介して連結した多くの異なる「A - ドメイン」モノマー(2-10)からなる。標的抗原に結合することができるアビマーは、例えば、米国特許公報第20040175756; 20050053973; 20050048512; および20060008844号に記載された方法論を使用して作製することができる。

30

【0138】

(iv) プロテインA - アフィボディ(Affibody)

アフィボディ（登録商標）アフィニティーリガンドは、プロテインAのIgG結合ドメインの1個のスカフォールドに基づいた3ヘリックスバンドルからなる小さい単純なタンパク質である。プロテインAは、細菌黄色ブドウ球菌由来の表面タンパク質である。このスカフォールドドメインは、58個のアミノ酸からなり、この13個はランダム化されて、多くのリガンド変異体を有するアフィボディ（登録商標）ライプラリーを作製する（例えば、米国特許第5,831,012号参照）。アフィボディ（登録商標）分子は抗体を模倣し、150kDaである抗体の分子量と比較して、それらは6kDaの分子量を有する。その小さいサイズにもかかわらず、アフィボディ（登録商標）分子の結合部位は抗体のものと同様である。

40

【0139】

(v) アンチカリン(Anticalins) - Pieris

50

アンチカリン（登録商標）は、Pieris ProteoLab AG社により開発された製品である。それらは、化学的に感受性または不溶性の化合物の生理学的輸送または保存に通常関与する広範なグループの小さい強力なタンパク質であるリポカリンに由来する。いくつかの天然リポカリンは、ヒト組織または体液中に生じる。

【0140】

タンパク質構造は、免疫グロブリンに類似しており、強固なフレームワークの上端に超可変ループを有する。しかしながら、抗体またはその組換えフラグメントと対照的に、リポカリンは、単一の免疫グロブリンドメインよりもわずかに大きい160から180個のアミノ酸残基を有する単一のポリペプチド鎖からなる。

【0141】

結合ポケットを構成する4個のループのセットは顕著な構造可塑性を示し、種々の側鎖に耐容性である。したがって、結合部位は、高親和性および特異性で異なる形の所定の標的分子を認識するため、特許の方法で再形成することができる。

【0142】

リポカリンファミリーの1つのタンパク質であるPieris Brassicaceaeのビリン結合タンパク質（BBP）は、4個のループのセットを変異することによりアンチカリンを開発するために使用されている。「アンチカリン」を記載する特許出願の一例は、PCT公開WO199916873である。

【0143】

(v) i) アフィリン(Affilin) - Scilタンパク質

アフィリンTM分子は、タンパク質および小分子に対する特異的アフィニティーについて設計されている小さい非免疫グロブリントンパク質である。新規アフィリンTM分子は、それぞれ異なるヒト由来スカフォールドタンパク質に基づく2つのライブラリーから非常に迅速に選択することができる。

【0144】

アフィリンTM分子は、免疫グロブリントンパク質に対して何ら構造的相同意を示さない。Scilタンパク質は2つのアフィリンTMスカフォールドを使用し、この1つは、ヒトの構造的眼レンズタンパク質であるガンマクリスタリンであり、他方は「ユビキチン」スーパーファミリータンパク質である。ヒトスカフォールドの両方は、非常に小さく、高い温度安定性を示し、pH変化および変性剤にほぼ耐性である。この高い安定性は、主に、該タンパク質の伸長ベータシート構造のためである。ガンマクリスタリン由来タンパク質の例はWO200104144に記載されており、「ユビキチン様」タンパク質の例はWO2004106368に記載されている。

【0145】

(v) ii) タンパク質エピトープ模擬物（PEM）

PEMは、タンパク質-タンパク質相互作用に関する主な二次構造である、タンパク質のベータ-ヘアピン二次構造を模倣する、中間サイズの環状ペプチド様分子（MW 1-2kDa）である。

【0146】

フレームワークまたはFc操作

操作された本発明の抗体は、例えば抗体の特性を改善するために、V_Hおよび/またはV_L内のフレームワーク残基に修飾が施されているものを含む。一般的には、このようなフレームワーク修飾は、抗体の免疫原性を低下させるために行われる。例えば、1つのアプローチは、1つ以上のフレームワーク残基を対応する生殖細胞系列配列に「復帰変異する(backmutate)」ことである。さらに具体的には、体細胞変異を起こした抗体が、その抗体から由来する生殖細胞系列配列とは異なるフレームワーク残基を含み得る。このような残基は、抗体フレームワーク配列と抗体に由来する生殖細胞系列配列を比較することにより同定することができる。フレームワーク領域配列をその生殖細胞系列立体配置に戻すため、体細胞変異は、例えば、部位特異的変異誘発またはPCR-媒介変異誘発による生殖細胞系列配列への「復帰変異」であり得る。このような「復帰変異された」抗体も、本発

10

20

30

40

50

明に含まれる。

【0147】

他の型のフレームワーク修飾は、T細胞-エピトープを除去するための、フレームワーク領域内または1つ以上のCDR領域内の1つ以上の残基での変異を含み、それにより抗体の潜在的な免疫原性を低下させる。このアプローチは、「脱免疫化」としても称され、Carrらの米国特許公開第20030153043号により詳細に記載されている。

【0148】

フレームワークまたはCDR領域内で行われる修飾に加えてまたはそれとは別に、本発明の抗体は、一般的に、抗体の1つ以上の機能特性、例えば、血清半減期、補体結合、Fc受容体結合および/または抗原依存的細胞毒性を変化させるための、Fc領域内の修飾を含むように操作し得る。さらに、本発明の抗体は、化学的に修飾させるか（例えば、1つ以上の化学的部分を抗体に付着させることができる）、またはそのグリコシル化を変化させ、再び、抗体の1つ以上の機能特性を変化させるために、修飾し得る。これらの態様の各々は、以下にさらに詳細に記載されている。

10

【0149】

本明細書において使用される「Fc領域」なる用語は、天然配列Fc領域および変異Fc領域を含む、免疫グロブリン重鎖のC-末端領域を定義するために使用される。ヒトIgG重鎖Fc領域は、一般的に、IgG抗体の位置C226から、またはP230からカルボキシル-末端までのアミノ酸残基を含む領域として定義される。Fc領域における残基の番号付けは、KabatのEU指標のものである。Fc領域のC-末端リジン（残基K447）は、例えば、抗体の生産または精製中に、除去され得る。したがって、本発明の抗体の組成物は、全てのK447残基が除去された抗体集団、K447残基が除去されていない抗体集団、ならびにK447残基を有する抗体および該残基を有さない抗体の混合物を有する抗体集団を含み得る。

20

【0150】

1つの態様において、CH1のヒンジ領域は、ヒンジ領域内のシステイン残基数が変化、例えば、増加または減少するように修飾される。このアプローチは、Bodmerらの米国特許第5,677,425号にさらに記載されている。CH1のヒンジ領域内のシステイン残基数を変化させて、例えば、軽鎖および重鎖の集合を促進し、あるいは抗体の安定性を上昇または低下させる。

30

【0151】

別の態様において、抗体のFcヒンジ領域を変異して、該抗体の生物学的半減期を減少させる。さらに具体的には、1つ以上のアミノ酸変異は、Fc-ヒンジフラグメントのCH2-CH3ドメイン接合面領域に導入され、該抗体が天然Fc-ヒンジドメインSpA結合と比較して改善されたブドウ球菌タンパク質A(SpA)結合を有する。このアプローチは、Wardらの米国特許第6,165,745号にさらに詳細に記載されている。

【0152】

別の態様において、抗体を修飾して、その生物学的半減期を上昇させる。種々のアプローチが可能である。例えば、Wardの米国特許第6,277,375号に記載されるとおり、下記変異の1つ以上を導入することができる、T252L、T254S、T256F。あるいは、生物学的半減期を上昇させるために、Prestaらの米国特許第5,869,046および6,121,022号に記載されるとおり、抗体をCH1またはCL領域内で変化させて、IgGのFc領域のCH2ドメインの2個のループから得たサルベージ受容体結合エピトープを含めることができる。

40

【0153】

さらに他の態様において、少なくとも1つのアミノ酸残基を異なるアミノ酸残基で置換してFc領域を変化させて、抗体のエフェクター機能を変化させる。例えば、1つ以上のアミノ酸を異なるアミノ酸残基で置換して、抗体がエフェクターリガンドに対する変化した親和性を有するが親抗体の抗原結合能を保持するようにできる。アフィニティーが変化されたエフェクターリガンドは、例えばFc受容体または補体のC1成分であり得る。こ

50

のアプローチは、Winterらの米国特許第5,624,821および5,648,260号にさらに詳細に記載されている。

【0154】

別の態様において、アミノ酸残基から選択される1つ以上のアミノ酸は、抗体が変化したC1q結合および/または低下もしくは消滅した補体依存性細胞毒性(CDC)を有するように、異なるアミノ酸残基で置換され得る。このアプローチは、Idusogieらの米国特許第6,194,551号にさらに詳細に記載されている。

【0155】

別の態様において、1つ以上のアミノ酸残基が変化させて、それにより抗体の補体を固定化する能力を変化させる。このアプローチは、BodmerらのPCT公開WO94/29351にさらに詳細に記載されている。

10

【0156】

さらに別の態様において、Fc領域は、1つ以上のアミノ酸を修飾することにより、抗体の抗体依存的細胞傷害性(ADCC)を媒介する能力を向上しおよび/またはFc受容体に対する抗体のアフィニティーを向上させるように、修飾される。このアプローチは、PrestaのPCT公開WO00/42072にさらに詳細に記載されている。さらに、FcR1、FcRII、FcRIIIおよびFcRnに対するヒトIgG1上の結合部位がマッピングされており、改善された結合を有する変異体が記載されている(Shields, R.Lら 2001 J. Biol. Chem 276:6591-6604参照)。

20

【0157】

1つの態様において、IgG1アイソタイプのFcドメインを使用する。いくつかの特定の態様において、IgG1 Fcフラグメントの変異体、例えば、抗体依存的細胞毒性(ADCC)を媒介する、および/またはFc受容体に結合する融合ポリペプチドの能力を減少させている、または除去されているサイレントIgG1 Fcを使用する。IgG1アイソタイプサイレント変異体の例は、HezarehらによるJ. Virol 2001 Dec;75(24):12161-8に記載されているアミノ酸位置234および235で、ロイシンがアラニンに置換されているIgG1である。IgG1アイソタイプサイレント変異体の別の例は、D265A変異(位置265でアスパラギン酸がアラニンにより置換されている)を有するIgG1である。

30

【0158】

1つの態様において、Fcドメインは、Fcドメインの位置297でグリコシル化を防止するサイレントFc変異体である。例えば、Fcドメインは、位置297でアスパラギンのアミノ酸置換を含む。このようなアミノ酸置換の例は、N297のグリシンまたはアラニンによる置換である。

【0159】

さらに別の態様において、抗体のグリコシル化を修飾させる。例えば、非グリコシル化抗体を作成することができる(すなわち、該抗体はグリコシル化を欠く)。グリコシル化は、例えば、抗原に対する抗体のアフィニティーを上昇させるために、変化させることができる。このような炭水化物修飾は、例えば、抗体配列内の1つ以上のグリコシル化部位を変化することにより成し遂げることができる。例えば、1つ以上の可変領域フレームワークグリコシル化部位の除去をもたらし、それにより該部位でのグリコシル化を除去する1つ以上のアミノ酸置換を作成することができる。このような非グリコシル化は、抗原に対する抗体のアフィニティーを上昇させ得る。このようなアプローチは、Colらの米国特許第5,714,350および6,350,861号にさらに詳細に記載されている。

40

【0160】

さらにまたはあるいは、グリコシル化の型が変化された抗体、例えば、フコシル残基の量が減少している低フコシル化抗体または増加した二分G1cNac構造を有する抗体を作製することができる。このような変化されたグリコシル化パターンは、抗体のADCC能を増加させることができが証明されている。このような炭水化物修飾は、例えば、変化されたグリコシル化機構を有する宿主細胞において抗体を発現することにより、達成することが

50

できる。変化されたグリコシル化機構を有する細胞は、当分野において記載されており、本発明の組換え抗体を発現し、それにより変化されたグリコシル化を有する抗体を產生する宿主細胞として使用することができる。例えば、HangらのEP1176195は、このような細胞系において発現される抗体が低フコシル化を示すように、フコシルトランスフェラーゼをコードする機能的に破壊されているFUT8遺伝子を有する細胞系を記載している。したがって、1つの態様において、本発明の抗体は、低フコシル化パターンを示す細胞系、例えば、フコシルトランスフェラーゼをコードするFUT8遺伝子の欠損した発現を有する哺乳動物細胞系における組換え発現により產生される。PreestaのPCT公開WO03/035835は、Asn(297)結合糖にフコースを結合させる能力が低下し、また宿主細胞において発現される抗体の低フコシル化をもたらすCHO細胞系変異体であるLec13細胞を記載している(Shields, R.L.ら2002 J. Biol. Chem. 277:26733-26740も参照)。UmanaらのPCT公開WO99/54342は、操作された細胞系において発現される抗体が抗体のADC活性の増加をもたらす二分(bisecting)GalNAc構造の増加を示すように、糖タンパク質修飾グリコシルトランスフェラーゼ(例えば、ベータ(1,4)-NアセチルグルコサミニルトランスフェラーゼIII(GNTIII))を発現するように操作された細胞系を記載している(Umanaら1999 Nat. Biotech. 17:176-180も参照)。あるいは、本発明の抗体は、哺乳動物様グリコシル化パターンに対して操作された酵母または糸状菌において产生することができ、グリコシル化パターンとしてフコースを欠く抗体を产生することができる(例えばEP1297172参照)。

10

20

30

40

50

【0161】

本発明により考えられる本明細書における抗体の別の修飾は、ペグ化である。抗体は、例えば、抗体の生物学的(例えば、血清)半減期を増加させるためにペグ化することができる。抗体をペグ化するために、一般的に、抗体またはそのフラグメントを、1つ以上のPEG基が抗体または抗体フラグメントに結合する条件下で、ポリエチレングリコール(PEG)、例えば、反応性エステルまたはPEGのアルデヒド誘導体と反応させる。ペグ化は、反応性ペグ分子(またはアナログ反応性水溶性ポリマー)とアシル化反応またはアルキル化反応することにより行うことができる。本明細書において使用される「ポリエチレングリコール」なる用語は、他のタンパク質を誘導体化するために使用されている任意の形態のPEG、例えば、モノ(C1-C10)アルコキシ-またはアリールオキシ-ポリエチレングリコールまたはポリエチレングリコール-マレイミドを包含することが意図される。1つの態様において、ペグ化される抗体は非グリコシル化抗体である。タンパク質をペグ化するための方法は、当分野で知られており、本発明の抗体に適用することができる。例えば、NishimuraらのEP0154316およびIshikawaらのEP0401384参照。

【0162】

本発明により考えられる抗体の別の修飾は、得られる分子の半減期を増加させるために、本発明の抗体の少なくとも抗原結合領域と血清タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミンまたはそのフラグメントとの抱合体またはタンパク質融合物である。このようなアプローチは、例えば、BalanceらのEP0322094に記載されている。

【0163】

別の可能性は、得られる分子の半減期を増加させるために、本発明の抗体の少なくとも抗原結合領域とヒト血清アルブミンのような血清タンパク質に結合することができるタンパク質との融合物である。このようなアプローチは、例えば、NygrenらのEP0486525に記載されている。

【0164】

変化された抗体を操作する方法

上記のとおり、本明細書において示されるV_HおよびV_L配列または全長重鎖および軽鎖配列を有する抗-IL12R₁抗体を使用して、全長重鎖および/または軽鎖配列、V_Hおよび/またはV_L配列、またはそれに結合した定常領域を修飾することにより新規

抗 - I L 1 2 R 1 抗体を作製することができる。したがって、本発明の別の局面において、本発明の抗 - I L 1 2 R 1 抗体の構造的特徴を使用して、ヒト I L 1 2 R 1 との結合および I L 1 2 R 1 の 1 個以上の機能特性の阻害など（例えば、I L 1 2 R 1 への I L 1 2 および / または I L 2 3 の結合の阻害、血球における I L 1 2 誘導 I F N 生産の阻害など）の、本発明の抗体の少なくとも 1 個の機能特性を保持する、構造的に関連した抗 - I L 1 2 R 1 抗体を作製する。

【 0 1 6 5 】

例えは、m A b 1 から m A b 1 6 のいずれか 1 つまたはその変異体の 1 個以上の C D R 領域を、既知のフレームワーク領域および / または他の C D R と組換え的に結合して、上記のとおり、さらなる本発明の組換え的に操作された抗 - I L 1 2 R 1 抗体を作製することができる。他の型の修飾は、前節に記載されているものを含む。操作方法のための出発物質は、上記表において提供される m A b 1 - m A b 1 6 の V_H および / または V_L 配列の 1 個以上またはその C D R 配列の 1 個以上である。操作された抗体を作製するためには、m A b 1 または m A b 1 6 の V_H および / または V_L 配列の 1 個以上またはその C D R 配列の 1 個以上を有する抗体を実際に作製する（すなわち、タンパク質として発現する）必要はない。むしろ、配列に含まれる情報を出発物質として使用して、元の配列に由来する「第二世代」配列を作製し、当該「第二世代」配列が調製され、タンパク質として発現される。

【 0 1 6 6 】

第二世代配列は、例えは、A b 1 から m A b 1 6 のいずれか 1 つの重鎖可変領域抗体配列および / または軽鎖可変領域抗体配列内の少なくとも 1 つのアミノ酸残基の D N A コード配列を変化させて、少なくとも 1 つの変化した抗体配列を作製し；変化した抗体配列をタンパク質として発現させることによる。

【 0 1 6 7 】

したがって、別の態様において、本発明は、哺乳動物細胞における発現のために最適化された、m A b 1 から m A b 1 6 のいずれか 1 つの全長重鎖抗体配列および / または全長軽鎖抗体配列からなる抗 - I L 1 2 R 1 抗体を作製するための方法であって、全長重鎖抗体配列および / または全長軽鎖抗体配列内のアミノ酸残基をコードするヌクレオチドコード配列における少なくとも 1 つのコドンを変化させ、少なくとも 1 つの変化した抗体配列を作製し；変化した抗体配列をタンパク質として発現させる、方法を提供する。

【 0 1 6 8 】

変化した抗体配列はまた、m A b 1 - m A b 1 6 のいずれか 1 つの C D R 3 配列のユニークな(unique)重鎖および軽鎖、または U S 特許公報 2 0 0 5 0 2 5 5 5 2 号に記載されている最小必須結合決定部分、および C D R 1 および C D R 2 配列に対する代替配列を有する抗体ライブラリーをスクリーニングすることにより調製することができる。スクリーニングは、抗体ライブラリーから抗体をスクリーニングするために適当な任意のスクリーニング技術、例えは、ファージディスプレイ技術にしたがって実施することができる。

【 0 1 6 9 】

標準分子生物学技術を使用して、変化した抗体配列を調製し、発現させることができる。変化した抗体配列によってコードされる抗体は、本明細書に記載されている抗 - I L 1 2 R 1 抗体の 1 個、数個の、または全ての所望の機能特性を保持するものであり、該機能特性は、ヒト I L 1 2 R 1 との特異的結合；および / または I L 1 2 R 1 ポリペプチドへの I L 1 2 および I L 2 3 結合を阻害；および / またはヒト血球における I L 1 2 誘導 I F N 生産を阻害；ヒト血球における I L 2 3 誘導 I F N 生産を阻害；および / または靈長類血球における I L 1 2 エキソビオ I F N - 生産を阻害を含むがこれらに限定されない。

【 0 1 7 0 】

変化した抗体は、1 つ以上、2 つ以上、または 3 つ以上の上記機能特性を示し得る。

【 0 1 7 1 】

本発明の抗体を操作する方法の 1 つの態様において、抗 - I L 1 2 R 1 抗体コード配

10

20

30

40

50

列の全部または一部にわたってランダムにまたは選択的に変異を導入することができ、そして得られた修飾抗-Ig12R1抗体は、結合活性および/または本明細書に記載されている他の機能特性についてスクリーニングすることができる。変異方法は当分野において記載されている。例えば、ShortのPCT公開WO02/092780は、飽和変異誘発、合成ライゲーションアセンブリまたはそれらの組合せを使用する抗体変異体の作製成およびスクリーニングのための方法を記載している。あるいは、LazarらのPCT公開WO03/074679は、抗体の物理化学的特性を最適化するための計算スクリーニング方法を使用する方法を記載している。

【0172】

本発明の抗体をコードする核酸分子

10

本発明の別の局面は、本発明の抗体またはタンパク質をコードする核酸分子に関する。可変鎖ヌクレオチド配列の例は、mAb1からmAb16のいずれか1つの可変鎖アミノ酸配列をコードするものであり、後者の配列は、表3(mAb1からmAb16の重鎖および軽鎖の全ヌクレオチドコード配列を示す)および表2(mAb1からmAb16の可変領域のアミノ酸配列を示す)に由来する。

【0173】

本発明はまた、哺乳動物細胞、例えば、CHO細胞系におけるタンパク質発現のために最適化されている後者の配列に由来する核酸分子に関する。

【0174】

核酸は、全細胞中、細胞溶解物中に存在してもよく、または、部分的に精製された、もしくは実質的に精製された形態の核酸であってもよい。核酸は、他の細胞成分または他の汚染物質から、例えば、他の細胞核酸またはタンパク質から精製されるとき、標準技術、例えば、アルカリ/SDS処理、CsClバンディング、カラムクロマトグラフィー、アガロースゲル電気泳動および当分野でよく知られている他の技術により「単離」されるか、または「実質的に純粋」にされる。F. Ausubelらed. 1987 *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York参照。本発明の核酸は、例えば、DNAまたはRNAであってよく、イントロン配列を含んでも、含まなくてよい。1つの態様において、核酸は、cDNA分子である。核酸は、ベクター、例えば、ファージディスプレイベクターまたは組換えプラスミドベクター中に存在していてよい。

20

【0175】

本発明の核酸は、標準分子生物学技術を使用して得ることができる。例えば、V_HおよびV_LセグメントをコードするDNAフラグメントが得られたとき、これらのDNAフラグメントは、例えば、可変領域遺伝子を完全長の抗体鎖遺伝子に、Fabフラグメント鎖遺伝子に、またはscFv遺伝子に変換するように、標準組換えDNA技術によりさらに操作され得る。これらの操作において、V_L-またはV_H-をコードするDNAフラグメントは、別のDNA分子に、または別のタンパク質をコードするフラグメントに、例えば、抗体定常領域に、またはフレキシブルな(flexible)リンカーに作動可能に連結される。この文脈において使用される「作動可能に連結」なる用語は、2つのDNAフラグメントが、例えば、2つのDNAフラグメントによってコードされるアミノ酸配列がインフレームのままであるように、または、タンパク質が所望のプロモーターの制御下に発現されるように、機能的な様式においてに結合されることを意味することが意図される。

30

【0176】

V_H領域をコードする単離されたDNAは、V_HをコードするDNAと重鎖定常領域(CH1、CH2およびCH3)をコードする別のDNA分子を作動可能に連結することにより、完全長の重鎖遺伝子に変換することができる。ヒト重鎖定常領域遺伝子の配列は、当分野で知られており(例えば、Kabat, E. Aら 1991 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242参照)、これらの領域を含むDNAフラグメントは標準PCR增幅により得ることができる。重鎖定常領域は、IgG1、IgG2、IgG3、Ig

40

50

G 4、IgA、IgE、IgMまたはIgD定常領域であり得る。いくつかの様態において、重鎖定常領域はIgG1アイソタイプから選択される。Fabフラグメント重鎖遺伝子において、V_HをコードするDNAは、重鎖CH1定常領域のみをコードする別のDNA分子に作動可能に連結することができる。

【0177】

V_L領域をコードする単離されたDNAは、V_LをコードするDNAと軽鎖定常領域CLをコードする別のDNA分子を作動可能に連結することにより、完全長の軽鎖遺伝子（ならびにFab軽鎖遺伝子）に変換することができる。ヒト軽鎖定常領域遺伝子の配列は、当分野で知られており（例えば、Kabat, E. Aら 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242参照）、これらの領域を含むDNAフラグメントは標準PCR増幅により得ることができる。軽鎖定常領域は、カッパまたはラムダ定常領域であり得る。

10

【0178】

sCFv遺伝子を作製するために、V_HおよびV_LをコードするDNAフラグメントは、フレキシブルなリンカーにより結合したV_LおよびV_H領域にて、V_HおよびV_L配列が連続した一本鎖タンパク質として発現することができるよう、フレキシブルなリンカーをコードする、例えば、アミノ酸配列(Gly4-Ser)₃をコードする別のフラグメントに作動可能に連結される（例えば、Birdら 1988 Science 242:423-426; Hustonら 1988 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCaffertyら 1990 Nature 348:552-554参照）。

20

【0179】

本発明の組換え抗体の単離

抗体をスクリーニングする種々の方法は、文献に記載されている。このような方法は、インビトロ系、例えば、抗原免疫化時に完全ヒト抗体を生産することができるトランスジェニックマウス、ならびに、抗体DNAコードライブラリーを作製すること、抗体生産のために適切な系におけるDNAライブラリーを発現すること、アフィニティ選択基準で、標的に結合する抗体候補物を発現するクローニングを選択すること、および、選択されたクローニングの対応するコード配列を回収することからなるインビトロ系に分類され得る。これらのインビトロ技術は、ディスプレイ技術として知られ、ファージディスプレイ、RNAまたはDNAディスプレイ、リボソームディスプレイ、酵母または哺乳動物細胞ディスプレイを含むが、これらに限定されない。それらは、文献に記載されている（参考のために、例えば：Nelsonら 2010 Nature Reviews Drug discovery, “Development trends for human monoclonal antibody therapeutics” (Advance Online Publication) and Hoogenboomら in Method in Molecular Biology 178:1-37, O'Brienら ed., Human Press, Totowa, N.J., 2001参照）。1つの特定の様態において、本発明のヒト組換え抗体は、ヒト組換え抗体ライブラリー、例えば、HuCAL（登録商標）ライブラリーのスクリーニングライブラリーのためのファージディスプレイ方法を使用して単離される。

30

【0180】

V_HおよびV_L遺伝子または関連CDR領域のレバートリーは、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）により別々にクローニングされるか、またはDNAシンセサイザーにより合成され、ファージライブラリーにおいてランダム的に再結合され得、次に抗原結合クローニングに対してスクリーニングされ得る。ヒト抗体を単離するためのこのようなファージディスプレイ方法は、当分野で確立されているか、以下の実施例に記載されている。例えば：Ladnerらの米国特許第5,223,409; 5,403,484; および5,571,698号；Dowerらの米国特許第5,427,908および5,580,717号；McCaffertyらの米国特許第5,969,108および6,172,197号；ならびにGriffithsらの米国特許第5,885,793; 6,521,404; 6,544,731; 6,555,313; 6,582,915および6,593,081号参照。

40

50

【0181】

特定の態様において、IL12R₁に対するヒト抗体は、マウス系よりもむしろヒト免疫系の一部を有するトランスジェニックマウスまたは染色体を導入したマウスを使用して同定することができる。これらのトランスジェニックマウスおよび染色体を導入したマウスは、本明細書においてHuMAbマウスおよびKMマウスとそれぞれ称されるマウスを含み、本明細書において「ヒトIgマウス」と総称される。

【0182】

HuMAbマウス（登録商標）（Medarex, Inc.）は、内因性μおよびκ鎖遺伝子座を不活性化する標的変異と共に、非再配列ヒト重鎖（μおよびκ）およびκ軽鎖免疫グロブリン配列をコードするヒト免疫グロブリン遺伝子ミニ遺伝子座を含む（例えば、Lonbergら 1994 Nature 368(6474): 856-859参照）。したがって、マウスは、マウスIgMまたはκの提言した発現を示し、免疫化に応答して、導入されたヒト重鎖および軽鎖導入遺伝子は、クラススイッチングおよび体細胞変異を経て、高親和性ヒトIgGκモノクローナルを產生する（上記Lonberg, Nら 1994; Lonberg, N., 1994 Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101におけるレビュー；Lonberg, N. and Huszar, D., 1995 Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93、およびHarding, F. and Lonberg, N., 1995 Ann. N. Y. Acad. Sci. 764:536-546）。HuMAbマウスの調製および使用ならびにこのようなマウスにより行われるゲノム修飾は、Taylor, Lら 1992 Nucleic Acids Research 20:6287-6295；Chen, Jら 1993 International Immunology 5: 647-656；Tuailionら 1993 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:3720-3724；Choiら 1993 Nature Genetics 4:117-123；Chen, Jら 1993 EMBO J. 12: 821-830；Tuailionら 1994 J. Immunol. 152:2912-2920；Taylor, Lら, 1994 International Immunology 579-591；およびFishwild, Dら 1996 Nature Biotechnology 14: 845-851にさらに記載されている。さらに、全てLonbergおよびKayの米国特許第5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,789,650; 5,877,397; 5,661,016; 5,814,318; 5,874,299；および5,770,429号；Suraniらの米国特許第5,545,807号；全てLonbergおよびKayのPCT公開WO92103918、WO93/12227、WO94/25585、WO97113852、WO98/24884およびWO99/45962；ならびにKormanらのPCT公開WO01/14424参考。

10

20

30

【0183】

別の態様において、本発明のヒト抗体は、導入遺伝子および導入染色体においてヒト免疫グロブリン配列を有するマウス、例えば、ヒト重鎖導入遺伝子およびヒト軽鎖導入染色体を有するマウスを使用して得ることができる。このようなマウスは、本明細書において「KMマウス」と称され、IshidaらのPCT公開WO02/43478に詳細に記載されている。

【0184】

さらに、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する代替トランスジェニック動物系が、当分野で利用でき、本発明の抗-IL12R₁抗体を得るために使用することができる。例えば、Xenomouse（Abgenix, Inc.）と称される代替トランスジェニック系を使用することができる。このようなマウスは、例えば、Kucherlapatiらの米国特許第5,939,598; 6,075,181; 6,114,598; 6,150,584および6,162,963号に記載されている。

40

【0185】

さらに、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する代替導入染色体動物系が、当分野で利用でき、本発明の抗-IL12R₁抗体を得るために使用することができる。例えば、「TCマウス」と称されるヒト重鎖導入染色体およびヒト軽鎖導入染色体の両方を有するマウスを使用することができる。このようなマウスは、Tomizukaら 2000 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:722-727に記載されている。

【0186】

50

本発明のヒトモノクローナル抗体はまた、ヒト抗体応答が免疫化時に産生することができるよう、ヒト免疫細胞が再構成されている S C I D マウスを使用して調製することができる。このようなマウスは、例えば、Wilson らの米国特許第 5,476,996 および 5,698,767 号に記載されている。

【 0187 】

マウス系からの本発明のモノクローナル抗体の作製

モノクローナル抗体 (mAb) は、慣用のモノクローナル抗体方法論、例えば、Kohler and Milstein, 1975 Nature 256: 495 の標準体細胞ハイブリダイゼーション技術を含む種々の技術により産生することができる。モノクローナル抗体を産生するための多数の技術は、例えば、B リンパ球のウイルス性または発がん性遺伝子による形質転換を使用することができる。10

【 0188 】

ハイブリドーマを調製するための動物系は、マウス系である。マウスにおけるハイブリドーマ生産は、十分に確立された方法である。融合のための免疫化脾細胞の単離のための免疫化プロトコールおよび技術は当分野で知られている。融合パートナー（例えば、マウス骨髓腫細胞）および融合方法もまた、知られている。

【 0189 】

本発明のキメラまたはヒト化抗体は、上記のとおりに調製したマウスモノクローナル抗体の配列に基づいて調製することができる。重鎖および軽鎖免疫グロブリンをコードする DNA は、興味あるマウスハイブリドーマから得られ、標準分子生物学技術を使用して非マウス（例えば、ヒト）免疫グロブリン配列を含むように操作することができる。例えば、キメラ抗体を作製するために、マウス可変領域は、当分野で知られている方法を使用してヒト定常領域に連結することができる（例えば、Cabil 11 らの米国特許第 4,816,567 号参照）。ヒト化抗体を作製するために、マウス CDR 領域は、当分野で知られている方法を使用してヒトフレームワークに挿入することができる。例えば、Winter の米国特許第 5,225,539 号ならびに Queen らの米国特許第 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762 および 6,180,370 号参照。20

【 0190 】

ヒトモノクローナル抗体を生産するハイブリドーマの作製

本発明のヒトモノクローナル抗体を生産するハイブリドーマを作製するために、免疫化されたマウスからの脾細胞および / またはリンパ節細胞を単離し、適当な不死化細胞系、例えば、マウス骨髓腫細胞系に融合することができる。得られるハイブリドーマは、抗原特異的またはエピトープ特異的抗体の生産についてスクリーニングすることができる。例えば、免疫化されたマウスからの脾臓のリンパ球の単一の細胞懸濁液は、50% の PEG で、6 分の 1 の数の P 3 X 6 3 - Ag 8.653 非分泌性のマウス骨髓腫細胞 (ATCC、CRL 1580) に融合させることができる。細胞を約 2 × 145 平底マイクロタイタープレートに播種し、次に、20% 胎児クローン血清、18% の「653」馴化培地、5% のオリゲン (IGEN)、4 mM の L-グルタミン、1 mM のピルビン酸ナトリウム、5 mM の HEPES、0 : 0.55 mM の 2-メルカプトエタノール、50 ユニット / ml のベニシリン、50 mg / ml のストレプトマイシン、50 mg / ml のゲンタマイシンおよび 1 × HAT (Sigma; HAT は融合の 24 時間に加える) を含む選択培地で 2 週間インキュベートする。約 2 週間後、細胞は、HAT が HT に置き換えられた培地中で培養することができる。次に、個々のウェルは、ヒトモノクローナル IgM および IgG 抗体について、ELISA によりスクリーニングすることができる。大規模なハイブリドーマ増殖が起こったとき、培地を通常 10 - 14 日後に観察することができる。抗体を分泌するハイブリドーマを再度播種し、再度スクリーニングすることができ、まだヒト IgG 陽性のとき、モノクローナル抗体を限界希釈により少なくとも 2 回サブクローニングすることができる。次に、安定なサブクローニーは、インビトロで培養し、特性化のための組織培養培地中で少量の抗体を生産することができる。30

【 0191 】

10

20

30

40

50

ヒトモノクローナル抗体を精製するために、選択されたハイブリドーマをモノクローナル抗体精製のための2リットルスピナー・フラスコで培養することができる。上清を濾過し、濃縮し、プロテインA・セファロース(Pharmacia, Piscataway, N.J.)でのアフィニティークロマトグラフィーに付すことができる。純度を保証するために、溶離させたIgGをゲル電気泳動および高速液体クロマトグラフィーにより確認することができる。バッファー溶液はPBSに交換することができ、濃度を1.43減衰係数を使用するOD₂₈₀により決定することができる。モノクローナル抗体をアリコートし、-80°で貯蔵することができる。

【0192】

モノクローナル抗体を生産するトランスフェクトーマの作製

10

本発明の抗体は、例えば、当分野でよく知られている(例えば、Morrison, S. (1985) Science 229:1202)組換えDNA技術および遺伝子トランスフェクション方法の組合せを使用して、宿主細胞トランスフェクトーマにおいて生産することができる。

【0193】

例えば、抗体またはその抗体フラグメントを発現させるために、部分または全長軽鎖および重鎖をコードするDNAは、標準分子生物学または生化学技術(例えば、DNA化学合成、PCR増幅または興味ある抗体を発現するハイブリドーマを使用するcDNAクローニング)により得ることができ、DNAは、遺伝子が転写および翻訳コントロール配列に作動可能に連結されるように発現ベクターに挿入することができる。この文脈において、「作動可能に連結」なる用語は、ベクター内の転写および翻訳コントロール配列が、抗体遺伝子の転写および翻訳を調節する意図される機能を果たすように、抗体遺伝子がベクターに結合されることを意味することが意図される。発現ベクターおよび発現コントロール配列は、使用される発現宿主細胞と適合するように選択される。抗体の軽鎖遺伝子および抗体の重鎖遺伝子は、別のベクターに挿入することができ、またさらに一般的には、両方の遺伝子は、同じ発現ベクターに挿入される。抗体遺伝子は、標準方法(例えば、抗体遺伝子フラグメントおよびベクターにおける相補的制限酵素認識部位のライゲーション、または制限酵素認識部位が存在しないとき、平滑末端ライゲーション)により発現ベクターに挿入される。本明細書に記載されている抗体の軽鎖および重鎖可変領域は、V_Hセグメントがベクター内のC_Hセグメントに作動可能に連結され、V_Lセグメントがベクター内のC_Lセグメントに作動可能に連結されるように、既に所望のアイソタイプの重鎖定常および軽鎖定常領域をコードする発現ベクターに挿入することにより、任意の抗体アイソタイプの全長抗体遺伝子を作製するために使用することができる。さらに、あるいは、組換え発現ベクターは、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を促進するシグナルペプチドをコードすることができる。シグナルペプチドが抗体鎖遺伝子のアミノ末端にインフレームで連結されるように、抗体鎖遺伝子はベクターにクローニングすることができる。シグナルペプチドは、免疫グロブリンシグナルペプチドまたは異種シグナルペプチド(すなわち、非免疫グロブリンタンパク質由来のシグナルペプチド)であり得る。

20

30

【0194】

抗体鎖遺伝子に加えて、本発明の組換え発現ベクターは、宿主細胞における抗体鎖遺伝子の発現をコントロールする調節配列を有する。「調節配列」なる用語は、抗体鎖遺伝子の転写または翻訳をコントロールするプロモーター、エンハンサーおよび他の発現コントロール因子(例えば、ポリアデニル化シグナル)を含むことが意図される。このような調節配列は、例えば、Goodde (Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA 1990)に記載されている。調節配列の選択を含む発現ベクターの設計が、形質転換される宿主細胞の選択、所望のタンパク質の発現レベルなどの因子に依存し得ることは、当業者に理解される。哺乳動物宿主細胞発現のための調節配列は、哺乳動物細胞における高レベルのタンパク質発現を指向するウイルスエレメント、例えば、サイトメガロウイルス(CMV)、シミアンウイルス(Simian Virus)40(SV40)、アデノウイルス(例えば、アデノウイルス主要後期プロモーター(AdMLP))およびポリオーマに由来するプロモーターおよび/またはエンハンサー

40

50

を含む。あるいは、非ウイルス調節配列、例えば、ユビキチンプロモーターまたはP-グロビンプロモーターが使用され得る。さらに、調節因子は、SV40初期プロモーターおよびヒトT細胞白血病ウイルスタイプ1の末端反復からの配列を含むSRaプロモーターシステムのような異なる供給源からの配列からなった(Takebe, Yら 1988 Mol. Cell. Biol. 8:466-472)。

【0195】

抗体鎖遺伝子および調節配列に加えて、本発明の組換え発現ベクターは、さらなる配列、例えば、宿主細胞におけるベクターの複製を制御する配列(例えば、複製起点)および選択可能なマーカー遺伝子を有し得る。選択可能なマーカー遺伝子は、ベクターが導入されている宿主細胞の選択を容易にする(例えば、全てAxe1らの米国特許第4,399,216、4,634,665および5,179,017号参照)。例えば、選択可能なマーカー遺伝子は、一般的に、ベクターが導入された宿主細胞において、薬物、例えば、G418、ハイグロマイシンまたはメトトレキサートに対する耐性を付与する。選択可能なマーカー遺伝子は、ジヒドロ葉酸レダクターゼ(DHFR)遺伝子(メトトレキサート選択/増幅でのdhfr-宿主細胞における使用のための)およびneo遺伝子(G418選択のための)を含む。

10

【0196】

軽鎖および重鎖の発現のために、重鎖および軽鎖をコードする発現ベクターは、標準技術により宿主細胞にトランスフェクトされる。種々の形態の「トランスフェクション」なる用語は、原核生物または真核宿主細胞への外因性DNAの導入のために一般的に使用される多種多様の技術、例えば、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈殿、DEAE-デキストラントトランスフェクションなどを含むことが意図される。原核生物または真核宿主細胞のいずれかにおいて本発明の抗体を発現させることが理論的に可能である。真核細胞、例えば、哺乳動物宿主細胞、酵母または糸状菌における抗体の発現は、このような真核細胞、特に哺乳動物細胞が、原核細胞よりも、適当に折り畳まれ、免疫学的に活性な抗体を組み立て、分泌しやすいため、議論される。

20

【0197】

1つの特定の態様において、本発明のクローニングまたは発現ベクターは、適当なプロモーター配列に作動可能に連結した以下のコード配列(a)-(p)のいずれかの少なくとも1つを含む:

30

- (a) 配列番号: 73 および配列番号: 85;
- (b) 配列番号: 77 および配列番号: 85;
- (c) 配列番号: 81 および配列番号: 85;
- (d) 配列番号: 74 および配列番号: 86;
- (e) 配列番号: 78 および配列番号: 86;
- (f) 配列番号: 82 および配列番号: 86;
- (g) 配列番号: 75 および配列番号: 87;
- (h) 配列番号: 79 および配列番号: 87;
- (i) 配列番号: 83 および配列番号: 87;
- (j) 配列番号: 76 および配列番号: 88;
- (k) 配列番号: 80 および配列番号: 88;
- (l) 配列番号: 84 および配列番号: 88;
- (m) 配列番号: 94 および配列番号: 85;
- (n) 配列番号: 95 および配列番号: 86;
- (o) 配列番号: 96 および配列番号: 87; および
- (p) 配列番号: 97 および配列番号: 88.

40

【0198】

本発明の組換え抗体を発現するための哺乳動物宿主細胞は、チャイニーズハムスター卵巣(CHOC細胞)(例えば、R.J. Kaufman and P.A. Sharp, 1982 Mol. Biol. 159:601-621に記載されている、DHFR選択可能なマーカーを使用する、Urlaub and Chasin, 1

50

980 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220に記載されている、d h f r - C H O 細胞を含む)、C H O K 1 d h f r + 細胞系、N S O 骨髄腫細胞、C O S 細胞およびS P 2 細胞を含む。特に、N S O 骨髄腫細胞での使用のための、別の発現系は、P C T 公開W O 8 7 / 0 4 4 6 2、W O 8 9 / 0 1 0 3 6 およびE P 0 3 3 8 8 4 1において示されているG S 遺伝子発現系である。1つの態様において、本発明の組換え抗体を発現するための哺乳動物宿主細胞は、例えば米国特許第6,946,292号に記載されている、F U T 8 遺伝子発現欠損哺乳動物細胞系を含む。

【0199】

抗体遺伝子をコードする組換え発現ベクターが、哺乳動物宿主細胞に導入されたとき、抗体は、宿主細胞における抗体の発現または宿主細胞が培養される培養培地への抗体の分泌を可能にする十分な期間、宿主細胞を培養することにより生産される。抗体は、標準タンパク質精製方法(例えばAbhinavら 2007, Journal of Chromatography 848: 28-37参照)を使用して、培養培地から回収することができる。

10

【0200】

1つの特定の態様において、本発明の宿主細胞は、適当なプロモーター配列に作動可能に連結した、m A b 1 - m A b 1 6 のそれぞれの発現のために適当な(a) - (p)からなる群から選択されるコード配列を有する発現ベクターでトランスフェクトされた宿主細胞である:

- (a) 配列番号: 7 3 および配列番号: 8 5 ;
- (b) 配列番号: 7 7 および配列番号: 8 5 ;
- (c) 配列番号: 8 1 および配列番号: 8 5 ;
- (d) 配列番号: 7 4 および配列番号: 8 6 ;
- (e) 配列番号: 7 8 および配列番号: 8 6 ;
- (f) 配列番号: 8 2 および配列番号: 8 6 ;
- (g) 配列番号: 7 5 および配列番号: 8 7 ;
- (h) 配列番号: 7 9 および配列番号: 8 7 ;
- (i) 配列番号: 8 3 および配列番号: 8 7 ;
- (j) 配列番号: 7 6 および配列番号: 8 8 ;
- (k) 配列番号: 8 0 および配列番号: 8 8 ;
- (l) 配列番号: 8 4 および配列番号: 8 8 ;
- (m) 配列番号: 9 4 および配列番号: 8 5 ;
- (n) 配列番号: 9 5 および配列番号: 8 6 ;
- (o) 配列番号: 9 6 および配列番号: 8 7 ; および
- (p) 配列番号: 9 7 および配列番号: 8 8 。

20

30

【0201】

次に、後者の宿主細胞は、m A b 1 - m A b 1 6 のそれからなる群から選択される本発明の抗体の発現および生産のために適当な条件下でさらに培養され得る。

【0202】

免疫抱合体(immunoconjugate)

別の局面において、本発明は、本発明の抗-I L 1 2 R 1 抗体またはそのフラグメントが、治療的部、例えば、細胞毒素、薬物(例えば、免疫抑制剤)または放射性毒素に結合(conjugate)することを特徴とする。このような抱合体は、「免疫抱合体」として本明細書で称される。1つ以上の細胞毒素を含む免疫抱合体は、「免疫毒素」として称される。細胞毒素または細胞毒性剤は、細胞に有害(例えば、殺す)あらゆる剤を含む。例えば、タキソン(taxon)、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、マイトイシン、エトポシド、テニポシド、ビンクリスチン、ビンプラスチニン、tコルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラセンジオン、ミトキサンtron、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロールおよびピュロマイシンならびにこれらのアナログまたはホモログを含む。治療剤はまた、例えば、代

40

50

謝拮抗剤（例えば、メトトレキサート、6 - メルカブトプリン、6 - チオグアニン、シタラビン、5 - フルオロウラシルデカルバジン）、アルキル化剤(ablating agent)（例えば、メクロレタミン、チオエパクロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（B S N U）およびロムスチン（C C N U）、シクロホスファミド、ブスルファン、ジプロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンCならびにc i s - ジクロロジアミニ白金（I I）（D D P）シスプラチン、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン（以前はダウノマイシン）およびドキソルビシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（以前はアクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシンおよびアントラマイシン（A M C））、ならびに抗有糸分裂剤（例えば、ピンクリスチンおよびピンプラスチン）を含む。

10

【0203】

本発明の抗体と結合することができる治療的細胞毒素の他の例は、デュオカルマイシン、カリケアマイシン、メイタンシンおよびアウリスタチン、ならびにこれらの誘導体を含む。カリケアマイシン免疫抱合体の一例は、市販されている（MylotargTm; Wyeth-Ayerst）。

【0204】

細胞毒素は、当分野で利用できるリンカー技術を使用して本発明の抗体と結合することができる。細胞毒素を抗体に結合させるために使用されているリンカーの型の例は、ヒドラゾン、チオエーテル、エステル、ジスルフィドおよびペプチド含有リンカーを含むが、これらに限定されない。リンカーは、例えば、リソソーム区画内で低いpHにより開裂されやすい、または、カテプシン（例えば、カテプシンB、C、D）などの、腫瘍組織で優先的に発現されるプロテアーゼなどの、プロテアーゼにより開裂されやすい、ものから選択することができる。

20

【0205】

抗体へ治療剤を結合させるための細胞毒素の型、リンカーおよび方法のさらなる考察のために、Saito, Gら2003 Adv. Drug Deliv. Rev. 55:199-215; Trail, P.Aら 2003 Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337; Payne, G., 2003 Cancer Cell 3:207-212; Allen, T.M., 2002 Nat. Rev. Cancer 2:750-763; Pastan, I. and Kreitman, R. J., 2002 Curr. Opin. Investig. Drugs 3:1089-1091; Senter, P.D. and Springer, C.J., 2001 Adv. Drug Deliv. Rev. 53:247-264も参照。

30

【0206】

本発明の抗体はまた、放射性同位体と結合して、放射性免疫抱合体としても称される細胞毒性放射性医薬品を生成することができる。診断または治療的使用のための抗体と結合することができる放射性同位体の例は、ヨウ素¹³¹、インジウム¹¹¹、イットリウム⁹⁰およびルテチウム¹⁷⁷を含むが、これらに限定されない。放射性免疫抱合体を調製する方法は、当分野において確立されている。放射性免疫抱合体の例は、商業的に利用でき、ZevalinTM (DEC Pharmaceuticals) およびBexxarTM (Corixa Pharmaceuticals) を含み、同様の方法を、本発明の抗体を使用して放射性免疫抱合体を調製するために使用することができる。

【0207】

本発明の免疫抱合体は、既知の生物学的応答を修飾するために使用することができ、薬物部分は、古典的な化学治療剤に限定解釈されない。例えば、薬物部分は、所望の生物学的活性を有するタンパク質またはポリペプチドであり得る。このようなタンパク質は、例えば、酵素的に活性な毒素、またはその活性なフラグメント、例えば、アブリン、リシンA、綠膿菌外毒素、またはジフテリア毒素；タンパク質、例えば、腫瘍壞死因子またはインターフェロン-；または、生物学的応答修飾因子、例えば、例えは、リンホカイン、インターロイキン-1（「IL 1」）、インターロイキン-2（「IL 2」）、インターロイキン-6（「IL 6」）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（「GM - CSF」）、顆粒球コロニー刺激因子（「G - CSF」）、または他の増殖因子を含み得る。

40

【0208】

50

抗体に治療的部分を結合するための技術は、よく知られている、例えば、Amonら “Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy”, in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeldら (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstromら “Antibodies For Drug Delivery”, in Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinsonら (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, “Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review”, in Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pincheraら (eds.), pp. 475-506 (1985); “Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy”, in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwinら (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985)、およびThorpeら “The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates”, Inmunol. Rev., 62:119-58 (1982) 参照。

10

20

30

40

50

【0209】

二重特異性分子

別の局面において、本発明は、本発明の抗 - I L 1 2 R 1 抗体を含む二重特異性または多特異的分子を特徴とする。本発明の抗体は、誘導体化され、または、別の機能性分子、例えば、別のペプチドまたはタンパク質（例えば、別の抗体または受容体のリガンド）に連結され、少なくとも 2 つの異なる結合部位または標的分子に結合する二重特異性分子を产生することができる。実際には、本発明の抗体は、誘導体化されるか、または 2 つ以上の他の機能性分子に連結され、2 つ以上の異なる結合部位および / または標的分子に結合する多特異的分子を產生され得る。このような多特異的分子はまた、本明細書において使用される「二重特異性分子」なる用語により包含されることが意図される。本発明の二重特異性分子を作製するために、本発明の抗体は、二重特異性分子となるように、1 つ以上の他の結合分子、例えば、別の抗体、抗体フラグメント、ペプチドまたは結合模擬物に機能的に連結することができる（例えば、化学結合、遺伝子融合、非共有結合またはその他により）。

【0210】

したがって、本発明は、I L 1 2 R 1 に対する少なくとも 1 つの第 1 の結合特異性、例えば、m A b 1 - m A b 1 6 のいずれか 1 つの 1 つの抗原結合部分、および第 2 の標的エピトープに対する第 2 の結合特異性を含む二重特異性分子を含む。例えば、第 2 の標的エピトープは、第 1 の標的エピトープと異なる I L 1 2 R 1 の別のエピトープである。別の例は、I L 1 2 R 1 に対する少なくとも 1 つの第 1 の結合特異性、例えば、m A b 1 - m A b 1 6 のいずれか 1 つの 1 つの抗原結合部分、および I L 1 2 R 2 または I L 2 3 R 内のエピトープに対する第 2 の結合特異性を含む二重特異性分子を含む。

【0211】

さらに、二重特異性分子が多特異性である本発明において、該分子は、第 1 および第 2 の標的エピトープに加えて、第 3 の結合特異性をさらに含むことができる。

【0212】

1 つの態様において、本発明の二重特異性分子は、結合特異性として、少なくとも 1 つの抗体またはその抗体フラグメント、例えば、F a b、F a b'、F (a b')₂、F v または一本鎖 F v を含む。抗体はまた、軽鎖または重鎖ダイマー、またはその任意の最小限のフラグメント、例えば、F v または L a d n e r らの米国特許第 4,946,778 号に記載されている一本鎖構築物であり得る。

【0213】

本発明の二重特異性分子において使用することができる他の抗体は、マウス、キメラおよびヒト化モノクローナル抗体である。

【0214】

本発明の二重特異性分子は、当分野で知られている方法を使用して、構成結合特異性をコンジュゲートすることにより調製することができる。例えば、二重特異性分子のそれぞれの結合特異性は、別々に作製され、互いにコンジュゲートすることができる。結合特異

性がタンパク質またはペプチドであるとき、種々のカップリングまたは架橋剤を共有コンジュゲートのために使用することができる。架橋剤の例は、プロテインA、カルボジイミド、N-スクシンイミジル-S-アセチル-チオアセテート(SATA)、5,5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸)(DTNB)、O-フェニレンジマレイミド(OPDM)、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPD)およびスルホスクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(スルホ-SMCC)を含む(例えば、Karpovskyら 1984 J. Exp. Med. 160: 1686; Liu, MAら 1985 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:8648参照)。他の方法は、Paulus, 1985 Behring Ins. Mitt. No. 78,118-132; Brennanら 1985 Science 229:81-83)およびGlennieら 1987 J. Immunol. 139: 2367-2375)に記載されているものを含む。コンジュゲート剤は、SATAおよびスルホ-SMCCであり、両方とも Pierce Chemical Co. (Rockford, IL) から利用できる。

10

【0215】

結合特異性が抗体である場合、2つの重鎖のC-末端ヒンジ領域のスルフヒドリル結合によりコンジュゲートされ得る。特定の態様において、コンジュゲーションより前に、奇数、例えば1個のスルフヒドリル残基を含むようにヒンジ領域が修飾される。

【0216】

あるいは、両方の結合特異性は同じベクター内でコードされ、同じ宿主細胞で発現され、そして組み立てられ得る。この方法は、二重特異性分子が、mAb × mAb、mAb × Fab、Fab × F(ab')₂またはリガンド × Fab融合タンパク質であるとき、特に有用である。本発明の二重特異性分子は、1つの一本鎖抗体および1つの結合決定因子を含む一本鎖分子、または2つの結合決定因子を含む一本鎖二重特異性分子であり得る。二重特異性分子は、少なくとも2つの一本鎖分子を含み得る。二重特異性分子を調製するための方法は、例えば、米国特許第5,260,203号；米国特許第5,455,030号；米国特許第4,881,175号；米国特許第5,132,405号；米国特許第5,091,513号；米国特許第5,476,786号；米国特許第5,013,653号；米国特許第5,258,498号；および米国特許第5,482,858号に記載されている。

20

【0217】

特異的標的への二重特異性分子の結合は、例えば、酵素免疫吸着法アッセイ(ELISA)、ラジオイムノアッセイ(REA)、FACS分析、バイオアッセイ(例えば、増殖阻害)またはウェスタンプロットアッセイにより確認することができる。これらのアッセイはそれぞれ、一般的に、興味ある複合体に特異的な標識化試薬(例えば、抗体)を使用することにより、特定の対象のタンパク質-免疫抱合体の存在を検出する。

30

【0218】

多価抗体

別の局面において、本発明は、例えば、mAb1-mAb16のいずれか1つの抗原結合部分から選択される、IL12R1に結合する本発明の抗体の少なくとも2つの同一の、または異なる抗原結合部分を含む多価抗体を提供する。1つの態様において、多価抗体は、抗体の少なくとも2、3または4つの抗原結合部分を提供する。抗原結合部分は、タンパク質融合または共有もしくは非共有結合を介して互いに連結され得る。あるいは、連結の方法は、二重特異性分子に記載されている。四価化合物は、例えば、本発明の抗体を、本発明の抗体の定常領域、例えばFcまたはヒンジ領域に結合する抗体と架橋することにより、得ることができる。

40

【0219】

医薬組成物

別の局面において、本発明は、本発明の抗体の1つ、例えば、mAb1-mAb16からなる群から選択される1つの抗体、または、薬学的に許容される担体と共に製剤化された組合せを含む組成物、例えば、医薬組成物を提供する。このような組成物は、本発明の(例えば、2つ以上の異なる)抗体の1つまたは組合せ、または免疫抱合体または二重特

50

異性分子を含み得る。例えば、本発明の医薬組成物は、標的抗原上の異なるエピトープに結合する抗体、または相補的な活性を有する抗体の組合せを含むことができる。

【0220】

本発明の医薬組成物はまた、併用療法において投与される、すなわち、他の薬剤と組み合わせることができる。例えば、該併用療法は、本発明の抗-I L 1 2 R 1 抗体、例えば m A b 1 - m A b 1 6 からなる群から選択される 1 つの抗体を、少なくとも 1 つの他の抗炎症または別の化学療法剤、例えば、免疫抑制剤と組み合わせて含むことができる。併用療法において使用することができる治療剤の例は、以下の本発明の抗体の使用のセクションで、より詳細に記載されている。

【0221】

本明細書において使用される「薬学的に許容される担体」は、生理学的に適合性のある、あらゆるすべての溶媒、分散媒体、コーティング剤、抗菌剤および抗真菌剤、等張化剤および吸収遅延剤などを含む。担体は、静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄または表皮投与（例えば、注射または注入による）のために適当であるべきである。1つの態様において、担体は、皮下経路のために適当であるべきである。投与経路に依存して、活性化合物、すなわち、抗体、免疫抱合体または二重特異性分子は、化合物を不活性化し得る酸の作用および他の天然条件から化合物を保護する材料で被覆され得る。

【0222】

本発明の医薬組成物は、1つ以上の薬学的に許容される塩を含み得る。「薬学的に許容される塩」は、親化合物の所望の生物学的活性を保持し、あらゆる望ましくない毒生物学的效果に影響しない塩を示す（例えば、Berge, S.Mら 1977 J. Pharm. Sci. 66:1-19 参照）。このような塩の例は、酸付加塩および塩基付加塩を含む。酸付加塩は、無毒性無機酸、例えば、塩酸、硝酸、リン酸、硫酸、臭化水素酸、ヨウ化水素、亜リン酸など、ならびに無毒性有機酸、例えば、脂肪族モノ- およびジ-カルボン酸、フェニル置換アルカン酸、ヒドロキシアルカン酸、芳香族酸、脂肪族および芳香族性スルホン酸などに由来するものを含む。塩基付加塩は、アルカリ土類金属、例えば、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムなど、ならびに無毒性有機アミン、例えば、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン、N-メチルグルカミン、クロロプロカイン、コリン、di エタノールアミン、エチレンジアミン、プロカインなどに由来するものを含む。

【0223】

本発明の医薬組成物はまた、薬学的に許容される酸化防止剤を含み得る。薬学的に許容される抗酸化剤の例は、水溶性抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸、システイン塩酸塩、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、硫酸ナトリウムなど；油溶性抗酸化剤、例えば、パルミチン酸アスコルビル、ブチルヒドロキシアニソール（BHA）、ブチルヒドロキシトルエン（BHT）、レシチン、没食子酸プロピル、アルファ-トコフェロールなど；および、金属キレート化剤、例えば、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、ソルビトール、酒石酸、リン酸などを含む

【0224】

本発明の医薬組成物において使用され得る適当な水性および非水性担体の例は、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、およびそれらの適当な混合物、植物油、例えば、オリーブ油、および注射可能な有機エステル、例えば、オレイン酸エチルを含む。適切な流動性は、例えば、被覆材料、例えば、レシチンの使用により、分散液の場合に必要な粒径の維持により、および界面活性剤の使用により、維持することができる。

【0225】

これらの組成物はまた、アジュvant、例えば、防腐剤、湿潤剤、乳化剤および分散剤を含み得る。微生物の存在の防止は、滅菌手段および種々の抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノールソルビン酸などの包含の両方により保証され得る。組成物に等張剤、例えば、糖、塩化ナトリウムなどを含むことが望ましいこともある。加えて、注射可能な医薬品形態の長期吸収が、吸収遅延剤、例えば、モノステアリ

10

20

30

40

50

ン酸アルミニウムおよびゼラチンの包含によりもたらされ得る。

【0226】

薬学的に許容される担体は、滅菌注射可能溶液または分散液の即時調製用の滅菌水溶液または分散液および滅菌粉末を含む。このような媒体および薬学的に活性な物質の薬剤の使用は、当分野で知られている。いずれかの慣用の媒体または薬剤が活性化合物と適合性でない場合を除き、本発明の医薬組成物において、それらを使用することが考慮される。補助的な活性化合物もまた、組成物に組み込むことができる。

【0227】

治療組成物は、一般的に、滅菌状態であって、製造および保存の条件下で安定でなければならない。該組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、リポソーム、または高薬物濃度に適當な他の規則構造として処方することができる。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコールおよび液体ポリエチレングリコールなど）、およびそれらの適當な混合物を含む溶媒または分散媒であることができる。適切な流動性は、例えば、被覆材料、例えば、レシチンの使用により、分散液の場合に必要な粒径の維持により、および界面活性剤の使用により、維持することができる。多くの場合、等張剤、例えば、糖、多価アルコール、例えば、マンニトール、ソルビトールまたは塩化ナトリウムを組成物中に含むことができる。注射可能な組成物の長期吸収は、吸収遅延剤、例えば、モノステアリン酸塩およびゼラチンを組成物への包含によりもたらされ得る。

10

【0228】

安定なタンパク質（例えば、抗体）製剤の開発に関するレビューは、Clelandら（1993）*Crit. Reviews. Ther. Drug Carrier Systems* 10(4):307-377およびWei Wang（1999）*Int. J. Pharmaceutcs* 185:129-88において見いだされ得る。抗体に対するさらなる製剤の説明は、例えば、Daugherty and Mrsny（2006）*Advanced Drug Delivery Reviews* 58: 686-706；米国特許番号第6,171,586、4,618,486号、米国出願第20060286103号、PCT公開WO06/044908、WO07/095337、WO04/016286、Colandeneら（2007）*J. Pharm. Sci.* 96: 1598-1608；Schulman（2001）*Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 164:S6-S11および他の既知の文献において見いだされ得る。

20

【0229】

皮内または皮下適用のために使用される溶液または懸濁液は、一般的に、1つ以上の以下の成分を含む：滅菌希釈剤、例えば、注射用水、塩水、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒、抗菌剤、例えば、ベンジルアルコールまたはメチルパラベン、抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウム、キレート化剤、例えば、エチレンジアミンテトラ酢酸、バッファー、例えば、酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩、および緊張力(tonicity)の調整のための薬剤、例えば、塩化ナトリウムまたはデキストロース。pHは、酸または塩基、例えば、塩酸または水酸化ナトリウムで調整することができる。このような製剤は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨てシリンジまたは複数回投与バイアルに封入され得る。

30

【0230】

滅菌注射可能溶液は、活性化合物を適當な溶媒中で必要な量で、上で列挙した成分の1つまたは組合せと混合し、必要に応じて、次に滅菌精密濾過を行うことにより調製することができる。一般的に、分散液は、基本的な分散媒および上で列挙した必要な他の成分を含む滅菌ビヒクルに本発明の抗体またはタンパク質を組み込むことにより調製される。滅菌注射可能溶液の調製のための滅菌粉末の場合、調製方法は、以前に滅菌濾過された溶液から、活性成分プラス任意のさらなる所望の成分の粉末を生じる真空乾燥およびフリーズドライ（凍結乾燥）である。

40

【0231】

単回投与形態を生産するために担体材料と組み合わせることができる活性成分の量は、処置される対象および特定の投与経路に依存して変化する。単回投与形態を生産するため

50

に担体材料と組み合わせることができる活性成分の量は、一般的に、治療効果を生じる組成物の量である。一般的に、この量は、薬学的に許容される担体と組み合わせて、100パーセントのうち、活性成分の約0.01パーセントから約99パーセント、活性成分の約0.1パーセントから約70パーセント、または活性成分の約1パーセントから約30パーセントの範囲である。

【0232】

投与レジメンは、最適な所望の応答（例えば、治療応答）を提供するために調整される。例えば、単回のボーラスは投与され得、複数回分割投与は時間にわたって投与され得、または用量は治療状況の緊急性により比例的に減少または増加され得る。投与の容易さおよび投薬量の均一性のために、投与単位形態における非経口組成物を処方することがとりわけ利点である。本明細書において使用される投与単位形態は、処置される対象のための単一投与として適当な物理的に別々の単位を示す。それぞれの単位は、必要な医薬担体と共に所望の治療効果を生じるように計算された活性化合物の所定の量を含む。本発明の投与単位形態の仕様は、活性化合物のユニークな特性およびなし遂げられる特定の治療効果、ならびに個体の処置感度に関するこのような活性化合物を合成する分野に内在する限界により指示され、直接的に依存する。

【0233】

抗体の投与において、用量は、約0.0001から100mg/kg、さらに通常0.01から5mg/kg宿主体重の範囲である。例えば、用量は、0.3mg/kg体重、1mg/kg体重、3mg/kg体重、5mg/kg体重または10mg/kg体重または1-10mg/kgの範囲内であり得る。典型的な処置レジメンは、週に1回、2週に1回、3週に1回、4週に1回、月に1回、3月に1回または6月に1回の投与を必要とする。本発明の抗-IL12R⁻¹抗体またはタンパク質に対する投与レジメンは、静脈内投与による1mg/kg体重または3mg/kg体重を含み、抗体が以下の投与スケジュール：4週ごとに6回投与、次に3月ごと；3週ごと；3週ごと3mg/kg体重で1回、次に1mg/kg体重の1つを使用して投与される。

【0234】

いくつかの方法において、投与されるそれぞれの抗体の用量が示される範囲内となる場合、異なる結合特異性を有する2つ以上のモノクローナル抗体が同時に投与される。本発明の抗体またはタンパク質は、通常複数回投与される。単一の投与間の間隔は、例えば、毎週、毎月、3月ごとまたは毎年であり得る。間隔はまた、患者において標的抗原に対する抗体の血液レベルを測定することにより示されるように不規則であり得る。いくつかの方法において、用量は、約1-1000μg/mlおよびいくつかの方法において約25-300μg/mlの血漿抗体濃度をなし遂げるよう調整される。

【0235】

あるいは、低頻度での投与が必要である場合、抗体またはタンパク質は、持続放出製剤として投与することができる。用量および頻度は、患者における抗体の半減期に依存して変化する。一般的に、ヒト抗体は、最も長い半減期を示し、次に、ヒト化抗体、キメラ抗体、非ヒト抗体が続く。投与の用量および頻度は、処置が予防または治療であるかに依存して変化し得る。予防適用において、比較的低用量が、長期間にわたって比較的まれな間隔で投与される。一部の患者は、生涯にわたって処置を受け続ける。治療適応において、比較的短い間隔で比較的高い用量が、ときどき、疾患の進行が低減または終了するまで、または、患者が疾患の症状の部分的または完全な改善を示すまでに必要である。その後、患者は予防レジメンで投与することができる。

【0236】

本発明の医薬組成物中の活性成分の実際の投与レベルは、患者への毒性がなく、特定の患者、組成物および投与経路に対して所望の治療応答をなし遂げるために有効である活性成分の量を得るために変化され得る。選択される投与レベルは、種々の薬物動態学因子、例えば、使用される本発明の特定の組成物またはそのエステル、塩もしくはアミドの活性、投与経路、投与時間、使用される特定の化合物の排出速度、処置期間、使用される特定

10

20

30

40

50

の化合物と組み合わせて使用される他の薬物、化合物および／または物質、年齢、性別、体重、状態、処置される患者の全身健康状態および病歴、医療分野で知られている因子に依存する。

【0237】

本発明の「治療有用用量」の抗-IL12R-1抗体またはタンパク質は、疾患症状の重症度の低下、疾患無症状期間の頻度および期間の増加、または疾患の苦痛による損傷または障害の予防をもたらすことができる。

【0238】

本発明の組成物は、当分野で知られている1つ以上の種々の方法を使用する1つ以上の投与経路により投与することができる。当業者により理解されるとおり、投与経路および／または投与様式は、所望の結果に依存して変化する。本発明の抗体に対する投与経路は、静脈内、筋肉内、皮内、腹腔内、皮下、脊髄または他の非経口投与経路、例えば、注射または注入を含む。本明細書において使用される「非経口投与」なる語句は、通常、注射による、経腸および局所投与以外の投与様式を意味し、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、囊内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、髄腔内、硬膜外および幹内注射および注入を含むが、これらに限定されない。

10

【0239】

あるいは、本発明の抗体またはタンパク質は、経口経路、例えば、局所、表皮または粘膜投与経路、例えば、鼻腔内、経口、経膣、経直腸、舌下または局所的により投与することができる。

20

【0240】

本発明の抗体またはタンパク質は、迅速な放出に対して抗体を保護する担体、例えば、制御放出製剤、例えば、インプラント、経皮パッチおよびマイクロカプセル化送達系と共に調製することができる。生分解性、生体適合性ポリマー、例えば、エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステルおよびポリ乳酸を使用することができる。このような製剤の調製のための多数の方法が、特許を付与され、または一般的に当業者に知られている。例えば、*Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978参照。

【0241】

治療組成物は、当分野で知られている医療機器で投与することができる。例えば、1つの態様において、本発明の治療組成物は、無針皮下注射デバイス、例えば、米国特許第5,399,163; 5,383,851; 5,312,335; 5,064,413; 4,941,880; 4,790,824または4,596,556号に示されているデバイスで投与することができる。本発明において有用なよく知られるインプラントおよびモジュールの例は、米国特許第4,487,603号が示す制御された速度で薬物を分配するための移植可能な微小注入ポンプ；米国特許第4,486,194号が示す皮膚を介して薬物を投与するための治療デバイス；米国特許第4,447,233号が示す正確な注入速度で薬物を送達するための薬物注入ポンプ；米国特許第4,447,224号が示す連続的薬物送達のための可変流量移植可能な注入装置；米国特許第4,439,196号が示すマルチチャンバーコンパートメントを有する浸透圧薬送達系；および米国特許第4,475,196号が示す浸透圧薬送達系を含む。多数の他のこのようなインプラント、送達系およびモジュールは当業者に知られている。

30

【0242】

1つの態様において、本発明の抗体またはタンパク質は、インビボでの適切な分配を保証するように製剤化することができる。例えば、血液脳関門(BBB)は、多くの高親水性化合物を除外する。本発明の治療化合物が BBB(所望により)を通過することを保証するため、それらを、例えば、リポソーム中に製剤化することができる。リポソームを製造する方法について、例えば、米国特許4,522,811; 5,374,548；および5,399,331参照。リポソームは、特定の細胞または臓器に選択的に輸送される1つ以上の部分を含み得、したがって標的薬物送達を増強する(例えば、V.V. Ranade, 1

40

50

989 J. Cline Pharmacol. 29:685参照）。典型的な標的部分は、葉酸またはビオチン（例えば、Lowらの米国特許5,416,016参照）；マンノシド（Umezawaら 1988 Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038）；抗体（P.G. Bloemanら 1995 FEBS Lett. 357:140；M. Owaisら 1995 Antimicrob. Agents Chernother. 39:180）；サーファクタントプロテインA受容体（Briscoeら 1995 Am. J. Physiol. 269:R9090）；p120（Schreierら 1994 J. Biol. Chem. 269:9090）；K. Keinanen；M.L. Laukkanen, 1994 FEBS Lett. 346:123；J.J. Killion；I.J. Fidler, 1994 Immunomethods 4:273も参照を含む。

【0243】

本発明の使用および方法

本発明の抗体またはタンパク質は、インピトロおよびインピボの診断および治療の有用性を有する。例えば、これらの分子は、例えばインピトロまたはインピボで培養中の細胞に、または、対象において種々の疾患を処置、予防または診断するために、例えば、インピボで、投与することができる。

【0244】

該方法は、IL12R 1 - 関連障害および/または自己免疫性および炎症性疾患、例えば、リウマチ性関節炎、乾癬または炎症性腸疾患を処置、予防または診断するために特に適当である。

【0245】

本発明はまた、治療効率的な用量の本発明の抗体を含む組成物を投与することにより、ヒト血球におけるIL12またはIL23誘導シグナル伝達応答を減少または抑制するための方法を提供する。

【0246】

本明細書において使用される「IL12R 1 - 関連障害」は、異常IL12および/またはIL23レベルと関連するか、またはそれにより特徴付けられる状態、および/または、ヒト血球におけるIL12および/またはIL23誘導シグナル伝達活性、例えば、血漿において測定されるときのIFN またはIL17の生産、または、フローサイトメトリー方法またはウェスタンプロットにより測定されるときのSTAT4タンパク質のリン酸化の程度を減少または抑制することにより処置することができる疾患または状態を含む。これらは、炎症状態および自己免疫疾患、例えば、リウマチ性関節炎、乾癬および炎症性腸疾患を含む。これらは、アレルギーおよびアレルギー性状態、過敏性反応、および臓器または組織移植拒絶反応をさらに含む。

【0247】

例えば、本発明の抗体またはタンパク質は、心臓、肺、複合心肺、肝臓、腎臓、脾臓、皮膚または角膜移植のレシピエント、例えば、同種移植片拒絶反応または異種移植片拒絶反応の処置のために、ならびに、例えば骨髄移植後の移植片対宿主病および臓器移植関連動脈硬化症の予防のために使用され得る。

【0248】

本発明の抗体またはタンパク質は、自己免疫疾患および炎症状態、特に病因、例えば、自己免疫要素、例えば、関節炎（例えばリウマチ性関節炎、慢性進行性関節炎および変形性関節炎）およびリウマチ性疾患、例えば骨量の減少を含む炎症状態およびリウマチ性疾患、炎症性疼痛、脊椎関節炎、例えば強直性脊椎炎、ライター症候群、反応性関節炎、乾癬性関節炎および腸関連関節炎、過敏症（例えば気道過敏症および皮膚過敏症の両方）およびアレルギーを有する炎症状態の処置、予防または改善のために有用である。本発明の抗体が使用され得る特定の自己免疫疾患は、自己免疫性血液疾患（例えば溶血性貧血、再生不良性貧血、純赤血球貧血および特発性血小板減少症）、全身性エリテマトーデス、炎症性筋肉障害、多発性軟骨炎、強皮症(sclerodoma)、ヴェグナー肉芽腫症、皮膚筋炎、慢性活動性肝炎、重症筋無力症、乾癬、スティーブンス・ジョンソン症候群、特発性スプレー、自己免疫性炎症性腸疾患（例えば潰瘍性大腸炎、クロhn病および過敏性腸症候群）、内分泌眼症、グレーブス病、サルコイドーシス、多発性硬化症、原発性胆汁性肝硬変、若年性糖尿病（I型糖尿病）、ブドウ膜炎（前部および後部）、乾性角結膜炎および春季

10

20

30

40

50

カタル、間質性肺線維症、乾癬性関節炎および糸球体腎炎（ネフローゼ症候群、例えば特発性ネフローゼ症候群または微小変化性ネフロパシーあり、またはなし）、腫瘍、多発性硬化症、皮膚および角膜の炎症性疾患、筋炎、骨インプラントの緩み、代謝障害、例えば、アテローム性動脈硬化症、糖尿病および脂質異常症を含む。

【0249】

本発明の抗体またはタンパク質はまた、喘息、気管支炎、塵肺症、肺気腫および気道の他の閉塞性または炎症性疾患の処置、予防または改善のために有用であり得る。

【0250】

本発明の抗体またはタンパク質はまた、骨代謝疾患、例えば、骨関節症、骨粗鬆症および他の炎症性関節炎、および、骨量の減少、一般的に言えば、加齢に伴う骨量の減少および特に歯周疾患を処置するために有用であり得る。10

【0251】

本発明の抗体またはタンパク質は、単独の活性成分として、または、例えば、上記疾患の処置または予防のための、他の薬物、例えば、免疫抑制性または免疫調節剤または他の抗炎症剤または他の細胞毒性剤または抗癌剤のアジュバントとして、組み合わせて投与され得る。例えば、本発明の抗体は、DMARD、例えば金塩、スルファサラジン、抗マラリア、メトトレキサート、D-ペニシラミン、アザチオプリン、ミコフェノール酸、シクロスボリンA、タクロリムス、シロリムス、ミノサイクリン、レフルノミド、グルココルチコイド；カルシニューリン阻害剤、例えばシクロスボリンAまたはFK506；リンパ球再循環のモジュレーター、例えばFTY720およびFTY720アナログ；mTOR阻害剤、例えばラパマイシン、40-O-(2-ヒドロキシエチル)-ラパマイシン、CC1779、ABT578、AP23573またはTAFRA-93；免疫抑制特性を有するアスコマイシン、例えばABT-281、ASM981など；コルチコステロイド；シクロホスファミド；アザチオプリン；メトトレキサート；レフルノミド；ミゾルビン；ミコフェノール酸；ミコフェノール酸モフェチル；15-デオキシスペガリンまたは免疫抑制性ホモログ、その類似体または誘導体；免疫抑制性モノクローナル抗体、例えば、白血球受容体に対するモノクローナル抗体、例えば、MHC、CD2、CD3、CD4、CD7、CD8、CD25、CD28、CD40、CD45、CD58、CD80、CD86またはそれらのリガンド；他の免疫調節化合物、例えばCTL4の細胞外ドメインの少なくとも一部またはその変異体を有する組換え結合分子、例えば非CTL4タンパク質配列に結合されたCTL4の少なくとも細胞外部分またはその変異体、例えばCTL4 Ig (ATCC68629受託)またはその変異体、例えばLEA29Y；接着分子阻害剤、例えばLFA-1アンタゴニスト、ICAM-1または-3アンタゴニスト、VCAM-4アンタゴニストまたはVLA-4アンタゴニスト；または化学療法剤、例えばパクリタキセル、ゲムシタビン、シスプラチニン、ドキソルビシンまたは5-フルオロウラシル；抗TNF剤、例えばTNFに対するモノクローナル抗体、例えばインフリキシマブ、アダリムマブ、CDP870、またはTNF-R1またはTNF-R1Iに対する受容体構築物、例えばエタネルセプト、PEG-TNF-R1；炎症性サイトカインの遮断薬、IL1遮断薬、例えばアナキンラまたはIL1トラップ、AAL160、IL17遮断薬、IL13遮断薬、IL4遮断薬、IL6遮断薬；ケモカイン遮断薬、例えばプロテアーゼ阻害剤または活性剤、例えばメタロプロテアーゼ、抗-IL15抗体、抗-IL6抗体、抗-IL17抗体、抗-IL4抗体、抗-IL13抗体、抗-CD20抗体、抗-B1ySまたは抗-BAFFR抗体、NSAID、例えばアスピリンまたは抗-感染因子（記載されている薬剤に限定されない）と組み合わせて使用され得る。203040

【0252】

前記にしたがって、本発明は、さらなる局面において、治療有効量の本発明の抗-IL12R-1抗体またはタンパク質、および少なくとも1つの第2の薬物の、例えば、同時に、または連続しての共投与を含む上記定義の方法であって、該第2の薬物は、例えば上記定義の、免疫抑制/免疫調節、抗炎症化学療法または抗感染薬物である方法、または、治療有効量のa)本発明の抗体またはタンパク質、およびb)例えば上記の、免疫抑制/

免疫調節、抗炎症化学療法または抗感染薬物から選択される少なくとも1つの第2の物質を含む治療組合せ、例えば、キットを提供する。該キットは、投与のための指示書を含み得る。

【0253】

本発明の抗体が他の免疫抑制／免疫調節、抗炎症化学療法または抗感染療法と共に投与されるとき、共投与される組合せ化合物の用量は、もちろん、使用される共薬物の型、例えばDMARD、抗-TNF、IL1ブロッカーまたは他のもの、使用される特定の薬物、処置される状態などに依存して変化する。

【0254】

1つの特定の態様において、本発明の抗体は、抗TNF剤と組み合わせて投与され得る。

【0255】

別の態様において、本発明の抗体は、全身性紅斑性狼瘡またはリウマチ性関節炎に罹患しており、IL12各々、IFNまたはIL17の異常血清レベル、または、血球中のホスホSTAT4のレベルおよび頻度の上昇を示す患者の中から選択される患者集団のみに投与される。他の態様において、本発明の抗体は、抗-IL12または抗-p40処置に応答する患者グループ間で選択される患者集団のみに投与される。抗-IL12（または抗-p40）処置に対する応答の可能性の増大を有する患者を同定するバイオマーカーは、血清IL12のレベルの上昇、特定のT細胞サブセットのレベルの上昇、単離された末梢血单核細胞（PBMC）からのIFN、TNF、IL12R2またはSTAT4のmRNAレベル、皮膚生検PBMCにおけるホスホSTAT4発現のいずれかであり得るが、これらに限定されない。

【0256】

1つの態様において、本発明の抗体またはタンパク質は、IL12R1のレベルまたはIL12R1を含む細胞のレベルを検出するために使用することができる。これは、例えば、抗体とIL12R1間で複合体の形成を可能にする条件下で、サンプル（例えば、インビトロサンプル）およびコントロールサンプルを抗-IL12R1抗体と接触させることにより、なし遂げることができる。抗体とIL12R1間で形成される複合体は、サンプルおよびコントロールにおいて検出および比較される。例えば、当分野でよく知られている標準検出方法、例えば、ELISAおよびフローサイトメトリーアッセイは、本発明の組成物を使用して行うことができる。

【0257】

したがって、1つの局面において、本発明は、抗体またはその部分とIL12R1間で複合体の形成を可能にする条件下で、サンプルおよびコントロールサンプルをIL12R1に特異的に結合する本発明の抗体またはタンパク質またはその抗原結合領域と接触させることを含む、サンプル中のIL12R1（例えば、ヒトIL12R1抗原）の存在を検出するための、またはIL12R1の量を測定するための方法をさらに提供する。次に、複合体の形成を検出し、コントロールサンプルと比較してサンプル間の複合体の形成における違いがサンプルにおけるIL12R1の存在を示す。

【0258】

本発明の組成物（例えば、抗体、タンパク質、ヒト抗体および二重特異性分子）および使用のための指示書からなるキットもまた、本発明の範囲内である。キットは、少なくとも1つのさらなる試薬、または1つ以上のさらなる本発明の抗体またはタンパク質（例えば、第1の抗体と異なる標的抗原上のエピトープに結合する相補的活性を有する抗体）をさらに含むことができる。キットは、一般的に、キットの内容の使用目的を示すラベルを含む。ラベルなる用語は、キット上またはキットと共に提供される、または他にキットに付随したあらゆる文章または記録物質を含む。キットは、患者が上記定義の抗-IL12R1抗体処置に応答するグループに属するか否かを診断するためのツールをさらに含み得る。

【0259】

10

20

30

40

50

完全に記載されている本発明は、以下の実施例および特許請求の範囲によりさらに説明されるが、これは、例示であり、さらなる限定を意味しない。

【実施例】

【0260】

方法

1. 表面プラズモン共鳴 (Biacore system) を使用するアフィニティー決定

K_D 値の決定のために、表面プラズモン共鳴技術を、 BiacoreTM 技術を使用して適用した。 IL12R1-Fc - 融合物を捕獲するために、抗 - ヒト - Fc - 捕獲 CM5チップ (Biacore, Sweden) を使用し、次に、異なる濃度でリガンド (Fab) 注射を行った。

10

【0261】

2. IL12R1-IL12 / IL23インビトロ競合的結合阻害アッセイ (Biorearis)

IC₅₀ は、受容体 / リガンド相互作用の 50 % 阻害のために必要であった Fab または IgG の濃度を示す。アッセイ処理中、(ほぼ最大のシグナルをもたらすようにあらかじめ決定された) 固定された量の受容体を、溶液中で、精製された Fab / IgG の濃度を増加と共に (1 : 100 から 100 : 1 モル比) インキュベートした。次に、サンプルを、リガンド被覆され、ロックされた MSD マルチタイヤープレートに移した。遊離受容体はリガンドに結合し、適当なルテニウム錯体標識抗体を介して検出され、定量された。インキュベーションのために使用される Fab / IgG 濃度の逆関数として結合受容体の濃度を、それぞれのモデルを使用して合わせた。近似曲線の変曲点は、 IC₅₀ 値を示す。

20

【0262】

3. ヒト血球の IL12 - 依存性 IFN 生産の阻害

ドナー血液由来の末梢血単核細胞 (PBMC) を、一般的に使用される Ficoll / Histopaque 勾配 (Noble and Cutts, 1967 CanVetJ 8(5): 110-111) を介して単離した。細胞を (X - Vivo 15 培地中で) 2E + 6 細胞 / ml に調節した。50 μl の細胞 (1E + 5) を 96 ウェル U 底プレートに移し、所望の濃度で、阻害抗体、例えば、抗ヒト IL12R1 Fab またはサイレント IgG1 またはコントロール mAb またはコントロールと共にインキュベートし、シェーカー上で 30 分間 RT でブレインキュベートした。2 μg / ml の抗 - CD3 および抗 - CD28 mAb ならびに 2 ng / ml の組換えヒトサイトカイン IL12 での刺激を、5 % CO₂ インキュベーター中で、37 °C 20 時間 o/n で行った。次の日、上清を 250 g で RT で 5 分間細胞の遠心分離により回収し、新しい 96 ウェルプレートに移し、ELISA 測定のために使用されたか、またはアッセイが行われるまで -20 °C で貯蔵した。

30

【0263】

IFN ELISA のために、上記回収した上清を X - Vivo 15 培地で希釈し、ELISA を Bender Med Systems # BMS228HS または Biologics / Biologics # BLD-430105 の製造業者のプロトコールにしたがって行った。IFN 生産を IFN 標準滴定曲線にしたがって決定した。

40

【0264】

4. ヒト血球の IL23 - 依存性 IFN 生産の阻害

PHA 刺激 PBMC を使用して、別のアッセイ系を試験した。該細胞集団において、レクチン暴露時に T 細胞が増殖し、したがって、該集団における T 細胞の割合が増加する。予備実験において、IL-12、IL-23、IL-18 および LPS 単独または組合せに対するこれらの細胞の応答性を評価し、最適な刺激条件を確立した。IFN - 分泌に対する IL-12 + IL-18 および IL-23 + IL-18 の効果は、それぞれ約 7 ng / ml および 800 pg / ml の誘導であった。

【0265】

あるいは、ヒトドナー血液由来の PBMC を密度勾配で遠心分離により単離し、30 分

50

間 RT で IgG の連続希釈物とインキュベートした。 IL-18 および IL-23 を加え、細胞を 48 時間 37 / 5% CO₂ でインキュベートした。5 倍希釈上清（標準曲線 10 ng / ml - 20 pg / ml の範囲内の濃度をなし遂げるために PBS / 2 mM EDTA において）を取り、標準サンドwich ELISA により IFN- γ を定量した。

【0266】

5. 全血における IL-12 - 依存性 IFN- γ 生産の阻害

ヒトまたはカニクイザル起源の抗凝固血液のアリコートを、U-底 96 ウェルプレート（Costar, 3799）の個々のウェルに分配し、X-vivo 15 培地中の mAb の連続希釈物を加え、30 分間 RT でインキュベートした。ヒトサイトカイン IL-12 および IL-18 を加えた後、細胞を 20 - 24 時間 37 度、5% CO₂ でインキュベートし、上清をサンプリングし、ELISA により IFN- γ を定量した。

【0267】

6. ADCC アッセイ

カルセインと対照的に、そのアセトキシ - メチルエステル（カルセイン - AM）は、細胞膜を通過することができる化合物である。細胞内で、エステル結合は細胞性エステラーゼにより加水分解される。したがって、蛍光カルセインは、細胞内部に捕捉される。それは、膜完全性が妨げられるとき、すなわち細胞が殺されるときのみ、漏出する。カルセイン標識標的細胞は、NK エフェクター細胞に対する標的として働き、上清において測定されるカルセインの量は、抗体調製物が ADCC を媒介する能力に比例する。

【0268】

NK3.3 アッセイのために、2 日間、飢餓培地（IL-2 および IL-10 なし）において NK3.3 細胞を培養することにより飢餓にする必要がある。

【0269】

ヒト IL-12R β 1 トランスフェクトマウス プレ B 細胞をカルセインで標識し、試験される抗体とインキュベートした。CD20 を発現するヒト B 細胞系 Raji および抗 - CD20 mAb を、NK3.3 細胞の殺活性に対するコントロールとして使用する。標識細胞のみからの自発的放出および mAb なしで NK3.3 細胞の添加によるバックグラウンド死もまた、決定する。Trition-X100 での細胞溶解により誘導される全放出との相関関係において、% 特異的溶解を決定する。

【0270】

7. カニクイザル薬物動力学 (PD) アッセイ

ヘパリン化血液サンプルを 96 - U ウェルプレート (1090 μ l / ウェル) に分配した。組換えヒト IL-12 (R&D Systems; 最終 100 ng / ml) および IL-18 (MBL; 最終 50 ng / ml) をそれぞれのウェルに加え、プレートを穏やかに 3 分間攪拌した。6% CO₂ で 37 度 24 時間のインキュベーション後、プレートを 2000 rpm で 10 分間遠心した。血漿を回収し、さらなる処理まで -80 度で維持した。

【0271】

IL-2、TNF- α および IFN- γ 決定を、製造業者 (UcyTech Biosciences, Utrecht) により説明されているとおりに、NHP 特異的 ELISA - キット (CT711、CT148 および CT141) で行った。

【0272】

PD 読み出しのため、INF- γ / ml の pg における結果をそれぞれのサンプル中に見出されるリンパ球数により補正し、最後に pg / 10⁶ リンパ球として表した。

【0273】

8. ラットインビボ適合性アッセイ

ラットに所定量の mAb を注入し、血液サンプルを様々な間隔で取り、ピーク血漿濃度および放出速度をモニターし、血漿半減時間を決定した。ラット標的への交差反応性が予測されないため、標的関連効果（内在化、ターンオーバー）もまた、結果に影響することが予測することができない。

10

20

30

40

50

【0274】

9. C D 4 5 R B h i 移植炎症性腸疾患マウスモデル

体重減少により特徴付けられる疾患を誘発するため、C D 4 + C D 4 5 R B H i リンパ球を F A C S - ソートにより B A L B / c マウス脾臓から単離し、10週齢のメス S C I D マウスに注射した (2×10^5 細胞 / マウス、i.p.) (0日目)。ネガティブコントロールマウスに P B S を i.p. で与える。マウスグループに、1、7、14および21日目に m A b (抗 - I L 1 2 p 4 0 クローン C 1 7 . 8 または抗 - I L 1 2 R 1 抗体またはアイソタイプコントロール) または P B S の皮下または腹腔内注射による処置を与える。試験中および試験終了時点で、それぞれのマウスの体重をモニタリングする。末端大腸の組織学的実験および血清ハプトグロビンの決定を、28日目に検視で決定する。

10

【0275】

10. Biacore 交差ブロッキングアッセイ

以下は、一般的に、抗体または他の結合剤が、本発明の抗体と交差ブロックするか、または交差ブロッキングすることができたか否かを決定するための適当な Biacore アッセイを記載する。アッセイは、本明細書に記載されている I L 1 2 R 1 結合剤のいずれかで使用することができる理解される。

【0276】

Biacore 機械（例えば、BIAcore 3000）は、製造業者の推奨したがって操作される。

20

【0277】

I L 1 2 R 1 細胞外ドメインは、日常的に使用されるアミンカップリング化学、例えば、EDC - N H S アミンカップリングの方法により、例えば CM5 Biacore チップと結合させ、I L 1 2 R 1 被覆表面が作製され得る。測定可能な結合レベルを得るために、一般的に、I L 1 2 R 1 の 2 0 0 - 8 0 0 共鳴ユニットをチップに結合させ得る（この量は、測定可能な結合レベルを与え、同時に、使用されている試験試薬の濃度により容易に飽和化できる）。

【0278】

BIAcore チップに I L 1 2 R 1 を結合する代替方法は、I L 1 2 R 1 の「タグ付け」のバージョン、例えば、N-末端またはC-末端 H i s - タグ化 I L 1 2 R 1 を使用することによる。この形式において、抗 - H i s 抗体は、Biacore チップと結合し、次に、H i s - タグ化 I L 1 2 R 1 は、チップの表面を通過し、抗 - H i s 抗体により捕捉される。

30

【0279】

互いに交差ブロックする能力について評価される2つの抗体は、テスト混合物を作製するために適当なバッファーにおいて結合部位の化学量論量で、例えば、1対1のモル比で混合される。使用されるバッファーは、一般的に、タンパク質化学で通常使用されるバッファー、例えば、P B S (136 mM の N a C l 、2.7 mM の K C l 、10 mM の N a₂H P O₄、1.76 mM の K H₂P O₄、pH 7.4) である。結合部位に基づいて濃度を計算するとき、抗体の分子量は、抗体上の標的（すなわち I L 1 2 R 1 ）結合部位の数で割られた抗体の全分子量であると仮定される。

40

【0280】

試験混合物中のそれぞれの抗体の濃度は、BIAcore チップ上に結合されている I L 1 2 R 1 分子上の抗体に対する結合部位の飽和を保証するために十分に高いはずである。混合物中の抗体は同じモル濃度にあり（結合に基づいて）、濃度は、一般的に、1.0 mM から 1.5 mM（結合部位に基づいて）である。

【0281】

別々の抗体を単独で含む別々の溶液も調製する。これらの別々の溶液に対して使用されるバッファーは、試験混合物に対して使用されるものと同じバッファーで同じ濃度であるべきである。

50

【0282】

試験混合物を I L 1 2 R 1 - 被覆 B I A c o r e チップ上を通過させ、結合を記録する。その後、約1分間、例えば酸、例えば30mMのH C l でチップを処理することにより、結合した抗体を除去した。チップに結合している I L 1 2 R 1 分子が損傷していないことが重要である。

【0283】

次に、一次抗体の溶液単独を、 I L 1 2 R 1 - 被覆表面上を通過させ、結合を記録した。その後、例えば、上記酸処理の方法により、チップ結合 I L 1 2 R 1 を損傷することなく、すべての結合抗体を除去するために、チップを処理する。

【0284】

次に、二次抗体の溶液単独を、 I L 1 2 R 1 - 被覆表面上を通過させ、結合量を記録する。

【0285】

最大理論的結合は、それぞれの抗体の別々の I L 1 2 R 1 への結合の合計として定義することができる。次に、これは、測定される抗体の混合物の実際の結合と比較する。実際の結合が理論的結合よりも低いとき、2つの抗体は、互いに交差ブロッキングしている。

【0286】

11. E l i s a ベースの交差ブロッキングアッセイ

抗 - I L 1 2 R 1 抗体または別の I L 1 2 R 1 結合剤の交差ブロッキングはまた、 E L I S A アッセイを使用することにより検出され得る。

10

【0287】

E L I S A - アッセイの一般原理は、 E L I S A プレートのウェル上に抗 - I L 1 2 R 1 抗体を被覆することを含む。次に、過剰量の第2の潜在的に交差ブロッキングする抗 - I L 1 2 R 1 抗体を溶液に加える（すなわち、 E L I S A プレートに結合しない）。次に、限られた量の I L 1 2 R 1 - F c をウェルに加える。

【0288】

ウェル上に被覆した抗体および溶液中の抗体は、限られた数の I L 1 2 R 1 分子の結合に対して競合する。次に、プレートを洗浄し、被覆された抗体に結合しなかった I L 1 2 R 1 - F c を除去し、第2の溶液相の抗体ならびに第2の溶液相の抗体と I L 1 2 R 1 - F c 間で形成されたあらゆる複合体も除去する。次に、結合した I L 1 2 R 1 の量を、適当な I L 1 2 R 1 検出試薬を使用して測定する。被覆した抗体と交差ブロックすることができる溶液中の抗体は、第2の溶液相の抗体の非存在下で被覆した抗体が結合することができる I L 1 2 R 1 分子の数と比較して、被覆した抗体が結合することができる I L 1 2 R 1 分子の数の減少を引き起こすことができる。

20

【0289】

このアッセイは、 A b - X および A b - Y と称される2つの抗体について以下でさらに詳細に記載されている。 A b - X が固定化された抗体に選択される場合、それは E L I S A プレートのウェル上に被覆され、その後、プレートを適当なブロッキング溶液でブロックし、次に加えられる試薬の非特異的結合を最小限にする。過剰量の A b - Y を、ウェルあたりの A b - Y I L 1 2 R 1 結合部位のモルが、 E L I S A プレートの被覆の間、ウェルあたりに使用される A b - X I L 1 2 R 1 結合部位のモルよりも少なくとも10倍高くなるように E L I S A プレートに加えた。次に、 I L 1 2 R 1 - F c を、ウェルあたりに加えられる I L 1 2 R 1 - F c のモルが、それぞれのウェルを被覆するために使用される A b - X I L 1 2 R 1 結合部位のモルよりも少なくとも25倍低くなるように加えた。適当なインキュベーション期間後、 E L I S A プレートを洗浄し、 I L 1 2 R 1 検出試薬を加え、被覆抗 - I L 1 2 R 1 抗体（この場合、 A b - X ）により特異的に結合される I L 1 2 R 1 の量を測定する。アッセイに対する背景シグナルは、被覆抗体（この場合、 A b - X ）、第2の溶液相抗体（この場合、 A b - Y ）、バッファーのみ（すなわち、 I L 1 2 R 1 なし）および I L 1 2 R 1 検出試薬でウェルにおいて

30

40

50

得られるシグナルとして定義される。アッセイに対する陽性対照シグナルは、被覆抗体（この場合、A b - X）、第2の溶液相抗体バッファーのみ（すなわち、第2の溶液相抗体なし）、IL 12 R 1 および IL 12 R 1 検出試薬でウェルにおいて得られるシグナルとして定義される。ELISAアッセイは、陽性対照シグナルが背景シグナルの少なくとも6倍となるような様式で行う必要がある。

【0290】

被覆抗体として使用する抗体、および第2（競合）抗体として使用する抗体の選択から引き起こされるあらゆるアーティファクト(artifact)（例えば、A b - XとA b - Y間のIL 12 R 1に対する有意に異なる親和性）を避けるために、交差ブロッキングアッセイは、1) A b - XがELISAプレート上に被覆されている抗体であり、A b - Yが溶液中にある競合抗体である形式1、および2) A b - YがELISAプレート上に被覆されている抗体であり、A b - Xが溶液中にある競合抗体である形式2、の2つの形式で実行する必要がある。

10

【0291】

12. 細胞結合アッセイ

選択される抗体の細胞結合を、種々のIL-12R 1を発現する細胞系、例えばキット225またはHSC-F、またはヒトおよびカニクイザルT細胞芽細胞を使用して、フローサイトメトリーを使用して試験する。抗体連続希釈物とのインキュベーション後、細胞の染色を、フローサイトメトリー分析により定量する。

20

【0292】

13. エピトープ結合

エピトープ結合実験を、フローサイトメトリーを使用して行った。キット225細胞を、100倍過剰のFab-フラグメントおよびEC50濃度のIgGとインキュベートした。細胞へのIgG結合を、フローサイトメトリーによりPE-標識Fc-特異的二次抗体で定量した。同じエピトープまたは同じ提示表面への結合に対するFabとIgG間の競合は、すぐ近くの領域において（同じビン）、IgG検出減少をもたらした。

20

【0293】

14. 重角光散乱検出器と連結したサイズ排除クロマトグラフィー（SEC-MALS）

SEC-MALS測定を、三角形光散乱検出器(miniDAWN Treos, Wyatt Technology, Santa Barbara, CA, USA)に連結したAgilent 1200 HPLCシステム(Agilent Technologies)にて行った。サンプルの濃度は、0.186 ml/gの特定の屈折率増加(dn/dc)値を使用して示差屈折計(Optilab rEX, Wyatt Technology)でオンラインで追跡された(Wenら 1996)。50 μlのサンプル容量をSuperdex 200 10/300 GLカラム(GE Healthcare)に注入した。データを記録し、ASTRA Vソフトウェア(Wyatt Technology)を使用して処理した。MALS検出器に対する検出器遅延容量および正規化係数を決定するために、BSAサンプル(Sigma, A8531)を参照として使用した。デスパイキング(despiking)もバンド拡大補正(band broadening correction)も適用しなかった。

30

Wen, J., Arakawa, T., Philo, J.S., 1996. Anal. Biochem. 240, 155-166を参照。

30

【0294】

15. 細胞上清における抗体濃度のインプロセスコントロール（力価）

抗体含有上清の濃度決定を、プロテインAカラムを使用するHP1100 HPLCシステム(Agilent Technologies)で行った。62.5 μlのプロテインAセファロース4ファーストフロー(fast flow)(Amersham Biosciences)をHPLCカートリッジに充填した。ランニングバッファーは50 mMのH₃BO₃、200 mMのNa₂SO₄であり、バッファーAはNaOHを使用してpH 7.5に調整されており、バッファーBはH₂SO₄を使用してpH 2.5に調整されていた。流速は0.75 ml/minであった。一般的に、0.2 mlの上清をプロテインAカラムに注入した。5.5分間バッファーAでリーンした後、結合抗体を2.5分間、バッファーBで溶離した。次のサンプル注射前に、カラムをバッファーAで平衡にした。215 nm UV線をモニタリングし、溶離ビ

40

50

ーク領域または高さを定量のために使用した。培養培地に加えられた異なる量の精製された抗体を有するサンプルから得られた標準曲線を、校正のために使用した。

【0295】

16. ヒト抗体の等電点 (pI) のコンピューター内予測

コンピューター内予測pIを、Markus Heitzmann、Tina Buch、Salvatore Leonardi、Nora EiflerおよびMichael VetschによりNBx-PSP-CPDで開発されたNovartis Biologics pI Calculator version 1.1で完全抗体の一次アミノ酸配列を分析することにより計算した。pK値は、Grimsley GR., Scholtz JM, and Pace CN. (2009) Protein Sci. 2009;18:247-51からである。

10

【0296】

17. プロテインA回収 (%)

多重波長ナノドロップ分光光度計ND1000 (Peqlab) を使用して、280 nmの波長でプロテインA精製後のサンプル抗体の濃度を決定した。プロテインA回収は、プロテインA HPLC (上記) により測定される細胞上清中の精製された抗体の全量および抗体の量の比率である。

【0297】

18. pH7.4でのIgGの融点決定

使用されるシステムは、Thermofluor (登録商標) iQTM 5 Optical System (BioRad Laboratories) であり、使用されるソフトウェアは、iQTM 5 Optical System v2.0であった。96-ウェル白色マイクロプレート(multiplate (登録商標) PCR Plate™)はBiolog (#MPL9561)であった。プレートは、Microseal (登録商標) 'B' Filmで密封した。SYPRO (登録商標) Orange Protein Gel StainはSigma (#S5692)であった。使用前に、濃縮された色素をdH2Oで希釈した(1mlのdH2O中1.4μl)。10μlの抗体サンプルを、10μlの250 mMのナトリウムリン酸バッファー pH7.4、23μlのdH2Oに加え、7μlの希釈された色素を含ませた。最終容量はウェルあたり50μlであった。プレートを、ハンドヘルドシーラー(指紋を回避する)を使用してMicroseal (登録商標) 'B' Filmで密封し、プレートを2分間1000gで遠心した。Tm測定は、温度を90分間20から95へ0.5ずつの増加でThermofluor装置において行った。

20

【0298】

19. pH7.4、pH6.0、pH3.5でFabの融点決定

使用されるシステムは、Thermofluor (登録商標) iQTM 5 Optical System (BioRad Laboratories) であり、使用されるソフトウェアは、iQTM 5 Optical System v2.0であった。96-ウェル白色マイクロプレート(multiplate (登録商標) PCR Plate™)はBiolog (#MPL9561)であった。プレートは、Microseal (登録商標) 'B' Filmで密封した。SYPRO (登録商標) Orange Protein Gel StainはSigma (#S5692)であった。使用前に、濃縮された色素をdH2Oで希釈した(1mlのdH2O中1.4μl)。25μlの大腸菌発現Fabサンプルを、18μlの50 mMのクエン酸塩 pH3.5または100 mMのMES pH6.0またはPBSに加え、最後に7μlの希釈された色素を含ませた。最終容量はウェルあたり50μlであった。プレートを、密封ツールを使用してMicroseal 'B' Adhesive Seals (BioRad、#MSB1001)で密封し、混合し、遠沈した。融解温度を、20から100へ0.5ずつの増加でiQTM 5 Multicolor Real Time PCR Detection Systemにおいてサンプルを加熱することにより測定した。結果は、iQ5を使用して分析した。

30

40

50

【0299】

20. エピトープのアミド水素 / ジュウテリウム交換質量分析マッピング

アミド水素 / ジュウテリウム交換質量分析 (H / D x M S) を使用して、以下の抗体のグループ：(i) mAb 1、mAb 2、mAb 3、mAb 13 (MOR11873)、(ii) mAb 4、mAb 5、mAb 6、mAb 14 (MOR11878)、および(iii) mAb 10、mAb 11、mAb 12、mAb 16 (MOR11880) に対するエピトープに関する情報のために IL12Rベータ1 をプローブした。H / D x M S マッピングは、¹H と ²H (ジュウテリウムとも称され、原子記号 D で省略される) またはジュウテリウムの同位体質量間の質量の違いによる。水 (H₂O) から重水 (D₂O) への変化時、タンパク質の水素原子が重陽子 (すなわち、水素のより重いアイソトープ) で徐々に置き換えられるため、タンパク質は質量における増加を生じる。水素 / ジュウテリウム交換事象の可能性は、生理学的条件下で主にタンパク質構造により決定される。該構造は、所定の位置でのタンパク質の熱力学的安定性および部位特異的溶媒接近性をコントロールする。H / D x M S 技術は、生理学的条件下でタンパク質へのジュウテリウム取り込みに起因するタンパク質のタンパク質分解性フラグメントの質量シフトを測定するために使用される。これらの質量シフトは、間接的に、局所的タンパク質構造的特徴 (幾何学的およびエネルギー的) に折り返し伝えられる。標識分析後に残るように十分に他の部位でジュウテリウム化を安定化することができないため、タンパク質における交換可能な水素のアミド水素のみが H / D x M S 分析において観察される。

【0300】

結合パートナーが抗体標的に結合するとき (例えば抗原 / 抗体相互作用)、水素 / ジュウテリウム交換率における実験的变化は、局所環境の溶媒排除およびエネルギー的安定化の結果として観察され得る。溶媒から排除される表面領域は、はるかにゆっくり、複合体形成交換時に接近する。したがって、交換の減少は、結合部位に対する指標として直接的に使用することができる。具体的には、抗原 - 抗体相互作用において、これらの变化は、エピトープの位置を強調し得る。該解釈は、タンパク質が共同的様式においてリガンド結合に対して応答するため、(幾何学的およびエネルギー的) 变化がタンパク質の他の場所に起こることができる (アロステリックな变化) という事実により複雑化される。水素 - ジュウテリウム交換におけるアロステリックな効果は、幾何学的 / 構造的情報が回収されないとき、質量分析ベースのアッセイにおいて区別することができない。それにもかかわらず、実際には、溶媒排除が、遊離抗原に関するようなタンパク質 - 抗原複合体形成において観察される保護パターンを主に説明し、交換の減少を示すタンパク質上の位置が結合接合面を高度に示すということが観察される。

【0301】

抗体結合後の重陽子取り込みの減少の位置は、標的タンパク質の消化、次に、水素 / ジュウテリウム交換 (例えば適当な酵素、例えば、ペプシンでの)、次に、関連フラグメントの質量シフトを決定するための質量分析により推測され得る。

【0302】

実験的記述：標識実験において、抗原 (IL12Rベータ1) および抗原免疫複合体を、自動液体処理システムを使用してあらかじめ決定された時間、0 で溶液中で交換した。

【0303】

10分の交換期間後、サンプルを、低 pH (約 2.5、これは、pH 7.5 と比較して、アミド - 水素の交換プロセスを 5 枠ゆっくりにする) にクエンチし、過剰の酸性クエンチバッファーの添加により交換を停止し、標識状態を保存する。低 pH へのクエンチは、タンパク質分解 (ペプシン) に対する、および液体クロマトグラフィー質量分析による分析のための標識状態 (半減期 ~ 30 分) の十分な安定化を提供する。

【0304】

抗体 - 抗原複合体と遊離抗原からのフラグメントに対するジュウテリウム化における違いを検査する。マイナスの値は、抗体 - 抗原複合体において溶媒保護を示し、相互作用の

10

20

30

40

50

最も可能性の高い部位として解釈する。

【0305】

この分析の結果は、表13に挙げられているMOR#可変領域MOR11873、MOR11878、MOR11880を有する抗体の3つのグループからの典型的な抗体で行ったとき、以下の表15に提供される。

【0306】

実施例mAb1からmAb16

表6は、実施例mAb1からmAb16の全長重鎖および軽鎖のアミノ酸配列（配列番号）を記載している。

表6：実施例mAb1 - mAb16

10

【表6】

抗体	全長重鎖 アミノ酸配列	全長軽鎖 アミノ酸配列
mAb1	配列番号：57	配列番号：69
mAb2	配列番号：61	配列番号：69
mAb3	配列番号：65	配列番号：69
mAb4	配列番号：58	配列番号：70
mAb5	配列番号：62	配列番号：70
mAb6	配列番号：66	配列番号：70
mAb7	配列番号：59	配列番号：71
mAb8	配列番号：63	配列番号：71
mAb9	配列番号：67	配列番号：71
mAb10	配列番号：60	配列番号：72
mAb11	配列番号：64	配列番号：72
mAb12	配列番号：68	配列番号：72
mAb13	配列番号：90	配列番号：69
mAb14	配列番号：91	配列番号：70
mAb15	配列番号：92	配列番号：71
mAb16	配列番号：93	配列番号：72

20

30

【0307】

実施例mAb1からmAb16は、慣用の抗体組換え生産および精製方法を使用して、生産することができる。例えば、表7において定義されるコード配列を、哺乳動物生産細胞系における組換え発現のための生産ベクターにクローニングする。

表7：mAb1 - mAb16のコードDNA配列

【表7】

実施例	全長重鎖 DNAコード配列	全長軽鎖 DNAコード配列
mAb 1	配列番号：73	配列番号：85
mAb 2	配列番号：77	配列番号：85
mAb 3	配列番号：81	配列番号：85
mAb 4	配列番号：74	配列番号：86
mAb 5	配列番号：78	配列番号：86
mAb 6	配列番号：82	配列番号：86
mAb 7	配列番号：75	配列番号：87
mAb 8	配列番号：79	配列番号：87
mAb 9	配列番号：83	配列番号：87
mAb 10	配列番号：76	配列番号：88
mAb 11	配列番号：80	配列番号：88
mAb 12	配列番号：84	配列番号：88
mAb 13	配列番号：94	配列番号：85
mAb 14	配列番号：95	配列番号：86
mAb 15	配列番号：96	配列番号：87
mAb 16	配列番号：97	配列番号：88

10

20

30

40

【0308】

IL12R-1と同じ結合特性を実質的に保持する他の抗体は、mAb 1からmAb 16のいずれか1つの同じV_HおよびV_L領域ならびに異なる定常領域（例えば、異なるアイソタイプ、例えばIgG4またはIgG2から選択される異なるFc領域）を保持するmAb 1からmAb 16のいずれか1つのキメラ抗体を含む。

【0309】

表8は、mAb 1からmAb 16由来のキメラ抗体を作製するために使用することができるmAb 1からmAb 16の可変重鎖（V_H）および軽鎖（V_L）アミノ酸配列を要約する。

表8：可変重鎖（V_H）および軽鎖（V_L）アミノ酸配列

【表8】

元の抗体	可変重鎖アミノ酸配列	可変軽鎖アミノ酸配列
mAb 1、mAb 2、mAb 3、mAb 13	配列番号：49	配列番号：50
mAb 4、mAb 5、mAb 6、mAb 14	配列番号：51	配列番号：52
mAb 7、mAb 8、mAb 9、mAb 15	配列番号：53	配列番号：54
mAb 10、mAb 11、mAb 12、mAb 16	配列番号：55	配列番号：56

【0310】

mAb 1-mAb 16と同様のIL12R-1に対する結合特性を実質的に保持する他の抗体の例は、異なるフレームワークおよび/または定常領域を有するmAb 1からmAb 16のいずれか1つのCDR領域を保持する、CDR移植によるmAb 1からmAb 16のいずれか1つのCDR移植抗体を含む。

【0311】

50

表9は、mAb1からmAb16のCDR領域がKabat定義にしたがって定義される代替CDR移植抗体を作製するためのmAb1からmAb16の有用なCDR配列を要約する。

表10は、mAb1からmAb16のCDR領域がChothia定義にしたがって定義される代替CDR移植抗体を作製するためのmAb1からmAb16の有用なCDR配列を要約する。

表9：mAb1からmAb16のCDR領域は、Kabat定義にしたがって定義される
【表9】

元の抗体	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
mAb1、mAb2、mAb3、mAb13	配列番号:1	配列番号:2	配列番号:3	配列番号:4	配列番号:5	配列番号:6
mAb4、mAb5、mAb6、mAb14	配列番号:7	配列番号:8	配列番号:9	配列番号:10	配列番号:11	配列番号:12
mAb7、mAb8、mAb9、mAb15	配列番号:13	配列番号:14	配列番号:15	配列番号:16	配列番号:17	配列番号:18
mAb10、mAb11、mAb12、mAb16	配列番号:19	配列番号:20	配列番号:21	配列番号:22	配列番号:23	配列番号:24

表10：mAb1からmAb16のCDR領域は、Chothia定義にしたがって定義される

【表10】

元の抗体	HCDR1'	HCDR2'	HCDR3'	LCDR1'	LCDR2'	LCDR3'
mAb1、mAb2、mAb3、mAb13	配列番号:25	配列番号:26	配列番号:27	配列番号:28	配列番号:29	配列番号:30
mAb4、mAb5、mAb6、mAb14	配列番号:31	配列番号:32	配列番号:33	配列番号:34	配列番号:35	配列番号:36
mAb7、mAb8、mAb9、mAb15	配列番号:37	配列番号:38	配列番号:39	配列番号:40	配列番号:41	配列番号:42
mAb10、mAb11、mAb12、mAb16	配列番号:43	配列番号:44	配列番号:45	配列番号:46	配列番号:47	配列番号:48

【0312】

抗-IL12Rベータ1 mAbの作製

一旦、本明細書に記載されている所望の特性を有する单一の典型的な抗-ヒト-IL12Rベータ1抗体、例えばmAb1から16のいずれか1つが単離されれば、当分野で既知の方法を使用することにより、同様の特性を有する他の抗体を作製することは容易である。例えば、マウスをIL12Rベータ1で免疫化し、ハイブリドーマを生産し、得られた抗体を配列番号：89のIL12Rベータ1ポリペプチドへの結合についてスクリーニングし得る。あるいは、ファージディスプレイ方法論を使用して、配列番号：89のIL

10

20

30

40

50

I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドに対する特異性を有する他の抗体を作製し得る。

【 0 3 1 3 】

次に、配列番号：8 9 の I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドに対する特異性を有するこのような他の抗体を、以下の 1 つ以上の特性：表面プラズモン共鳴 (Biacore system) を使用して 1 n M 以下の K D、インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：8 9 の I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドへの I L 1 2 および / または I L 2 3 の結合の阻害、表面プラズモン共鳴 (Biacore system) または E l i s a ベースの交差ブロッキングアッセイを使用して測定されるとき、I L 1 2 R ベータ 1 への結合について典型的な m A b と競合する能力、アミド水素 / ジュウテリウム交換質量分析を使用して測定されるとき、同じエピトープ内への、または該エピトープへの結合についてスクリーニングすることができる。あるいは、出典明示により本明細書に包含させる Jespers ら Biotechnology 12:899, 1994 の方法は、典型的な m A b 、例えば、m A b 1 から 1 6 のいずれか 1 つのものと同じエピトープ、したがって同様の特性を有する m A b の選択を導くために使用され得る。ファージディスプレイを使用して、典型的な抗体の第 1 の重鎖を（好ましくはヒト）軽鎖のレパートリーと対にし、I L 1 2 R ベータ 1 に結合する m A b を選択し、次に、新規軽鎖を（好ましくはヒト）重鎖のレパートリーと対にし、典型的な m A b と同じエピトープを有する（好ましくはヒト）I L 1 2 R ベータ 1 に結合する m A b を選択する。
。

10

【 0 3 1 4 】

例えば、本明細書に記載されているエピトープ内または該エピトープへ結合する他の抗体を同定するために、抗体を上記のとおりに作製し、次に、アミド水素 / ジュウテリウム交換質量分析を使用してエピトープへの結合、または該エピトープ内の結合についてスクリーニングすることができる。あるいは、I L 1 2 R ベータ 1 への結合に対して典型的な m A b と競合する他の抗体を同定するために、抗体を上記のとおりに作製し、次に、表面プラズモン共鳴 (Biacore system) または E l i s a ベースの交差ブロッキングアッセイを使用して競合についてスクリーニングすることができる。

20

【 0 3 1 5 】

本明細書に記載されている機能特性を有する他の抗体を同定するために、抗体を上記のとおりに作製し、次に、表面プラズモン共鳴 (Biacore system) を使用して 1 n M 以下の K D、および、インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：8 9 の I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドへの I L 1 2 および / または I L 2 3 の結合の阻害についてスクリーニングすることができる。

30

【 0 3 1 6 】

本明細書に記載されている機能特性を有し、本明細書に記載されているエピトープ内または該エピトープへ結合する他の抗体を同定するために、抗体を上記のとおりに作製し、表面プラズモン共鳴 (Biacore system) を使用して 1 n M 以下の K D、および、インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：8 9 の I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドへの I L 1 2 および / または I L 2 3 の結合の阻害についてスクリーニングし、アミド水素 / ジュウテリウム交換質量分析を使用してエピトープへの結合、または該エピトープ内の結合についてスクリーニングすることができる。

40

【 0 3 1 7 】

本明細書に記載されている機能特性を有し、I L 1 2 R ベータ 1 への結合について典型的な m A b と競合する他の抗体を同定するために、抗体を上記のとおりに作製し、表面プラズモン共鳴 (Biacore system) を使用して 1 n M 以下の K D についてスクリーニングし、インビトロ競合的結合アッセイにおいて測定されたとき、配列番号：8 9 の I L 1 2 R ベータ 1 ポリペプチドへの I L 1 2 および / または I L 2 3 の結合の阻害についてスクリーニングし、表面プラズモン共鳴 (Biacore system) または E l i s a ベースの交差ブロッキングアッセイを使用して競合についてスクリーニングすることができる。

表 1 1 : 本発明を実施するために有用なアミノ酸およびヌクレオチド配列の簡単な説明

【表11-1】

配列番号：	配列の記載
1	Kabat定義にしたがってMOR11873のHCDR1アミノ酸配列
2	Kabat定義にしたがってMOR11873のHCDR2アミノ酸配列
3	Kabat定義にしたがってMOR11873のHCDR3アミノ酸配列
4	Kabat定義にしたがってMOR11873のLCDR1アミノ酸配列
5	Kabat定義にしたがってMOR11873のLCDR2アミノ酸配列
6	Kabat定義にしたがってMOR11873のLCDR3アミノ酸配列
7	Kabat定義にしたがってMOR11878のHCDR1アミノ酸配列
8	Kabat定義にしたがってMOR11878のHCDR2アミノ酸配列
9	Kabat定義にしたがってMOR11878のHCDR3アミノ酸配列
10	Kabat定義にしたがってMOR11878のLCDR1アミノ酸配列
11	Kabat定義にしたがってMOR11878のLCDR2アミノ酸配列
12	Kabat定義にしたがってMOR11878のLCDR3アミノ酸配列
13	Kabat定義にしたがってMOR11879のHCDR1アミノ酸配列
14	Kabat定義にしたがってMOR11879のHCDR2アミノ酸配列
15	Kabat定義にしたがってMOR11879のHCDR3アミノ酸配列

10

20

30

【表11-2】

16	Kabat定義にしたがってMOR11879のLCDR1アミノ酸配列	
17	Kabat定義にしたがってMOR11879のLCDR2アミノ酸配列	
18	Kabat定義にしたがってMOR11879のLCDR3アミノ酸配列	
19	Kabat定義にしたがってMOR11880のHCDR1アミノ酸配列	10
20	Kabat定義にしたがってMOR11880のHCDR2アミノ酸配列	
21	Kabat定義にしたがってMOR11880のHCDR3アミノ酸配列	
22	Kabat定義にしたがってMOR11880のLCDR1アミノ酸配列	
23	Kabat定義にしたがってMOR11880のLCDR2アミノ酸配列	
24	Kabat定義にしたがってMOR11880のLCDR3アミノ酸配列	20
25	Chothia定義にしたがってMOR11873のHCDR1'アミノ酸配列	
26	Chothia定義にしたがってMOR11873のHCDR2'アミノ酸配列	
27	Chothia定義にしたがってMOR11873のHCDR3'アミノ酸配列	
28	Chothia定義にしたがってMOR11873のLCDR1'アミノ酸配列	
29	Chothia定義にしたがってMOR11873のLCDR2'アミノ酸配列	30
30	Chothia定義にしたがってMOR11873のLCDR3'アミノ酸配列	

【表11-3】

3 1	Chothia定義にしたがってMOR11878のHCDR1 'アミノ酸配列	
3 2	Chothia定義にしたがってMOR11878のHCDR2 'アミノ酸配列	
3 3	Chothia定義にしたがってMOR11878のHCDR3 'アミノ酸配列	
3 4	Chothia定義にしたがってMOR11878のLCDR1 'アミノ酸配列	10
3 5	Chothia定義にしたがってMOR11878のLCDR2 'アミノ酸配列	
3 6	Chothia定義にしたがってMOR11878のLCDR3 'アミノ酸配列	
3 7	Chothia定義にしたがってMOR11879のHCDR1 'アミノ酸配列	
3 8	Chothia定義にしたがってMOR11879のHCDR2 'アミノ酸配列	
3 9	Chothia定義にしたがってMOR11879のHCDR3 'アミノ酸配列	20
4 0	Chothia定義にしたがってMOR11879のLCDR1 'アミノ酸配列	
4 1	Chothia定義にしたがってMOR11879のLCDR2 'アミノ酸配列	
4 2	Chothia定義にしたがってMOR11879のLCDR3 'アミノ酸配列	
4 3	Chothia定義にしたがってMOR11880のHCDR1 'アミノ酸配列	
4 4	Chothia定義にしたがってMOR11880のHCDR2 'アミノ酸配列	30
4 5	Chothia定義にしたがってMOR11880のHCDR3 'アミノ酸配列	

【表11-4】

4 6	Chothia定義にしたがってMOR11880のLCDR1 'アミノ酸配列
4 7	Chothia定義にしたがってMOR11880のLCDR2 'アミノ酸配列
4 8	Chothia定義にしたがってMOR11880のLCDR3 'アミノ酸配列
4 9	MOR11873のV _H アミノ酸配列
5 0	MOR11873のV _L アミノ酸配列
5 1	MOR11878のV _H アミノ酸配列
5 2	MOR11878のV _L アミノ酸配列
5 3	MOR11879のV _H アミノ酸配列
5 4	MOR11879のV _L アミノ酸配列
5 5	MOR11880のV _H アミノ酸配列
5 6	MOR11880のV _L アミノ酸配列
5 7	IgG1 LALA Fc変異体を有するMOR11873の全長重鎖
5 8	IgG1 LALA Fc変異体を有するMOR11878の全長重鎖
5 9	IgG1 LALA Fc変異体を有するMOR11879の全長重鎖
6 0	IgG1 LALA Fc変異体を有するMOR11880の全長重鎖
6 1	IgG1 D265A Fc変異体を有するMOR11873の全長重鎖
6 2	IgG1 D265A Fc変異体を有するMOR11878の全長重鎖
6 3	IgG1 D265A Fc変異体を有するMOR11879の全長重鎖
6 4	IgG1 D265A Fc変異体を有するMOR11880の全長重鎖
6 5	IgG1 N297A Fc変異体を有するMOR11873の全長重鎖

10

20

30

【表11-5】

6 6	IgG1 N297A Fc変異体を有するMOR11878の全長重鎖	
6 7	IgG1 N297A Fc変異体を有するMOR11879の全長重鎖	
6 8	IgG1 N297A Fc変異体を有するMOR11880の全長重鎖	
6 9	MOR11873の全長軽鎖	10
7 0	MOR11878の全長軽鎖	
7 1	MOR11879の全長軽鎖	
7 2	MOR11880の全長軽鎖	
7 3	IgG1 LALA Fc変異体を有するMOR11873の全長重鎖をコードするスクレオチド配列	
7 4	IgG1 LALA Fc変異体を有するMOR11878の全長重鎖をコードするスクレオチド配列	
7 5	IgG1 LALA Fc変異体を有するMOR11879の全長重鎖をコードするスクレオチド配列	
7 6	IgG1 LALA Fc変異体を有するMOR11880の全長重鎖をコードするスクレオチド配列	20
7 7	IgG1 D265A Fc変異体を有するMOR11873の全長重鎖をコードするスクレオチド配列	
7 8	IgG1 D265A Fc変異体を有するMOR11878の全長重鎖をコードするスクレオチド配列	
7 9	IgG1 D265A Fc変異体を有するMOR11879の全長重鎖をコードするスクレオチド配列	
8 0	IgG1 D265A Fc変異体を有するMOR11880の全長重鎖をコードするスクレオチド配列	
8 1	IgG1 N297A Fc変異体を有するMOR11873の全長重鎖をコードするスクレオチド配列	30
8 2	IgG1 N297A Fc変異体を有するMOR11878の全長重鎖をコードするスクレオチド配列	
8 3	IgG1 N297A Fc変異体を有するMOR11879の全長重鎖をコードするスクレオチド配列	
8 4	IgG1 N297A Fc変異体を有するMOR11880の全長重鎖をコードするスクレオチド配列	
8 5	MOR11873の全長軽鎖をコードするスクレオチド配列	

【表11-6】

8 6	MOR11878の全長軽鎖をコードするヌクレオチド配列
8 7	MOR11879の全長軽鎖をコードするヌクレオチド配列
8 8	MOR11880の全長軽鎖をコードするヌクレオチド配列
8 9	ヒトIL12Rベータ1のアミノ酸配列
9 0	IgG1 Fc 野生型を有するMOR11873の全長重鎖
9 1	IgG1 Fc 野生型を有するMOR11878の全長重鎖
9 2	IgG1 Fc 野生型を有するMOR11879の全長重鎖
9 3	IgG1 Fc 野生型を有するMOR11880の全長重鎖
9 4	野生型IgG1を有するMOR11873の全長重鎖をコードするヌクレオチド配列
9 5	野生型IgG1を有するMOR11878の全長重鎖をコードするヌクレオチド配列
9 6	野生型IgG1を有するMOR11879の全長重鎖をコードするヌクレオチド配列
9 7	野生型IgG1を有するMOR11880の全長重鎖をコードするヌクレオチド配列
9 8	カニクイザルIL12R β 1アミノ酸配列
9 9	ヒトp40サブユニットアミノ酸配列
100	ヒトp35サブユニットアミノ酸配列
101	ヒトp19サブユニットアミノ酸配列

10

20

【0318】

表12：本発明を実施するために有用なアミノ酸およびヌクレオチド配列

【表 12 - 1】

配列番号	以下にアミノ酸またはヌクレオチド配列を記載
1	SYGMS
2	GISYSGSDTEYADSVKG
3	SPDYIIDYGF DY
4	RASQGISSDLA
5	DASSLQS
6	QQYWYPFT
7	SYGMS
8	GISYDASDTEYADSVKG
9	SPDYIIDYGF DY
10	RASQGISSDLA
11	DASSLQS
12	QQYWYPFT
13	GYYMH
14	MIGPQHGEAIYAQKFQG
15	ESTDSDESPFDY
16	SGDNIRSYVVS
17	DDSDRPS
18	QSYGSHSNFVV
19	GYYMH
20	MIGPQHGEAIYAQKFQG
21	ESTDSDESPFDY
22	SGDNIRSYVVS
23	DDSDRPS
24	QSYGSHSNFVV
25	GFTFTSY
26	SYSGSD
27	SPDYIIDYGF DY
28	SQGISSD
29	DAS
30	YWIYPF
31	GFTFTSY
32	SYDASD
33	SPDYIIDYGF DY
34	SQGISSD
35	DAS
36	YWWYPF
37	GYTFTGY
38	GPQHGE
39	ESTDSDESPFDY
40	DNIRSYY
41	DDS
42	YGSHSNFV
43	GYTFTGY
44	GPQHGE
45	ESTDSDESPFDY
46	DNIRSYY

10

20

30

40

【表12-2】

47	DDS	
48	YGSHSNFV	
49	QVQLVESGGVVQPGRLRLSCAASGFTFTSYGMSWRQAPGKGLEWA GISYSGSDTEYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSP DYIIDYGFDTWGRGLTVSS	
50	AIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQGISSDLAWYQQKPGKAPKLLIYDAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYWIPFTFGQGTK VEIK	
51	QVQLVESGGVVQPGRLRLSCAASGFTFTSYGMSWRQAPGKGLEWA GISYDASDTEYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPD YIIDYGFDTWGRGLTVSS	10
52	AIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQGISSDLAWYQQKPGKAPKLLIYDAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYWIPFTFGQGKT KVEIK	
53	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWWRQAPGQGLEWM GMIGPQHGEAIYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSEDTAVYYCARE STDSDSPFDYWQGTLTVSS	
54	DIELTQPPSVSVPQTASITCSGDNRISYYVSWYQQKPGQAPVLVIYDDSD RPSGIPERFSGNSNGNTATLTISGTQAEDADEADYYCQSYGSHSNFVVFGGGT KLTVL	
55	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWWRQAPGQGLEWM GMIGPQHGEAIYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARE STDSDSPFDYWQGTLTVSS	20
56	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNRISYYVSWYQQKPGQAPVLVIYDDSD RPSGIPERFSGNSNGNTATLTISRAQAGDEADYYCQSYGSHSNFVVFGGGT KLTVL	
57	QVQLVESGGVVQPGRLRLSCAASGFTFTSYGMSWRQAPGKGLEWA GISYSGSDTEYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSP DYIIDYGFDTWGRGLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKD YFPEPVTVWSNNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYIC VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAAGGPSVFLPPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	30
58	QVQLVESGGVVQPGRLRLSCAASGFTFTSYGMSWRQAPGKGLEWA GISYDASDTEYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPD YIIDYGFDTWGRGLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDY FPEPVTVWSNNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAAGGPSVFLPPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	40
59	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWWRQAPGQGLEWM GMIGPQHGEAIYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSEDTAVYYCARE STDSDSPFDYWQGTLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLV KDYFPEPVTVWSNNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQ YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAAGGPSVFLPPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	

【表 1 2 - 3】

60	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYMHWRQAPGQGLEWM GMIGPQHGEAIYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARE STDSDESPFDYWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCPCPAPEAAGGPSVFLPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDEPKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	10
61	QVQLVESGGVVQPGRLRLSCAASGFTFTSYGMSWRQAPGKGLEWA GISYSGSDTEYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSP DYIIDYGFDYWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	20
62	QVQLVESGGVVQPGRLRLSCAASGFTFTSYGMSWRQAPGKGLEWA GISYDASDTEYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPD YIIDYGFDYWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVAVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	30
63	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYMHWRQAPGQGLEWM GMIGPQHGEAIYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARE STDSDESPFDYWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	40
64	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYMHWRQAPGQGLEWM GMIGPQHGEAIYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARE STDSDESPFDYWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	

【表 12 - 4】

65	QVQLVESGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFTSYGMSW/RQAPGKGLEWA GISYSGSDTEYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSP DYIIDYGF DYWG RGT LTVSSA STKG PSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNH KPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVV DVSHEDPEV KFNWYV DGVEV HNA KT KPRE EQYASTYR VVS VTLV LH QDW LNGKEY KCK VSN KAL PAPI EKT ISAK GQ PREP QV YTL PP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWE SNGQ PENNY KTPP VL DSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	10
66	QVQLVESGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFTSYGMSW/RQAPGKGLEWA GISYDASDTEYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPD YIIDYGF DYWG RGT LTVSSA STKG PSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVV DVSHEDPEV KFNWYV DGVEV HNA KT KPRE EQYASTYR VVS VTLV LH QDW LNGKEY KCK VSN KAL PAPI EKT ISAK GQ PREP QV YTL PPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWE SNGQ PENNY KTPP VL DSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	20
67	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSKASGYTFTGYYMHW/RQAPGQGLEWM GMIGPQHGEAIYAQKFQGRVTMTRDT SISTAYMELSRLRSEDTAVYYCARE STDSDSPFDYWGQGTLTVSSA STKG PSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVN HKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVV DVSHEDPEV KFNWYV DGVEV HNA KT KPRE EQYAST YRVVSVLTVLH QDW LNGKEY KCK VSN KAL PAPI EKT ISAK GQ PREP QV YTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWE SNGQ PENNY KTPP VL DSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	30
68	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSKASGYTFTGYYMHW/RQAPGQGLEWM GMIGPQHGEAIYAQKFQGRVTMTRDT SISTAYMELSRLRSEDTAVYYCARE STDSDSPFDYWGQGTLTVSSA STKG PSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVN HKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVV DVSHEDPEV KFNWYV DGVEV HNA KT KPRE EQYAST YRVVSVLTVLH QDW LNGKEY KCK VSN KAL PAPI EKT ISAK GQ PREP QV YTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWE SNGQ PENNY KTPP VL DSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	40
69	AIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQGISSDLAWYQQKPGKAPKLLIYDAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQYWIYPFTFGQGKT VEIKRTVAAPS VIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFRGEC	
70	AIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQGISSDLAWYQQKPGKAPKLLIYDAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQYWIYPFTFGQGKT KVEIKRTVAAPS VIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQ QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT TKSFNRGEC	
71	DIELTQPPSVSVPQQTASITCSGDNI RSYYV SWYQQKPGQAPVLVIYDDSD RPSGIPERFSGNSGNTATLTISGTQA EDEADYYCQS YGSHSNFV VF GG KLT VLGQPKAAPS VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGAVTV AWKA DSS PVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVE KTVAPTECS	

【0320】

【表 1 2 - 5】

72	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNIRSYVSWYQQKPGQAPVLVIYDDSD RPSGIPERFSGNSGNTATLTISRAQAGDEADYYCQSYGSHSNFVVFGGGT KLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAUTVAWKADSS PVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS
73	cagggtcaattgggaaaagcgccggaggcggtggcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgcc gccagcggtcacccaccaggactacggcatgagctgggtccgacaggcccctggcaaggggctggaaat gggtggccggcatcagactacagccggcagcgacaccgagtgccgacagcgtgaagggccgggtcac catcagccggacaacacagcaagaacacccctgtacctgcagatgaacacgcctgccccggaggacacc gccgtgtactactgcgccagaagccccgactacatcatcgtactacggctcgtactactggggcagaggca ccctggtcaccgtcagctcgcctccaccaagggtccatggcttcccccggcaccctcccaagagca cctctggggcacagccggctggctgcctgtcaaggactactccccaaccgggtacgggtcgtgg aactcaggccctgaccagcggcgtgcacacccctggctgcctacagtccctcaggactactccctc agcagcgtgggaccgtcagcgtccacccatggcttcccccggcaccctacatctcaacgtgaatcacaagc ccagcaacaccaagggtgacaagagagttggccaaatctgtgacaaaactcacatgcccaccgt gcccagcacctgaagcagccccggaccgtcagttcccttcccccggcaccctcccaagagca gatctccggaccctgagggtcagatgtggcttcccccggcaccctcccaagagca aactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcggaggaggcagtgactacaaca gcacgtaccgggtggcagcgtccctaccgtcaccaggactggctgaatggcaaggaggtaactg caagggtctcaacaaagccctcccgatccggcaccatctcaagccaaagggcagcccc gagaaccacagggtacaccctgccccatccggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgacc tgcctggtcaaaggcttatcccgacatcgccgtggagtgccaaatggcagccggagaac aactacaagaccacgcctcccgatccggactccgacggcttccctctacagcaagctcaccgtggac aagagcagggtggcagcaggaaacgtcttcatgtccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactaca cgcagaagagcctccctgtctccggtaaa
74	cagggtcaattgggaaaagcgccggaggcggtggcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgcc gccagcggtcacccaccaggactacggcatgagctgggtccgacaggcccctggcaaggggctggaaat gggtggccggcatcagactacggccaggcagaccgtacggccgacagcgtgaagggccgggtcac atcagccggacaacacagcaagaacacccctgtacctgcagatgaacacgcctgccccggaggacacc ccgtgtactactgcgccagaagccccgactacatcatcgtactacggctcgtactactggggcagaggcac ccctggtcaccgtcagctcgcctccaccaagggtccatggcttcccccggcaccctcccaagagcac ctctggggcacagccggctggctgcctgtcaaggactactccccaaccgggtacgggtcgtgg aactcaggccctgaccagcggcgtgcacacccctggctgcctacagtccctcaggactactccctc agcagcgtgggaccgtccctcccgacatcgccgtggcttcccccggcaccctacatctcaacgtgaatcacaagc ccagcaacaccaagggtgacaagagagttggccaaatctgtgacaaaactcacatgcccaccgt gcccagcacctgaagcagccccggaccgtcagttcccttcccccggcaccctcccaagagca gatctccggaccctgagggtcagatgtggcttcccccggcaccctcccaagagca aactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcggaggaggcagtgactacaaca gcacgtaccgggtggcagcgtccctaccgtcaccaggactggctgaatggcaaggaggtaactg caagggtctcaacaaagccctcccgatccggcaccatctcaagccaaagggcagcccc gagaaccacagggtacaccctgccccatccggaggagatgaccaagaaccagggtcagcctgacc tgcctggtcaaaggcttatcccgacatcgccgtggagtgccaaatggcagccggagaac aactacaagaccacgcctcccgatccggactccgacggcttccctctacagcaagctcaccgtggac aagagcagggtggcagcaggaaacgtcttcatgtccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactaca cgcagaagagcctccctgtctccggtaaa

10

20

30

40

【表 1 2 - 6】

【 0 3 2 1 】

【表 12 - 7】

77	caggtcaattgggaaaagcggcgaggcgtggcagccctggcagaaggctgagactgagctgtgcc gccagcggttcacccaccagactacggcatgagctgggtccgacaggcccctggcaagggcctggaaat gggtggccggcatcagactacagcgccagcgcacaccgagatcgcgcacagcgtgaagggccgggtcac catcagccggacaacagaagaacaccctgtacctgcagatgaacagcctgcggccgaggacacc gccgtactactgcgccagaagccccgactacatcatgcactacgcgtcactactggggcagaggca ccctggtacccgtcagctcgcctccaccaagggtccatcggtttccctggcaccctccccaagagca cctctggggcacagcggccctggctgcctggtaaggactacttcccgaaaccgtgacggtgtcgtgg aactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacccctggctgcctacagtcctcaggactactccctc agcagcgtggtaccgtgcctccagcagctgggcaccagacccatctgcacgtgaatcacaagc ccagcaacaccaagggtggacaagagagtttagccaaatctgtgacaaaactcacatgcccacgt gcccagcacctgaactcctgggggaccgtcagtcctccatcccccacccatggcaggacaccctcatg atctcccgacccctgaggtcacatgcgtgggtggccgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttca actggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcaagacaaagccgcgggaggaggcagttacaacag cacgtaccgggtggtcagcgtccaccgtctgcaccaggactggctgaatgcaaggagtacaatgc aaggltccaacaaagccctccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcccg agaaccacagggtgtacccctgccccatcccgaggagatgaccaagaaccaggcgtcgcctgaccc gcctggtcaaaggcttatcccgacatgcgtggagtggagagcaatggcagccggagaaca actacaagaccacgcctccgtctggactccgcacggccttcctctacagcaagctcaccgtggaca agagcaggtggcagcagggaaacgtctctcatgcctccgtatgcacggctctgcacaaccactacac gcagaagagcctccctgtctccggtaaa	10
78	caggtcaattgggaaaagcggcgaggcgtggcagccctggcagaaggctgagactgagctgtgcc gccagcggttcacccaccagactacggcatgagctgggtccgacaggcccctggcaagggcctggaaat gggtggccggcatcagactacgcgcagcgcacaccgagatcgcgcacagcgtgaagggccgggtcac atcagccggacaacagaagaacaccctgtacctgcagatgaacagcctgcggccgaggacacc ccgtgtactactgcgccagaagccccgactacatcatgcactacgcgtcactactggggcagaggc ccctggtacccgtcagctcgcctccaccaagggtccatcggtttccctggcaccctccccaagagca ctctggggcacagcggccctggctgcctggtaaggactacttcccgaaaccgtgacggtgtcgtgg aactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacccctggctgcctacagtcctcaggactactccctc agcagcgtggtaccgtgcctccagcagctgggcaccagacccatctgcacgtgaatcacaagc ccagcaacaccaagggtggacaagagagtttagccaaatctgtgacaaaactcacatgcccacgt gcccagcacctgaactcctgggggaccgtcagtcctccatcccccacccatggcaggacaccctcatg atctcccgacccctgaggtcacatgcgtgggtggccgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttca actggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgcaagacaaagccgcgggaggaggcagttacaacag cacgtaccgggtggtcagcgtccaccgtctgcaccaggactggctgaatgcaaggagtacaatgc aaggltccaacaaagccctccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcccg agaaccacagggtgtacccctgccccatcccgaggagatgaccaagaaccaggcgtcgcctgaccc gcctggtcaaaggcttatcccgacatgcgtggagtggagagcaatggcagccggagaaca actacaagaccacgcctccgtctggactccgcacggccttcctctacagcaagctcaccgtggaca agagcaggtggcagcagggaaacgtctctcatgcctccgtatgcacggctctgcacaaccactacac gcagaagagcctccctgtctccggtaaa	20 30

【表 12-8】

【 0 3 2 2 】

【表 1 2 - 9】

81	caggtgcaattggggaaagcggcgaggcgtggcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgcc gccagcggttcacccatcaccagactacggcatgagctgggtccgcacaggcccctggcaaggccctggaaat gggtggccggcatcagactacggcagcgcacaccgagatcgcgcacagcgtgaaggccgggtcac catcagccggacaacagaagaacaccctgtacctgcagatgaacagcctgcggccgaggacacc gcgcgtactactgcgcagaagccccactacatcatcgcactacggctcgactactggggcagaggca ccctggtcaccgtcagctcgcctccaccaagggtccatcggttccctggcaccctctccaagagca cctctggggcacagcggccctggctgcctggtaaggactactccccaacccgtacgggtgcgggtgg aactcaggcgcctgaccagcgcgtgcacacccctggctgccttcacgtcctcaggactactccctc agcagcgtggtaccgtgcctccagcagctgggcacccagacatctgcacacgtgaatcacaagc ccagcaacaccaagggtggacaagagagttagccaaatctgtgacaaaactcacatgcccaccgt gcccagcacctgaactccctgggggaccgtcagtcctccatcccccacaaaacccaaaggacaccctcatg atctcccgacccctgaggtcacatgcgtgggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttca actggtagtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcggaggagcgtacgc cacgtaccgggtggtcagcgtccaccgtcgcaccaggactggctgaatggcaaggagatacaagtgc aagggtccaaacaaagcccccacccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccc agaaccacagggtgtacaccctgccccatcccccggaggagatgaccaagaaccagggtcagc gcctggtcaaaggctctatcccgacgcacatgcgcgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaaca actacaagaccacgcctcccgactggactccgacggcttccttcctacagcaagctcaccgtggaca agagcaggtggcagcaggggaacgtcttcatgcgcgtgatgcacggctctgcacaaccactacac gcagaagagcctccctgtctccggtaaa	10
82	caggtgcaattggggaaagcggcgaggcgtggcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgcc gccagcggttcacccatcaccagactacggcatgagctgggtccgcacaggcccctggcaaggccctggaaat gggtggccggcatcagactacgcgcagcgcacaccgagatcgcgcacagcgtgaaggccgggtcac atcagccggacaacagaagaacaccctgtacctgcagatgaacagcctgcggccgaggacacc ccgtgtactactgcgcagaagccccactacatcatcgcactacggctcgactactggggcagaggcac ccctggtcaccgtcagctcgcctccaccaagggtccatcggttccctggcaccctctccaagagcac ctctggggcacagcggccctggctgcctggtaaggactactccccaacccgtacgggtgcgggtgg aactcaggcgcctgaccagcgcgtgcacacccctggctgccttcacgtcctcaggactactccctc agcagcgtggtaccgtgcctccagcagctgggcacccagacatctgcacacgtgaatcacaagc ccagcaacaccaagggtggacaagagagttagccaaatctgtgacaaaactcacatgcccaccgt gcccagcacctgaactccctgggggaccgtcagtcctccatcccccacaaaacccaaaggacaccctcatg atctcccgacccctgaggtcacatgcgtgggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttca actggtagtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcggaggagcgtacgc cacgtaccgggtggtcagcgtccaccgtcgcaccaggactggctgaatggcaaggagatacaagtgc aagggtccaaacaaagcccccacccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccc agaaccacagggtgtacaccctgccccatcccccggaggagatgaccaagaaccagggtcagc gcctggtcaaaggctctatcccgacgcacatgcgcgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaaca actacaagaccacgcctcccgactggactccgacggcttccttcctacagcaagctcaccgtggaca agagcaggtggcagcaggggaacgtcttcatgcgcgtgatgcacggctctgcacaaccactacac gcagaagagcctccctgtctccggtaaa	20

30

【表 12-10】

【 0 3 2 3 】

【表 12 - 11】

86	gcatccatccagatgaccaggccccagcggccagcgcctgagcgccagcggtggcgacagagtgaccatcacctgtcgcccgccaggccatcagcagcgacccctggctgtatcagcagaagcccccgaaggcccccaagctgctgatctacgacgccagctccctgcagagcggcgtgcccagcagatttccggcagcggctccggcccgacttccacccctgaccatcagcagcctgcagcccgaggacttcgcactactactgcgcagcagactgttgtatcccttcacccctcgccaggccaccaagggtggaaatcaagcgtacggtgccgtcccgctccagcgtgttcatctcccccggcagcagcggcggcggcaccggccagcgtggtgccgtgctgaacaacttctaccggaggccaaagggtgcagttggaaagggtggacaacgcctgcagagcggcaacagccaggaaaacgtcaccggcggcaggacagcaaggactccacctacgcctgagcggcaccctgaccctgagcaaggccgactacgagaagcacaagggtgtacgcctgcaggtgaccaccaggccgtccagccccgtgaccaagagcttcaaccggggcgagtgt	10
87	gacatcgagctgaccaggccccctagcgtgtccgtgtctctggccagaccgcgcacatcacctgtcgccgcacaacatcagatcctactacgtgtcctggatcagcagaagcccccgcaggccccgtgtggcatctacgcgcacagcgcaccggcccgccagcggcatccccgagagattcagcggcagcaacagcggcaacaccgcacccctgaccatcagcggcaccaggccaggacgaggccgactactactgcgcagagctacggcagccagcaacttcgtgttccgcggaggccaccaagttaccgtcttaggtcagcccaaggctgccccctcggtactctgttccgcggccctctgaggagctcaagccaacaaggccacactgggtgtctcataagtgtatcttacccggagccgtgacagtggctggaaaggcagatagcagccctgtcaaggcgggagttggagaaccacacccctccaaacaaacaacaagaactacgcggccagcagctatctgagcctgacgcctgagcgttggaaagtcccacagaagctacagctgcccaggtcacgcacatgaaggagcaccgtggagaagacagttggccctacagaatgtca	20
88	tcttaccgagctgactcagccctgtccgtgtctgtggctctggccagaccgcggcatcacatgcagcggcgcacaacatcagatcctactacgtgtcctggatcagcagaagcctggacaggccccgtgtggcatctacgcgcacagcgcaccggcccgccagcggcatccccgagagattcagcggcagcaacagcggcaacaccgcaccctgaccatcctccagagcccgaggccggcgcacgcggcggcactactactgcgcagagctacggcagccacacttcgtgttccgcggccctctgaggagctcaagccaacaaggccacactgggtgtctcataagtgtacttcacctctgttccgcggccctctgaggagctcaagccaacaaggccacactgggtgtctcataagtgttacccggagccgtgacagtggctggaaaggcagatagcagccctgtcaaggcgggagttggagacaccacccctccaaacaaacaagcaacaacaagaactacgcggccagcagctatctgagcctgacgcctgagcgttggaaagtcccacagaagctacagctgcccaggtcacgcacatgaaggagcaccgtggagaagacagttggccctacagaatgtca	30
89	MEPLVTWVPLFLFLLSRQGAA CRTSECCFQDPYADSGSASGPRDLRCYRISSDRYECSWQYEGPTAGVSHFLRCCLSSGRCCYFAAGSATRLQFSDQAGVSVLYTVTLWESWARNQTEKSPEVTLQLYNSVKYEPPLGDIKVSFLAGQLRMEWTPDNQVGAEVQFRHRTPSSPWKLGDGPQDDDTESCLCPLEMNVAQEFLRRQLGSQGSSWSKWSSPVCPVPENPPQPQVRFSEQLGQDGRRRTLKEQPTQLELPEGCQGLAPGTEVTYRLQLHMLSCPCKAKATRTLHLGKMPYLSGAAYNVAVISSNQFGPGLNQTWHIPADTHTEPVALNISVGTNGTTMYWPARAQSMTYCIEWQPVGQDGGLATCSLTAPQDPDPAGMATYSWSRESGAMGQEKCYYTIFASAHP EKLTLWSTVLSTYHFGNNASAAGTPHHVSVKNHSLSVSDWAPSLLSTCP GVLKEYVVRCRDEDSKQVSEHPVQPTETQVTLGLRAGVAYTVQVRADTA WLRGVWSQPQRFSIEQVQSDWLIFFLASLGSFLSILLVGVLGYLGLNRAARHLCPPPLPTPCASSAIEFPGGKETWQWINPVDFQEEASLQEALVVEMSWDKGERTEPLEKTELPEGAPELALDTELSLEDGDRCKAKM	40

【表 12 - 12】

90	QVQLVESGGGVQPGRLSRLSCAASGFTFTSYGMSWRQAPGKGLEWA GISYSGSDTEYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPD YIIDYGFDYWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTWS N SGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSV TVPSS LGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC CPPCP A PELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVV DV SHEDPEV KF NWY VG EVHNA KT KP REEQ YN ST YR VV SV L VL H QD WL NG KEY KCK V SN K AL PA PI EKT IS AK GQ PRE PQ VY TL P SR E MT KN QV SL T CL V K G F Y P S DIA V E W E S N G Q P EN NY K T T P P V L D G S F FL Y SK L T V D K S R W Q Q G N V F C S V M HE A L H N H Y T Q K S L S P G K
91	QVQLVESGGGVQPGRLSRLSCAASGFTFTSYGMSWRQAPGKGLEWA GISYDASDTEYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPD YIIDYGFDYWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTWS N SGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSV TVPSS LGTQTYIC VN H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H C P P C P A E L L G G P S V F L F P P K K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D G S F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S P G K
92	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYFTGYYMHWRQAPGQGLEWM GMIGPQHGEAIYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSEDTAVYYCARE STDSD E S P F D Y W G Q G T L T V S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V T V P S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H C P P C P A E L L G G P S V F L F P P K K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D G S F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S P G K
93	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYFTGYYMHWRQAPGQGLEWM GMIGPQHGEAIYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSEDTAVYYCARE STDSD E S P F D Y W G Q G T L T V S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V T V P S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H C P P C P A E L L G G P S V F L F P P K K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D G S F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S P G K

10

20

30

【0324】

【表 12 - 13】

94	cagggtcaattggtgaaagcggcgaggcgtggcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgcc gccagcgcgttcacccaccagactacggcatgagctgggtccgacaggcccctggcaaggccctggaaat gggtggccggcatcaactacagcgccagcgacaccgagtaacgcccacagcgtgaaggccgggtcac catcagccggacaacagaagaacaccctgtacactcagatgaacacgctgcgggcccggaggacacc gccgtgtactactgcgccagaagccccgactacatcatcgaactacggctcgactactggggcagaggca ccctggtacccgtcagtcagccctccaccaagggtccatggcttccccctggcaccctcccaagagca cctctggggcacagcgccctggctggcaaggactacttcccgaaaccggtagcgggtcggtcg aactcaggcgcctgaccagcgcgtgcacacccctggcttcacagtcctcaggactactccct agcagcgtggtagccgtgcctccagcagctgggcacccagacctacatcgaacgtgaatcacaagc ccagcaacaccaagggtgacaagagagttagccaaatctgtgacaaaactcacatgcccac gcccagcacctgaactcctgggggaccgtcagtcctccctttcccaaaaaaccctaggacaccctcatg atctcccgacccctgaggtaacatgcgtgggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtaagttca actggtagctggacgcgtggagggtgcataatgccaagacaaagccgcggaggagcagtaacac cacgtaccgggtggtcagcgtccaccgtcgtcaccaggactggctgaatggcaaggagtaactgc aagggtccaacaaagccctccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc agaaccacagggtgtacaccctgccccatccggggaggagatgaccaagaaccaggtagcgc gcctggtcaaaggcttatcccgacatgcgtggactccgacggctcccttcacagcaagctacc actacaagaccacgcctccgtgctggactccgacggctcccttcacagcaagctacc agagcaggtggcagcaggggaacgtttctcatgcctccgtatgcacggtctgcacaacc gcagaagagcctccctgtctccggtaaa	10
95	cagggtcaattggtgaaagcggcgaggcgtggcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgcc gccagcgcgttcacccaccagactacggcatgagctgggtccgacaggcccctggcaaggccctggaaat gggtggccggcatcaactacgacgcccagcgacaccgagtaacgcccacagcgtgaaggccgggtcac atcagccggacaacagaagaacaccctgtacactcagatgaacacgctgcgggcccggaggacacc ccgtgtactactgcgccagaagccccgactacatcatcgaactacggctcgactactggggcagaggcac ccctggtacccgtcagtcagccctccaccaagggtccatggcttccccctggcaccctcccaagagcac ctctggggcacagcgccctggctggcaaggactacttcccgaaaccggtagcgggtcg aactcaggcgcctgaccagcgcgtgcacacccctggctggtaaggactacttcccgaaaccggtagc agcagcgtggtagccgtgcctccagcagctgggcacccagacctacatcgaacgtgaatcacaagc ccagcaacaccaagggtgacaagagagttagccaaatctgtgacaaaactcacatgcccac gcccagcacctgaactcctgggggaccgtcagtcctccctttcccaaaaaaccctaggacaccctcatg atctcccgacccctgaggtaacatgcgtgggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtaagttca actggtagctggacgcgtggagggtgcataatgccaagacaaagccgcggaggagcagtaacac cacgtaccgggtggtcagcgtccaccgtcgtcaccaggactggctgaatggcaaggagtaactgc aagggtccaacaaagccctccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagcc agaaccacagggtgtacaccctgccccatccggggaggagatgaccaagaaccaggtagcgc gcctggtcaaaggcttatcccgacatgcgtggactccgacggctcccttcacagcaagctacc actacaagaccacgcctccgtgctggactccgacggctcccttcacagcaagctacc agagcaggtggcagcaggggaacgtttctcatgcctccgtatgcacggtctgcacaacc gcagaagagcctccctgtctccggtaaa	20 30

【表 12-14】

10

20

30

【 0 3 2 5 】

【表12-15】

98	MEPLVTWVPLLLLFLRSRQGAA CGTSECCFQDPPYSDADSGSASGPRDLSCYRISSAGYECWSQYEGPTAGV SHFLRCCLSSGRCCYFATGSATRLQFSDQAGVSVLHTVTLWESWARNRT EKSPEVTLQLYKSVKYKPPLGDIKVSKLAGQLRMWETPDNQVGAEVQFRH RTPSSSWKLGDCGPQDDDTESCLCPLEMNVQAQEFLQRLRRRLGSQGSSWS KWSSPVCVPENPPQPQVRFNSVEQLGRDGRRRLTLKEQPTQLELPEGCQG PAPGVETVYQLQLHMLSCPCKAKATRTLPLEKMPYLSGAAYNVAVISSNRF GPGPNQTWHIPADTHTEPVANLISVGTNGTTMYWPARAQSTTYCIEWQPV GQEGLATCNLTAPQDPDPAGMATYSWSRESGAMGQEKCYHITIFASAHP KKLTLWSTVLSTYHFGGNASAAGTPHHVSVKNHSLSVSDWAPSLLTCP GVLKEYVVRCRDEDSNVSEHPVQPTETQVTLSDLRAGVAYTVQVRADTA WLRGAWSQPQRFSIK VQVSDWFIFFASLGSFLSILLVGVLGYLGLNRATHLCPLPTCASSAIQFP AGKETWQWINPDFQEEASLQEALVVEMSWDKGERTELLEKAELPEGAPE LALDTQLSLEDGDRCKAKM	10
99	MCHQQLVISWFLVFLASPLVA IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLCDTPEEDGITWLDQSSEVLGSGK TLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSSLHLKKEDGIWSTDILKDQKEPKN KTFLRCEAKNYSGRFTCWNLTTISTDLTFVKSSRGSSDPQGVTCGAATLS AERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSSF FIRDIICKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQG KSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS	20
100	MWPPGSASQPPPSPAAATGLHPAARPVSLQCRLSMCPARSLLLVALVLLD HLSLA RNLPVATPDPMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEIDHEDI TKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETTSFITNGSCLSRKTSFMMALCLSSI YEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVP QKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS	30
101	MLGSRAVMLLLLLPWTAQG RAVPGGSSPAWTQCQQQLSQKLCTLAWSAHPLVGHMDLREEGDEETTN PH IQCGDGCDPQGLRDNSQFCLQRHQGLIFYEKLLGSDIFTGEPSLLPDSPVG QLHASLLGLSQLLQPEGHHWETQQIPSLSPSQPWQRLLLRFKILRSQAFVA VAARVFAHGAATLSP	30

【0326】

結果

実施例mAb1からmAb16は、以下に記載されるとおりに得られ、生産された：

【0327】

I L 1 2 R b 1 に対して高親和性を有する F a b 抗体のスクリーニングおよび同定

迅速な成熟と共にライプラリースクリーニングを記載されているとおりに行なった (Knap
pikら 2000 J.Mol.Biol. 296: 57-86; Prasslerら 2009 Immunotherapy 1(4): 571-83) 40
。古典的なスクリーニングに加えて、確認された結合物 (F a b) を、 I L - 1 2 R を
自然に発現するヒト (Kit - 2 2 5) およびカニクイザル (H S C - F) 細胞への結合に
ついて即座に試験した。これは、最初に観察された 5 5 2 0 個から 1 1 9 個のユニークな
クローンの選択を可能にした。次に、それらを、有効な候補物のために、ヒト全血アッセ
イ、次にカニクイザルバージョンにおける機能性阻害について試験した (4 6 から 2 0 フ
ァミリー、4エピトープビンに分類された)。したがって、6つの有効な機能性阻害剤 (4
つのファミリーから) を、最初に、カニクイザルおよびヒト I L - 1 2 機能を阻害する
I C 5 0 によって最終候補にリストした。トップ4つ (それぞれ M O R 1 1 8 7 3 、 M O
R 1 1 8 7 8 、 M O R 1 1 8 7 9 および M O R 1 1 8 8 0 と命名された；後者2つは同一
の C D R を含む2つの異なるフレームワークである) を、それらの発展性を改善するよう

に最適化操作のために選択し、最適なサイレントバージョンの評価のために4つの異なるIgG1Fcバージョンにおいて調製した(ADC/CDCまで)。

【0328】

大腸菌におけるHuCAL(登録商標)-Fab抗体の発現および精製

可溶性Fabの迅速な発現を促進するために、選択されたHuCAL PLATINUM(登録商標)ファージのFabコード挿入物を、哺乳動物細胞系におけるIPTG誘導Fab発現のための発現ベクターにサブクローニングし、Ni-NTAクロマトグラフィーによりFabの精製を行った。TG-1細胞におけるFabフラグメントの発現を、IPTGの添加により誘導した。リゾチームおよびNi-NTAクロマトグラフィー(Bio-Rad, Germany)により単離されたFabフラグメントを使用して細胞を、破壊した。タンパク質濃度を、UV-分光光度法により測定した。HP-SECにより自然(native)条件で、およびSDS-PAGEを使用して変性し、還元した状態で、Fabフラグメントの純度を分析した。

【0329】

IgGへの変換

ヒトIgG1f野生型、ヒトIgG1fD265A、ヒトIgG1fN297Aおよび以下「LALA」と称されるヒトIgG1fL234AL235Aについて、全長IgGを発現させるために、4つの有力な候補物であるMOR11873、MOR11878、MOR11879およびMOR11880の重鎖(V_H)および軽鎖(V_L)の可変ドメインフラグメントを、Fab発現ベクターから適当な発現ベクターにサブクローニングし、本発明の16個の抗体である、以下の表13に記載されているmAb1-mAb16の生産のための発現ベクターを得た：

表13:mAb1-mAb16の可変領域およびIgG1Fc領域の記載

【表13】

実施例	MOR #可変領域およびIgG1Fc領域
mAb1	IgG1 LALA Fc変異体を有するMOR11873
mAb2	IgG1 D265A Fc変異体を有するMOR11873
mAb3	IgG1 N297A Fc変異体を有するMOR11873
mAb4	IgG1 LALA Fc変異体を有するMOR11878
mAb5	IgG1 D265A Fc変異体を有するMOR11878
mAb6	IgG1 N297A Fc変異体を有するMOR11878
mAb7	IgG1 LALA Fc変異体を有するMOR11879
mAb8	IgG1 D265A Fc変異体を有するMOR11879
mAb9	IgG1 N297A Fc変異体を有するMOR11879
mAb10	IgG1 LALA Fc変異体を有するMOR11880
mAb11	IgG1 D265A Fc変異体を有するMOR11880
mAb12	IgG1 N297A Fc変異体を有するMOR11880
mAb13	IgG1 野生型 Fcを有するMOR11873
mAb14	IgG1 野生型 Fcを有するMOR11878
mAb15	IgG1 野生型 Fcを有するMOR11879
mAb16	IgG1 野生型 Fcを有するMOR11880

【0330】

ヒトIgGの一過性発現および精製

IgG mAb1、mAb4、mAb7およびmAb10の重鎖および軽鎖をコードする発現ベクターDNAで真核HKB11細胞をトランスフェクトした。滅菌濾過後、溶液を、標準プロテインAアフィニティーコロマトグラフィー(MabSelect SURE, GE Healthcare)に付した。タンパク質濃度を、UV-分光光度法により測定した。SDS-PAGE

10

20

30

40

50

Eにおいて、変性、還元、および非還元条件下で、またはH P - S E Cにより自然条件で、かつ、Caliper LabChip (登録商標) SystemまたはAgilent BioAnalyzerを使用することにより、IgGの純度を、分析した。上記パラグラフの方法に記載されている方法にしたがって、全ての候補抗体を、ヒトおよびカニクイザルにおいてそれらのIL12R β 1結合親和性(SPR、K_D nM)、IL12/IL23インビトロ競合的結合阻害、IL12/IL18依存性IFN γ 生産について試験した。該結果は、表14に示される。

表14：mAb1、mAb4、mAb7およびmAb10のプロファイリングデータ

【表14-1】

選択基準	mAb1	mAb4	mAb7	mAb10
ヒトIL12R β 1結合親和性(SPR、K _D pM)	40	20	40	40
カニクイザルIL12R β 1結合親和性(SPR、K _D pM)	100	100	600	600
細胞結合キット225(ヒト天然発現; EC ₅₀ 、pM)	6	5	10	11
細胞結合ヒトT-細胞(ヒト天然発現; EC ₅₀ 、pM)	33	38	15	16
細胞結合カニクイザルT-細胞(カニクイザル天然発現; EC ₅₀ 、pM)	23	13	23	n. d.
細胞結合カニクイザルT-細胞(カニクイザル天然発現; EC ₅₀ 、pM)	55	41	36	28
IL12/IL23競合的結合(IC ₅₀ 、pM)	8/18	8/13	8/20	8/20
ヒト血球におけるIL12/IL18依存性IFN γ 生産(IC ₅₀ 、pM)	28	77	24	42
カニクイザル血球におけるIL12/IL18依存性IFN γ 生産(IC ₅₀ 、pM)	239	216	284	1182

10

20

30

40

【表14-2】

エピトープ ピン (A-D)	B	B	B	B
分析性SEC(%) モノマー (%)	97.8	98.5	98.0	98.7
力値(mg/L)	51.0	33.8	51.7	42.9
pI(コンピューター内予測)	8.6	8.2	6.8	7.5
Tm(℃、pH7.4、IgGデータ)	76.0	75.3	68.5	68.0
プロテインA回収率(%)	62.5	76.2	36.8	69.5
Tm(℃、pH7.4、Fabデータ)	68.0	54.5	66.5	66.3
Tm(℃、pH6.0、Fabデータ)	73.0	74.5	69.0	69.5
Tm(℃、pH3.5、Fabデータ)	56.8	56.0	55.8	55.8

10

20

30

40

50

【0331】

驚くべきことに、本発明の抗体は、 K_D アフィニティー、および、機能性ヒトアッセイにより測定されるとき、IL12競合的結合に対して100pM以下、さらに10pM以下のIC₅₀を有し、したがって薬物としての使用のために特に適当である。さらには、それらは、有利な発展性特性を有する。それらはまた、カニクイザルIL12R1(配列番号:98)と交差反応し、可変領域をコードするコード配列は、サイレントIgG1抗体、例えばL234A L235A変異を含むIgG1 Fc変異体、またはD265A変異を含むIgG1 Fc変異体、またはN297A変異を含むIgG1 Fc変異体を作製するために容易に移動することができる。

【0332】

エピトープ結合実験

抗体を交差競合(エピトープ結合)実験で試験し、4つの別個のグループは、全ての最初に同定された機能的に阻害するmAb中で区別することができた。選択されたトップ4つの候補物MOR11873、MOR11878、MOR11879およびMOR11880は全て、偶然、エピトープピンBと称される第2のグループに分類され、したがって互いに競合する。全mAb1-mAb16が4つのトップ候補物の1つに由来する結合領域を有するため、したがって、全mAb1-mAb16抗体は互いに競合することが予期される。

【0333】

アミド水素/ジュウテリウム交換質量分析エピトープマッピングの要約

本発明の抗体間の結合関連性の明確な状況を発達させるために、エピトープマッピング試験を行った。目的は、標的ヒトIL12Rベータ1分子上への候補モノクローナル抗体の結合部位を決定することであった。特に、目的は、抗体と標的間の結合相互作用に関与するヒトIL12Rベータ1の特異的アミノ酸残基を同定することであった。エピトープマッピングは一般的に、当業者が利用できる当分野の技術の様式を使用して行った。特に、水素/ジュウテリウム交換質量分析は、抗体結合に影響する、すなわち関連エピトープに関与するアミノ酸残基に対するヒトIL12Rベータ1の構造をプローブするために使用した。表15における結果は、(デルタ)値、すなわちIL12Rベータ1/抗体複合体と遊離IL12Rベータ1タンパク質間のジュウテリウム化における差を示す。マイナスの値は、抗体-抗原複合体において溶媒保護を示し、相互作用の最も可能性の高い部位として解釈する。

表15：H / D × M Sエピトープマッピングデータ

【表15】

IL12Rベータ1ペプチド配列	IL12Rベータ1におけるペプチドの位置	MOR11873 Δ(デルタ)	MOR11878 Δ(デルタ)	MOR11880 Δ(デルタ)
FAAGSATRLQFSDQAGVSVL	89-108	3.84	1.59	2.58
TRLQFSDQAGVSVL	95-108	0.98		
YNSVKYEPLGDIKVS KLAGQL	134-155	1.91		
CSLTAPQDPDPAGM	383-396	0.36		
TAPQDPDPAGMAT	386-398	0.05	0.04	0.03
ITIFASA HPEK LTL	416-429	-0.37	-0.38	-0.48
LSTCPGV LKE	471-480	0.61		1.02
YVVRCR DEDSKQ	481-492	-0.05		-0.04
SGL RAGVA	508-515	0.46	0.16	0.31
YTVQVRADTAWL RG VWS QPQRF	516-537	0.81		
VRADTAWL RG VWS QPQRF	520-537	0.99	0.24	0.15

【0334】

H / D × M Sエピトープマッピング結果は、ヒト IL12Rベータ1配列のアミノ酸残基 416 - 429 (ITIFASA HPEK LTL) に対応する 1 つのペプチドが全てのグループの抗体に対して保護を示したことを示す。このデータは、これらのグループの抗体が互いに競合を示すという事実と一致し、416 - ITIFASA HPEK LTL - 429 のペプチドが、全 3 つのグループの抗体に対するエピトープに対応することを示す。さらに、これらのデータは、抗体がカニクイザル IL12Rベータ1 と交差反応性であるが、同等の齧歯動物配列（マウスおよびラット）と交差反応性ではないという事実と一致する。ヒト、カニクイザル、ラットおよびマウスにおける該エピトープ配列の比較は、表 16 に示され、アラインされたエピトープ配列は下線が引かれている。

表16：ヒト、カニクイザル、ラットおよびマウスにおける IL12Rベータ1 抗体エピトープ配列の比較

【表16】

種	アミノ酸配列
ヒト	GAMGQEKCYY <u>ITIFASA HPEK LTL</u> WSTVLSTYHFGGNASAAGTPHHVSVKNHSLDSVSVD
カニクイザル	GAMGQEKCYY <u>HITIFASA HPKKL TL</u> WSTVLSTYHFGGNASAAGTPHHVSVKNHSLDSVSVD
マウス	-TLEQEECYRITVFASKNPKNPMLWATVLSSYYFGGNASRAGTPRHVS VRNQTGDSVSVE
ラット	-TLDQEECYRITVFASKNPKNPMMWATVLSSYYFGGNVSRVGTPRHVS VRNHTEDSVSVE

10

20

30

40

50

【 0 3 3 5 】

カニクイザルおよびヒト配列は、ヒトおよびカニクイザル配列の両方と抗体の交差反応性を有する該エピトープ配列において1つのアミノ酸残基のみ異なる。対照的に、該エピトープにおける齧歯動物配列は、ヒトおよびカニクイザル配列と比較して大きな違いを示し、これは、齧歯動物 I L 1 2 R ベータ 1 タンパク質と抗体の特異性の欠如と一致する。

【配列表】

2013543384000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2011/067237

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

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

B. FIELDS SEARCHED

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

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

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

EPO-Internal, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT
--

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2010/027767 A1 (SCHERING CORP [US]; PRESTA LEONARD G [US]; ERMAKOV GRIGORI P [US]) 11 March 2010 (2010-03-11) example 2 ----- US 6 046 012 A (CHIZZONITE RICHARD ANTHONY [US] ET AL) 4 April 2000 (2000-04-04) example 13; table 1 ----- WO 2010/112458 A1 (NOVARTIS AG [CH]; BARDROFF MICHAEL [DE]; CARBALLIDO HERRERA JOSE M [CH]) 7 October 2010 (2010-10-07) examples 1-4 -----	1-9, 11-22, 24,25
X		1-9, 11-22, 24,25
X, P		1-25



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
---	--

15 February 2012	27/02/2012
------------------	------------

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
--------------------------------------	--------------------

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	
--	--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2011/067237

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 2010027767	A1 11-03-2010	AR 073140	A1 13-10-2010	
		US 2011158992	A1 30-06-2011	
		WO 2010027767	A1 11-03-2010	
US 6046012	A 04-04-2000	NONE		
WO 2010112458	A1 07-10-2010	AU 2010230311	A1 13-10-2011	
		CA 2759942	A1 07-10-2010	
		EP 2424894	A1 07-03-2012	
		US 2012034231	A1 09-02-2012	
		WO 2010112458	A1 07-10-2010	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
	A 6 1 P 1/04	
	A 6 1 P 29/00	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,D0,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN

(72)発明者 シュテファン・ハートル
ドイツ 8 2 1 5 2 プラネット - マルティンスリート、レーナ - クリスト - シュトラーセ 4 8 番、モルフォシス・アクチエンゲゼルシャフト

(72)発明者 クリストフ・ホイサー
スイス、ツェーハー - 4 0 5 6 バーゼル、リヒトシュトラーセ 3 5 番、ノバルティス・ファルマ・アクチエンゲゼルシャフト

(72)発明者 インゴ・クラッガ
ドイツ 8 2 1 5 2 プラネット - マルティンスリート、レーナ - クリスト - シュトラーセ 4 8 番、モルフォシス・アクチエンゲゼルシャフト

(72)発明者 アンドレア・ポルツァー
ドイツ 8 2 1 5 2 プラネット - マルティンスリート、レーナ - クリスト - シュトラーセ 4 8 番、モルフォシス・アクチエンゲゼルシャフト

(72)発明者 クリストフ・シュヴェルツラー
スイス、ツェーハー - 4 0 5 6 バーゼル、リヒトシュトラーセ 3 5 番、ノバルティス・ファルマ・アクチエンゲゼルシャフト

(72)発明者 ガブリエラ・ヴォフニク - ヴェルトルップ
ドイツ 8 2 1 5 2 プラネット - マルティンスリート、レーナ - クリスト - シュトラーセ 4 8 番、モルフォシス・アクチエンゲゼルシャフト

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA61 CA01 DA01 DA02 DA05 DA06 DA11 EA04 GA11
HA08
4B064 CA02 CA05 CA10 CA11 CA19 CA20 CC24 DA01
4B065 AA01X AA26X AA57X AA87X AA90X AA90Y AB01 AB02 BA02 BA08
CA24 CA44
4C085 AA13 AA14 BB11 BB41 BB42 CC02 CC22 CC23 DD62 DD63
DD88 EE01 GG01
4H045 AA11 AA20 AA30 BA09 CA40 DA75 FA74