

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7082065号

(P7082065)

(45)発行日 令和4年6月7日(2022.6.7)

(24)登録日 令和4年5月30日(2022.5.30)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/13	Z N A
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	C 0 7 K	16/28	
C 1 2 N	15/63	(2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	15/86	(2006.01)	C 1 2 N	15/86	Z
C 1 2 N	15/85	(2006.01)	C 1 2 N	15/85	Z

請求項の数 22 (全57頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2018-558310(P2018-558310)

(86)(22)出願日 平成29年5月2日(2017.5.2)

(65)公表番号 特表2019-521651(P2019-521651  
A)

(43)公表日 令和1年8月8日(2019.8.8)

(86)国際出願番号 PCT/US2017/030612

(87)国際公開番号 WO2017/192567

(87)国際公開日 平成29年11月9日(2017.11.9)

審査請求日 令和2年5月1日(2020.5.1)

(31)優先権主張番号 62/330,420

(32)優先日 平成28年5月2日(2016.5.2)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/416,447

(32)優先日 平成28年11月2日(2016.11.2)

最終頁に続く

(73)特許権者 518388753

テトラジェネティクス, インコーポレ  
イテッド  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2  
4 7 4, アーリントン, ミスティック  
ストリート 9 1

(74)代理人 100078282

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674

弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗Kv1.3抗体ならびにその産生方法および使用方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む、ヒトKv1.3タンパク質に特異的に結合する抗体であって、

(a) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号64の配列を含むCDR1領域、配列番号87の配列を含むCDR2領域および配列番号109の配列を含むCDR3領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号171の配列を含むCDR1領域、配列番号201の配列を含むCDR2領域および配列番号228の配列を含むCDR3領域を含む、

(b) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号55の配列を含むCDR1領域、配列番号72の配列を含むCDR2領域および配列番号101の配列を含むCDR3領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号169の配列を含むCDR1領域、配列番号182の配列を含むCDR2領域および配列番号207の配列を含むCDR3領域を含む、

(c) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号66の配列を含むCDR1領域、配列番号73の配列を含むCDR2領域および配列番号110の配列を含むCDR3領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号173の配列を含むCDR1領域、配列番号188の配列を含むCDR2領域および配列番号214の配列を含むCDR3領域を含む、

(d) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号43の配列を含むCDR1領域、配列番号70の配列を含むCDR2領域および配列番号89の配列を含むCDR3領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号165の配列を含むCDR1領域、配列番号178の配列を含むCDR2領域および配列番号203の配列を含むCDR3領域を含む、

( e ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 6 5 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 8 7 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 1 0 9 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 7 1 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 2 0 1 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 2 8 の配列を含む C D R 3 領域を含む、

( f ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 5 5 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 7 2 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 1 0 1 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 6 9 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 1 8 2 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 0 7 の配列を含む C D R 3 領域を含む、

( g ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 6 9 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 8 8 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 1 1 2 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 6 8 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 1 8 1 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 0 6 の配列を含む C D R 3 領域を含む、

( h ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 5 5 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 7 2 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 1 0 1 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 7 0 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 1 8 3 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 0 7 の配列を含む C D R 3 領域を含む、

( i ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 5 5 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 8 0 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 1 0 1 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 7 0 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 1 8 3 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 0 7 の配列を含む C D R 3 領域を含む、または

( j ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 2 5 0 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 2 6 9 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 8 1 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 3 2 5 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 3 4 3 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 3 6 1 の配列を含む C D R 3 領域を含む、

抗体。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の抗体を含む抗体調製物。

【請求項 3】

モノクローナル抗体調製物である、請求項 2 に記載の抗体調製物。

【請求項 4】

少なくとも 2 つのモノクローナル抗体調製物の混合物である、請求項 2 に記載の抗体調製物。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の重鎖および軽鎖をコードする、単離された核酸分子。

【請求項 6】

( a ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 6 4 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 8 7 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 1 0 9 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 7 1 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 2 0 1 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 2 8 の配列を含む C D R 3 領域を含む、

( b ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 5 5 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 7 2 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 1 0 1 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 6 9 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 1 8 2 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 0 7 の配列を含む C D R 3 領域を含む、

( c ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 6 6 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 7 3 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 1 1 0 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 7 3 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 1 8 8 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 1 4 の配列を含む C D R 3 領域を含む、

( d ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 4 3 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 7 0 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 8 9 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 6 5 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 1 7 8 の配列を含

10

20

30

40

50

む C D R 2 領域および配列番号 2 0 3 の配列を含む C D R 3 領域を含む、

( e ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 6 5 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 8 7 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 1 0 9 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 7 1 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 2 0 1 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 2 8 の配列を含む C D R 3 領域を含む、

( f ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 5 5 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 7 2 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 1 0 1 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 6 9 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 1 8 2 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 0 7 の配列を含む C D R 3 領域を含む、

( g ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 6 9 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 8 8 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 1 1 2 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 6 8 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 1 8 1 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 0 6 の配列を含む C D R 3 領域を含む、

( h ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 5 5 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 7 2 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 1 0 1 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 7 0 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 1 8 3 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 0 7 の配列を含む C D R 3 領域を含む、

( i ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 5 5 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 8 0 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 1 0 1 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 1 7 0 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 1 8 3 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 0 7 の配列を含む C D R 3 領域を含む、または

( j ) 前記軽鎖の可変領域が、配列番号 2 5 0 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 2 6 9 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 2 8 1 の配列を含む C D R 3 領域を含み、前記重鎖の可変領域が、配列番号 3 2 5 の配列を含む C D R 1 領域、配列番号 3 4 3 の配列を含む C D R 2 領域および配列番号 3 6 1 の配列を含む C D R 3 領域を含む、  
請求項 5 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 7】

クローニングベクター、発現ベクター、異種組換えベクター、およびウイルス組込みベクターからなる群より選択される、請求項 5 または 6 に記載の単離された核酸分子。

【請求項 8】

請求項 5 から 7 のいずれか一項に記載の核酸で形質転換された細胞。

【請求項 9】

哺乳動物細胞である、請求項 8 に記載の細胞。

【請求項 10】

齧歯類細胞である、請求項 9 に記載の細胞。

【請求項 11】

チャイニーズハムスター卵巣 ( C H O ) 細胞である、請求項 9 に記載の細胞。

【請求項 12】

ヒト細胞である、請求項 9 に記載の細胞。

【請求項 13】

K v 1 . 3 タンパク質を発現する細胞を単離する方法であって、

( a ) 生体外で細胞の集団を、請求項 1 に記載の複数の抗体と接触させるステップと、  
( b ) 前記集団中の前記抗体に特異的に結合する細胞を、前記集団中の前記抗体に特異的に結合しない細胞から分離するステップと  
を含む、方法。

【請求項 14】

前記細胞が、蛍光活性化細胞ソーティングによって分離される、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記細胞が、蛍光活性化細胞ソーティングによって、固定化された二次抗体を使用して分離される、請求項 13 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 16】

被験体の自己免疫障害を防止または処置するための組成物であって、請求項 2 から 4 のいずれか一項に記載の抗体調製物を含む、組成物。

## 【請求項 17】

前記抗体調製物が K v 1 . 3 カリウムチャンネルを阻害することにより、前記自己免疫障害を防止または処置する、請求項 16 に記載の組成物。

## 【請求項 18】

前記被験体の自己反応性エフェクターメモリー T 細胞を枯渇させることにより、前記自己免疫障害を防止または処置する、請求項 16 に記載の組成物。

## 【請求項 19】

前記自己免疫障害が、多発性硬化症、重症筋無力症、自己免疫性神経障害、ギランバレー症候群、自己免疫性ぶどう膜炎、クローン病、潰瘍性大腸炎、原発性胆汁性肝硬変、自己免疫性肝炎、自己免疫性血小板減少症、1 型真性糖尿病、アジソン病、グレーブス病、橋本甲状腺炎、自己免疫性精巣炎、ベーチェット病、関節リウマチ、歯周病に関連する骨吸収、全身性エリテマトーデス、強皮症多発性筋炎 ( S c l e r o d e r m a P o l y m y o s i t i s )、皮膚筋炎 ( d e r m a t o m y o s i t i s )、尋常性天疱瘡、脊椎関節症、強直性脊椎炎、およびシェーグレン症候群からなる群より選択される、請求項 16 から 18 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 20】

被験体の移植片対宿主病を防止または処置するための組成物であって、請求項 2 から 4 のいずれか一項に記載の抗体調製物を含む、組成物。

## 【請求項 21】

前記抗体調製物が K v 1 . 3 カリウムチャンネルを阻害することにより、移植片対宿主病を防止または処置する、請求項 20 に記載の組成物。

## 【請求項 22】

前記被験体の自己反応性エフェクターメモリー T 細胞を枯渇させることにより、移植片対宿主病を防止または処置する、請求項 20 に記載の組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

参考としての援用

この出願は、2016年5月2日に出願された米国出願第62/330,420号および2016年11月2日に出願された米国出願第62/416,447号(これら各々の内容は、その全体が参考として本明細書に援用される)に対する優先権の利益を主張する。

## 【0002】

本開示は概して、抗体、抗体の産生および使用に関する。特定すると、本開示は、ヒト K v 1 . 3 タンパク質に特異的に結合し、ヒト K v 1 . 3 タンパク質の活性を調整する抗体、かかる抗体を産生する方法、ならびにかかる抗体を使用した診断方法、治療方法、および臨床的方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0003】

K v 1 . 3 タンパク質とは、生体膜を通したカリウムイオンの移送を行い、興奮性および非興奮性の両方の細胞型の膜電位を調節する電位開口型イオンチャンネルである。特に、K v 1 . 3 は、活性化された T エフェクターメモリー ( T E M ) および他の T 細胞サブセットにおける C a <sup>2+</sup> シグナル伝達を調節するにあたって十分に特徴付けられた役割を果たす ( W u l f f ら ( 2 0 0 3 年 )、C l i n . I n v e s t .、111 巻: 1703 ~ 1713 頁; B e e t o n ら ( 2 0 0 6 年 )、P N A S .、103 巻: 17414 ~ 19 頁)。T E M 細胞内の K v 1 . 3 の上方調節は、自己免疫疾患における炎症部位に関連し ( R u s ら ( 2 0 0 5 年 )、P N A S、102 巻: 11094 ~ 99 頁; B e e t o n、2006 年)、特定の K v 1 . 3 遮断薬は炎症のいくつかの動物モデルにおいて有効であ

10

20

30

40

50

ることが調査により示されている (Beetonら (2001年)、J. Immunol.、166巻:936~44頁); Beetonら、2006年; Kooら (1997年)、J. Immunol.、158巻、5210~28頁; Matheura (2008年)、Immunity、29巻、602~14頁; Azamら (2007年)、J. Invest. Dermatol.、127巻、1419~29頁; Cheongら (2011年)、Cardiovasc. Res.、89巻、282~89頁; Hyodora (2010年)、Am. J. Physiol.、299巻、1258~69頁; Gilharら (2011年)、J. Invest. Dermatol.、131巻、118~24頁)。マウスにおいてKv1.3活性の遮断は、抗原に应答してT細胞の表現型を変化させ、それらを抑制状態に変換する場合がある (Gockeら (2012年)、J. Immunol.、188巻、5877~5886頁; Grishkanら (2015年)、J. Immunol.、195巻、1399~1407頁; Hurら (2011年)、J. Biol. Chem.、287巻、1261~1268頁)。

10

## 【0004】

自己免疫疾患の処置のためにKv1.3機能を阻害する治療剤として、ペプチド毒素およびそれらの誘導体が開発されている。例えば、イソギンチャクのStichodactyla helianthusに由来するペプチド毒素であるShKは、Kv1.3四量体の前腔 (outer vestibule) に高い親和性で結合し、細孔を通るイオン伝導を妨げる (Beetonら (2003年)、J. Biol. Chem.、278巻、9928~37頁)。

20

## 【0005】

Kv1.3の機能を調整する治療用抗体は、多様なTEM媒介性自己免疫疾患を処置するために開発され得る生物製剤の代替的なクラスを表す。細胞内エピトープおよび細胞外エピトープの両方を認識するいくつかの抗Kv1.3抗体が市販されているが (例えばAlomone Labs、Jerusalem、Israel: 抗Kv1.3 (細胞外)、カタログ番号APC101; 抗Kv1.3 (細胞内)、カタログ番号APC002)、これらは機能的に活性ではなく、Kv1.3活性を調整しない。しかしながら、ヒトKv1.3細孔領域の外部末端に位置する14個のアミノ酸からなるペプチドで免疫化したウサギは、Kv1.3活性を機能的に阻害する能力があるポリクローナル抗体を産生し (Yangら (2012年)、PLoS One、7巻、e36379頁)、機能的な抗Kv1.3免疫グロブリンが実現可能であることを示した。

30

## 【先行技術文献】

## 【非特許文献】

## 【0006】

【文献】Gockeら、J. Immunol. (2012年) 188巻、5877~5886頁

Grishkanら、J. Immunol. (2015年) 195巻、1399~1407頁

Hurら、J. Biol. Chem. (2011年) 287巻、1261~1268頁

## 【発明の概要】

40

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0007】

とはいえ、Kv1.3、そして特にKv1.3活性に対して調整効果を発揮するのに重要であると予想される細胞外ループ領域を認識する、高親和性モノクローナル抗体 (mAb) の特定および開発が、依然として必要とされている。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0008】

本発明は、ヒトKv1.3タンパク質の改善された免疫原性調製物の開発に部分的に基づき、これにより、四量体Kv1.3イオンチャネルの細胞外ドメインを対象とし、かつKv1.3に対する優れた親和性および特異性を有する、抗Kv1.3モノクローナル抗体

50

の産生が可能になった。こうした抗体は、治療および診断の両方における有用性を有する。

【0009】

したがって、一態様では、本発明は、抗Kv1.3モノクローナル抗体(mAb)、特にKv1.3の機能的活性を調整するmAbを提供する。特に本発明は、軽鎖および重鎖のCDRのアミノ酸配列、ならびにこれらのCDRのコンセンサス配列を提供し、これらのCDRを含む多様な抗体および他の免疫グロブリンベースの分子の産生を可能にする。さらに本発明は、軽鎖および重鎖の可変ドメイン内のCDRに関して予測される基準構造を提供することにより、Kv1.3に特異的に結合するさらなる抗体および他の免疫グロブリンベースの分子の産生を可能にする。

【0010】

別の態様では、本発明は、抗Kv1.3 mAbおよび他の免疫グロブリンベースの分子をコードする核酸分子、かかる核酸を含む発現ベクター、かかる核酸またはベクターを含む宿主細胞、抗Kv1.3 mAbおよび他の免疫グロブリンベースの分子を作製するための方法、ならびに抗Kv1.3 mAbおよび他の免疫グロブリンベースの分子を発現させるための方法を提供する。最後に、抗Kv1.3 mAbおよび他の免疫グロブリンベースの分子を治療薬または診断試薬として使用する方法が提供される。

【0011】

別の態様では、本発明は、免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む、ヒトKv1.3タンパク質に特異的に結合する抗体であって、軽鎖の可変領域が、(i)配列番号43~69、249~267、381~386からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、(ii)配列番号70~88、268~280、387~391からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、および/または(iii)配列番号89~112、281~297、392~398からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含む、抗体を提供する。

【0012】

別の態様では、本発明は、免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む、ヒトKv1.3タンパク質に特異的に結合する抗体であって、重鎖の可変領域が、(i)配列番号165~177、317~334、409~415からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、(ii)配列番号178~202、335~352、416~422からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、および/または(iii)配列番号203~229、353~370、423~429からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含む、抗体を提供する。

【0013】

別の態様では、本発明は、免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む、ヒトKv1.3タンパク質に特異的に結合する抗体であって、軽鎖の可変領域が、(i)VL CDR1モチーフ1~6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、(ii)VL CDR2モチーフ1~6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、および/または(iii)VL CDR3モチーフ1~6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含む、抗体を提供する。

【0014】

別の態様では、本発明は、免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む、ヒトKv1.3タンパク質に特異的に結合する抗体であって、重鎖の可変領域が、(i)VH CDR1モチーフ1~6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、(ii)VH CDR2モチーフ1~6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、および/または(iii)VH CDR3モチーフ1~6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3領域を含む、抗体を提供する。

【0015】

一部の実施形態では、本発明は、本明細書に記載の抗体を含む抗体調製物を提供する。一部の実施形態では、本発明は、モノクローナル抗体調製物である抗体調製物を提供する。一部の実施形態では、本発明は、少なくとも2つのモノクローナル抗体調製物の混合物で

10

20

30

40

50

ある抗体調製物を提供する。

【0016】

別の態様では、本発明は、本明細書に記載の抗体のいずれか1つの重鎖または軽鎖をコードする、単離された核酸分子を提供する。一部の実施形態では、本発明は、クローニングベクター、発現ベクター、異種組換えベクター、およびウイルス組込みベクターからなる群より選択される、単離された核酸分子を提供する。一部の実施形態では、本発明は、核酸で形質転換された細胞を提供する。一部の実施形態では、前記細胞は、哺乳動物細胞である。一部の実施形態では、前記細胞は、齧歯類細胞である。一部の実施形態では、前記細胞は、チャニーズハムスター卵巣（CHO）細胞である。一部の実施形態では、前記細胞は、ヒト細胞である。

10

【0017】

別の態様では、本発明は、Kv1.3タンパク質を発現する細胞を単離する方法であって、(a)細胞の集団を得るステップと、(b)細胞の前記集団を、本明細書に記載の複数の抗体と接触させるステップと、(c)集団中の抗体に特異的に結合する細胞を、集団中の抗体に特異的に結合しない細胞から分離するステップとを含む、方法を提供する。一部の実施形態では、細胞は、蛍光活性化細胞ソーティングによって分離される。一部の実施形態では、細胞は、蛍光活性化細胞ソーティングによって、固定化された二次抗体を使用して分離される。

【0018】

別の態様では、本発明は、ヒト被験体の自己免疫障害を防止または処置するための方法であって、治療有効量の本明細書に記載の抗体調製物を被験体に投与することを含む、方法を提供する。一部の実施形態では、抗体調製物はKv1.3カリウムチャンネルを阻害することにより、自己免疫障害を防止または処置する。一部の実施形態では、被験体の自己反応性エフェクターメモリーT細胞を枯渇させることにより、自己免疫障害を防止または処置する。一部の実施形態では、自己免疫障害は、多発性硬化症、重症筋無力症、自己免疫性神経障害、ギランバレー症候群、自己免疫性ぶどう膜炎、クローン病、潰瘍性大腸炎、原発性胆汁性肝硬変、自己免疫性肝炎、自己免疫性血小板減少症、1型真性糖尿病、アジソン病、グレーブス病、橋本甲状腺炎、自己免疫性精巣炎、ベーチェット病、関節リウマチ、歯周病に関連する骨吸収、全身性エリテマトーデス、強皮症多発性筋炎（Scleroderma Polymyositis）、皮膚筋炎（dermatomyositis）、尋常性天疱瘡、脊椎関節症、強直性脊椎炎、およびシェーグレン症候群からなる群より選択される。

20

【0019】

別の態様では、本発明は、被験体の移植片対宿主病を防止または処置するための方法であって、治療有効量の本明細書に記載の抗体調製物を被験体に投与することを含む、方法を提供する。一部の実施形態では、抗体調製物はKv1.3カリウムチャンネルを阻害することにより、移植片対宿主病を防止または処置する。一部の実施形態では、被験体の自己反応性エフェクターメモリーT細胞を枯渇させることにより、移植片対宿主病を防止または処置する。

【0020】

本発明のこれらおよび他の態様および実施形態を以下に例示および記載する。以下の図面および詳細な記載を考察すれば、当業者には他の組成物、方法、および特色が明らかとなるであろう。そのようなさらなる組成物および方法および特色は全て、本発明の範囲内に含まれることが意図される。

40

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目1)

免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む、ヒトKv1.3タンパク質に特異的に結合する抗体であって、

前記軽鎖の可変領域が、

(i) 配列番号43~69、249~267、381~386からなる群より選択され

50

るアミノ酸配列を含むCDR1領域、

(i) 配列番号70～88、268～280、387～391からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、および/または

(iii) 配列番号89～112、281～297、392～398からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3領域

を含む、抗体。

(項目2)

免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む、ヒトKv1.3タンパク質に特異的に結合する抗体であって、

前記重鎖の可変領域が、

(i) 配列番号165～177、317～334、409～415からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、

(ii) 配列番号178～202、335～352、416～422からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、および/または

(iii) 配列番号203～229、353～370、423～429からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3領域

を含む、抗体。

(項目3)

免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む、ヒトKv1.3タンパク質に特異的に結合する抗体であって、

前記軽鎖の可変領域が、

(i) VL CDR1モチーフ1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、

(ii) VL CDR2モチーフ1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、および/または

(iii) VL CDR3モチーフ1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3領域

を含む、抗体。

(項目4)

免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖を含む、ヒトKv1.3タンパク質に特異的に結合する抗体であって、

前記重鎖の可変領域が、

(i) VH CDR1モチーフ1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR1領域、

(ii) VH CDR2モチーフ1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR2領域、および/または

(iii) VH CDR3モチーフ1～6からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むCDR3領域

を含む、抗体。

(項目5)

項目1から4のいずれか一項に記載の抗体を含む抗体調製物。

(項目6)

モノクローナル抗体調製物である、項目5に記載の抗体調製物。

(項目7)

少なくとも2つのモノクローナル抗体調製物の混合物である、項目5に記載の抗体調製物。

(項目8)

項目1から4のいずれか一項に記載の重鎖または軽鎖をコードする、単離された核酸分子。

(項目9)

10

20

30

40

50

クローニングベクター、発現ベクター、異種組換えベクター、およびウイルス組込みベクターからなる群より選択される、項目 8 に記載の単離された核酸分子。

(項目 10)

項目 8 から 9 のいずれか一項に記載の核酸で形質転換された細胞。

(項目 11)

哺乳動物細胞である、項目 10 に記載の細胞。

(項目 12)

齧歯類細胞である、項目 11 に記載の細胞。

(項目 13)

チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞である、項目 11 に記載の細胞。

10

(項目 14)

ヒト細胞である、項目 11 に記載の細胞。

(項目 15)

Kv1.3 タンパク質を発現する細胞を単離する方法であって、

(a) 細胞の集団を得るステップと、

(b) 細胞の前記集団を、項目 1 から 4 のいずれか一項に記載の複数の抗体と接触させるステップと、

(c) 前記集団中の前記抗体に特異的に結合する細胞を、前記集団中の前記抗体に特異的に結合しない細胞から分離するステップと

を含む、方法。

20

(項目 16)

前記細胞が、蛍光活性化細胞ソーティングによって分離される、項目 15 に記載の方法。

(項目 17)

前記細胞が、蛍光活性化細胞ソーティングによって、固定化された二次抗体を使用して分離される、項目 15 に記載の方法。

(項目 18)

被験体の自己免疫障害を防止または処置するための方法であって、治療有効量の項目 5 から 7 のいずれか一項に記載の抗体調製物を前記被験体に投与することを含む、方法。

(項目 19)

前記抗体調製物が Kv1.3 カリウムチャンネルを阻害することにより、前記自己免疫障害を防止または処置する、項目 18 に記載の方法。

30

(項目 20)

前記被験体の自己反応性エフェクターメモリー T 細胞を枯渇させることにより、前記自己免疫障害を防止または処置する、項目 18 に記載の方法。

(項目 21)

前記自己免疫障害が、多発性硬化症、重症筋無力症、自己免疫性神経障害、ギランバレー症候群、自己免疫性ぶどう膜炎、クローン病、潰瘍性大腸炎、原発性胆汁性肝硬変、自己免疫性肝炎、自己免疫性血小板減少症、1 型真性糖尿病、アジソン病、グレース病、橋本甲状腺炎、自己免疫性精巣炎、ベーチェット病、関節リウマチ、歯周病に関連する骨吸収、全身性エリテマトーデス、強皮症多発性筋炎 (Scleroderma Poly-myositis)、皮膚筋炎 (dermatomyositis)、尋常性天疱瘡、脊椎関節症、強直性脊椎炎、およびシェーグレン症候群からなる群より選択される、項目 18 から 20 のいずれか一項に記載の方法。

40

(項目 22)

被験体の移植片対宿主病を防止または処置するための方法であって、治療有効量の項目 5 から 7 のいずれか一項に記載の抗体調製物を前記被験体に投与することを含む、方法。

(項目 23)

前記抗体調製物が Kv1.3 カリウムチャンネルを阻害することにより、移植片対宿主病を防止または処置する、項目 22 に記載の方法。

(項目 24)

50

前記被験体の自己反応性エフェクターメモリーT細胞を枯渇させることにより、移植片対宿主病を防止または処置する、項目22に記載の方法。

【0021】

以下の図面は本発明の実施形態を例示するものであり、特許請求の範囲に含まれる本発明の範囲を限定する意図はない。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1-1】図1Aは、ヒトKv1.3タンパク質のアミノ酸配列(受託番号P22001.3)(配列番号1)を提供する。図1Bは、C末端FLAGタグ(太字イタリック体)および10X Hisタグ(下線)で修飾されたKv1.3アミノ酸配列(配列番号2)

10

【図1-2】図1Aは、ヒトKv1.3タンパク質のアミノ酸配列(受託番号P22001.3)(配列番号1)を提供する。図1Bは、C末端FLAGタグ(太字イタリック体)および10X Hisタグ(下線)で修飾されたKv1.3アミノ酸配列(配列番号2)を示す。

【0023】

【図2】図2は、ヒトKv1.3コード遺伝子(KCNA3)をTetrahymena MTT5プロモーターの制御下におく発現構築物デザイン、およびTetrahymenaリボソームDNAベクターであるpTRAS1のNotI制限部位における発現構築物全体の配置を示す。

20

【0024】

【図3】図3は、Kv1.3プロテオリポソーム免疫原調製物のSDS-PAGEおよびウェスタン分析を示す。左のパネルは、SDS-PAGEで分解し、クーマシー染料によって検出したKv1.3を示す。右のパネルは、抗Kv1.3細胞外ループ抗体を使用した抗Kv1.3のウェスタン分析を示す。Kv1.3は、予測された分子量(約66kDa)に対応する単量体と、より高い分子量(>250kDa)の種との、2つの別個の種として分解することに留意されたい。

【0025】

【図4】図4は、免疫化したニワトリの血清中の抗Kv1.3抗体価のFACS分析を示す。FACS分析は、Kv1.3磁性ビーズを用いて行った。左のパネルは、市販の抗Kv1.3抗体ありまたはなしでインキュベートしたビーズの分布を示す対照分析である。中央のパネルは、免疫前の血清またはKv1.3で免疫化したニワトリの血清(3回目の抽出)のいずれかと共にインキュベートしたKv1.3ビーズの分布を示す。右のパネルは、免疫前の血清または無関係のイオンチャンネルで免疫化したニワトリの血清(3回目の抽出)のいずれかと共にインキュベートしたKv1.3ビーズの分布を示す。

30

【0026】

【図5】図5A~図5Bは、抗Kv1.3抗体を単離するためにグルカン酵素方法(GEM: Glucan Enzymatic Method)アッセイにおいて使用したKv1.3製剤を示す。図5Aは、Kv1.3プロテオリポソームを例示する(ブロックはリン脂質二重層中のKv1.3タンパク質を表す)。図5Bは、市販の抗Kv1.3抗体で標識されたKv1.3磁性ビーズを示す。

40

【0027】

【図6】図6は、HEK293細胞内で発現する二価scFv-Fc抗体のデザインを例示する。この構築物は、リーダー配列(Le)、可変軽鎖(VL)、リンカー領域(Li)、可変重鎖(VH)、およびヒトIgG1のFcドメイン(hIgG1-Fc)を含む。

【0028】

【図7】図7Aは、ニワトリ由来(ch\_\_)の抗体(p1A1、p1A11、p1F8、p1D8、p1H4、p2A3、p2G9、p1H7、およびp1E6)によるKv1.3活性の機能的阻害を示す。図7Bは、ラマ由来(L)の抗体(1A3)によるKv1.3活性の機能的阻害を示す。図7Cは、Kv1.3活性を機能的に阻害しないニワトリ由

50

来の特定の抗 K v 1 . 3 抗体の例 ( p 2 D 9 ) を示す。 K v 1 . 3 の活性は、ヒト K v 1 . 3 を一過性に発現する L 9 2 9 ヒト線維芽細胞において、ホールセルパッチクランプ法による電気生理学によって決定した。上の線は、抗体の非存在下における細胞の対照の電気生理学記録を示す。下の線は、400 nM の抗体と共にインキュベートした細胞の電気生理学記録を示す。

【 0 0 2 9 】

【 図 8 】 図 8 A は、 K v 1 . 3 活性を遮断するニワトリ由来 ( c h \_\_ ) の 3 個の抗体 ( p 1 E 6 、 L 1 A 3 、 および p 2 G 9 ) の用量応答分析を示す。10倍希釈の抗体と共にインキュベートした細胞の電流記録が示されている。図 8 B は、抗体 p 1 E 6 の抗体 L 1 A 3 との比較 ( 上パネル ) そして p 2 G 9 との比較 ( 下パネル ) を行った用量 - 応答曲線を示す。各抗体の I C 5 0 値は、6 nM ( p 1 E 6 ) 、 4 6 nM ( p 2 G 9 ) 、 および 1 0 9 nM ( L 1 A 3 ) と算出された。

10

【 0 0 3 0 】

【 図 9 】 図 9 は、他の K v ファミリーメンバーである K v 1 . 5 および K v 1 1 . 1 ( h E R G ) と比較した、 K v 1 . 3 活性の遮断に関する抗体 p 1 A 1 の選択性を示す。

【 0 0 3 1 】

【 図 1 0 】 図 1 0 は、 C D 3 / C D 2 8 活性化サル T 細胞において天然 K v 1 . 3 の機能を抗体 L 1 A 3 が阻害したことを示す。

【 0 0 3 2 】

【 図 1 1 A - 1 】 図 1 1 A ~ 図 1 1 B は、本発明に従ってニワトリで産生された抗 K v 1 . 3 抗体の軽鎖可変領域 ( 配列番号 3 ~ 4 2 ) のアラインメントを示す。 C D R 1 、 2 、 および 3 のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

20

【 図 1 1 A - 2 】 図 1 1 A ~ 図 1 1 B は、本発明に従ってニワトリで産生された抗 K v 1 . 3 抗体の軽鎖可変領域 ( 配列番号 3 ~ 4 2 ) のアラインメントを示す。 C D R 1 、 2 、 および 3 のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

【 図 1 1 B - 1 】 図 1 1 A ~ 図 1 1 B は、本発明に従ってニワトリで産生された抗 K v 1 . 3 抗体の軽鎖可変領域 ( 配列番号 3 ~ 4 2 ) のアラインメントを示す。 C D R 1 、 2 、 および 3 のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

【 図 1 1 B - 2 】 図 1 1 A ~ 図 1 1 B は、本発明に従ってニワトリで産生された抗 K v 1 . 3 抗体の軽鎖可変領域 ( 配列番号 3 ~ 4 2 ) のアラインメントを示す。 C D R 1 、 2 、 および 3 のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

30

【 0 0 3 3 】

【 図 1 2 】 図 1 2 は、本発明に従ってニワトリで産生されたユニークな軽鎖 C D R 配列 ( 配列番号 4 3 ~ 1 1 2 ) のアラインメントを示す。

【 0 0 3 4 】

【 図 1 3 A - 1 】 図 1 3 A ~ 図 1 3 C は、本発明に従ってニワトリで産生された抗 K v 1 . 3 抗体の重鎖可変領域 ( 配列番号 1 2 5 ~ 1 6 4 ) のアラインメントを示す。 C D R 1 、 2 、 および 3 のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

【 図 1 3 A - 2 】 図 1 3 A ~ 図 1 3 C は、本発明に従ってニワトリで産生された抗 K v 1 . 3 抗体の重鎖可変領域 ( 配列番号 1 2 5 ~ 1 6 4 ) のアラインメントを示す。 C D R 1 、 2 、 および 3 のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

40

【 図 1 3 B - 1 】 図 1 3 A ~ 図 1 3 C は、本発明に従ってニワトリで産生された抗 K v 1 . 3 抗体の重鎖可変領域 ( 配列番号 1 2 5 ~ 1 6 4 ) のアラインメントを示す。 C D R 1 、 2 、 および 3 のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

【 図 1 3 B - 2 】 図 1 3 A ~ 図 1 3 C は、本発明に従ってニワトリで産生された抗 K v 1 . 3 抗体の重鎖可変領域 ( 配列番号 1 2 5 ~ 1 6 4 ) のアラインメントを示す。 C D R 1 、 2 、 および 3 のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

【 図 1 3 C - 1 】 図 1 3 A ~ 図 1 3 C は、本発明に従ってニワトリで産生された抗 K v 1 . 3 抗体の重鎖可変領域 ( 配列番号 1 2 5 ~ 1 6 4 ) のアラインメントを示す。 C D R 1 、 2 、 および 3 のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

50

【図13C-2】図13A～図13Cは、本発明に従ってニワトリで産生された抗Kv1.3抗体の重鎖可変領域（配列番号125～164）のアラインメントを示す。CDR1、2、および3のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

【0035】

【図14-1】図14は、本発明に従ってニワトリで産生されたユニークな重鎖CDR配列（配列番号165～229）のアラインメントを示す。

【図14-2】図14は、本発明に従ってニワトリで産生されたユニークな重鎖CDR配列（配列番号165～229）のアラインメントを示す。

【0036】

【図15-1】図15は、本発明に従ってラマで産生された抗Kv1.3抗体の軽鎖可変領域（配列番号230～248）のアラインメントを示す。CDR1、2、および3のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

10

【図15-2】図15は、本発明に従ってラマで産生された抗Kv1.3抗体の軽鎖可変領域（配列番号230～248）のアラインメントを示す。CDR1、2、および3のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

【0037】

【図16】図16は、本発明に従ってラマで産生されたユニークなラマ軽鎖CDR配列（配列番号249～297）のアラインメントを示す。

【0038】

【図17-1】図17は、本発明に従ってラマで産生された抗Kv1.3抗体の重鎖可変領域（配列番号298～316）のアラインメントを示す。CDR1、2、および3のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

20

【図17-2】図17は、本発明に従ってラマで産生された抗Kv1.3抗体の重鎖可変領域（配列番号298～316）のアラインメントを示す。CDR1、2、および3のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

【図17-3】図17は、本発明に従ってラマで産生された抗Kv1.3抗体の重鎖可変領域（配列番号298～316）のアラインメントを示す。CDR1、2、および3のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

【0039】

【図18-1】図18は、本発明に従ってラマで産生されたユニークなラマ重鎖CDR配列（配列番号317～370）のアラインメントを示す。

30

【図18-2】図18は、本発明に従ってラマで産生されたユニークなラマ重鎖CDR配列（配列番号317～370）のアラインメントを示す。

【0040】

【図19】図19は、本発明に従ってニワトリで産生され（配列番号371～380）、図11A～11Bに示されるものとは異なる抗Kv1.3抗体の軽鎖可変領域のアラインメントを示す。CDR1、2、および3のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

【0041】

【図20】図20は、図19に示される通りであり、本発明に従って産生されたユニークな軽鎖CDR配列（配列番号381～398）のアラインメントを示す。

40

【0042】

【図21-1】図21は、本発明に従ってニワトリで産生され（配列番号399～408）、図13A～13Cに示されるものとは異なる抗Kv1.3抗体の重鎖可変領域のアラインメントを示す。CDR1、2、および3のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

【図21-2】図21は、本発明に従ってニワトリで産生され（配列番号399～408）、図13A～13Cに示されるものとは異なる抗Kv1.3抗体の重鎖可変領域のアラインメントを示す。CDR1、2、および3のおよその位置は、太字で下線のある文字によって強調されている。

50

## 【 0 0 4 3 】

【図 2 2】図 2 2 は、図 2 1 に示される通りであり、本発明に従って産生されたユニークな重鎖 C D R 配列（配列番号 4 0 9 ~ 4 2 9）のアラインメントを示す。

## 【発明を実施するための形態】

## 【 0 0 4 4 】

本開示は、単離された抗体（A b）、特にヒト K v 1 . 3 に高い親和性で特異的に結合する A b、および K v 1 . 3 の機能的活性を調整する A b に関する。ある特定の形態では、抗 K v 1 . 3 A b は、特定の重鎖配列および軽鎖配列に由来し、かつ/または、特定のアミノ酸配列を含む C D R 領域などの特定の構造的な特色を含む。本開示は、単離された抗 K v 1 . 3 A b、かかる抗 K v 1 . 3 A b を作製する方法、かかる抗 K v 1 . 3 A b を含むイムノコンジュゲートおよび二重特異性分子、ならびにかかる抗 K v 1 . 3 A b を発現させる方法を提供する。本開示は、自己免疫疾患のための治療処置または診断試薬として抗 K v 1 . 3 A b を使用する方法にも関する。

10

## 【 0 0 4 5 】

定義

## 【 0 0 4 6 】

本明細書で使用される科学用語および技術用語は全て、以下に別途定義されない限り、当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有するよう意図される。本明細書において用いられる技術の参照は、当技術分野で一般的に理解されている技術を、当業者には明らかであろう当該技術のバリエーションまたは均等な技術もしくは後に開発される技術の代用を含めて指すよう意図される。加えて、本発明である主題をより明確かつ簡潔に記載するために、本明細書および添付の特許請求の範囲で使用されているある特定の用語に関して以下の定義を提供する。

20

## 【 0 0 4 7 】

本明細書で使用される「抗体」という用語または「A b」という略語は、天然のグリコシル化の有無にかかわらず、全抗体およびその任意の抗原結合性断片（すなわち「抗原結合性部分」）または単鎖を含む。完全「抗体」とは、ジスルフィド結合によって相互接続した少なくとも 2 つの重（H）鎖および 2 つの軽（L）鎖またはそれらの抗原結合性部分を含む糖タンパク質を指す。各重鎖は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）および重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、3 つのドメイン、C<sub>H</sub>1、C<sub>H</sub>2、および C<sub>H</sub>3 を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）および 1 つのドメイン C<sub>L</sub> を有する軽鎖定常領域を含む。V<sub>H</sub> 領域および V<sub>L</sub> 領域は、相補性決定領域（C D R）およびフレームワーク領域（F R）にさらに細分され得る。V<sub>H</sub> 領域および V<sub>L</sub> 領域はそれぞれ、抗原（例えば K v 1 . 3）と相互作用する、C D R 1、C D R 2、および C D R 3 と表記される 3 つの C D R を含む。

30

## 【 0 0 4 8 】

本明細書で使用される、抗体の「抗原結合性部分」という用語は、抗原（例えば K v 1 . 3）に特異的に結合する能力を保持する、抗体の 1 つまたは複数の断片を指す。抗体の「抗原結合性部分」という用語に包含される結合性断片の例としては、F a b 断片、F ( a b ' )<sub>2</sub> 断片、F a b ' 断片、F d 断片、F v 断片、s c F v 断片、d A b 断片、および単離された C D R が挙げられる。

40

## 【 0 0 4 9 】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体調製物」という用語は、単一の重鎖アミノ酸配列および単一の軽鎖アミノ酸配列を有する（しかし不均一にグリコシル化していてもよい）抗体から本質的になる抗体分子の調製物を指す。

## 【 0 0 5 0 】

本明細書で使用される「ヒト化抗体」という用語は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列由来の定常領域および可変領域フレームワーク領域（F R）を有するが C D R は有しない抗体を含む。

## 【 0 0 5 1 】

本明細書で使用される「組換え抗体」という用語は、組換え手段によって調製、発現、作

50

出、または単離された全ての抗体を含む。ある特定の実施形態では、組換え抗体は、抗体を発現するように形質転換された宿主細胞から（例えば、トランスフェクトマ（transfectoma）から）単離される。他の実施形態では、組換え抗体は、ファージディスプレイライブラリなどの組換え型コンビナトリアル抗体ライブラリーから単離される。組換え抗体は、他のDNA配列に対するヒト免疫グロブリン遺伝子配列のスプライシングを伴う任意の他の手段によって調製、発現、作出、または単離される場合もある。

【0052】

本明細書で使用される「アイソタイプ」という用語は、定常領域遺伝子によってコードされる重鎖クラス（例えば、ヒト抗体ではIgA、IgD、IgE、IgG、およびIgM）または軽鎖クラス（例えば、ヒトのカッパまたはラムダ）を指す。「サブタイプ」という用語は、サブタイプ内のサブクラス（例えば、ヒトのIgA<sub>1</sub>、IgA<sub>2</sub>、IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>、IgG<sub>4</sub>）を指す。

10

【0053】

本明細書において、特定した抗原「に対して特異的な抗体」という語句は、特定した抗原「に特異的に結合する抗体」という語句と互換的に使用される。本明細書で使用される場合、「K<sub>a</sub>」という用語は、特定の抗体-抗原複合体の会合速度を指し、「K<sub>d</sub>」という用語は、その解離速度を指す。「K<sub>D</sub>」という用語は、K<sub>d</sub>対K<sub>a</sub>の比から得られ、モル濃度（M）として表される、解離定数を指す。一部の実施形態によると、「ヒトKv1.3に特異的に結合する」抗体とは、 $5 \times 10^{-8}$  Mまたはそれよりも小さい、より好ましくは $1 \times 10^{-8}$  Mまたはそれよりも小さいK<sub>D</sub>でヒトKv1.3に結合する抗体を指すよう意図される。

20

【0054】

別途定義されない限り、本明細書で使用される技術用語および科学用語は全て、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと同様または均等な方法および材料を本発明の実践または試験に使用することができるが、好適な方法および材料を以下に記載する。本明細書において言及される公開文献、特許出願、特許、および他の参考文献は全て、参照によりその全体が組み込まれる。矛盾する場合、定義を含め、本明細書が優先する。加えて、材料、方法、および実施例は単なる例示であり、限定を意図するものではない。

【0055】

本明細書において参照される特許、科学文献および技術文献は、出願時の当業者に利用可能であった知識を立証する。本明細書において引用される交付済み米国特許、公開済みおよび係属中の特許出願、ならびに他の公開文献の全開示内容は、あたかもそれぞれが参照により組み込まれることが明確かつ個々に示されているかのように、参照により本明細書に組み込まれる。何らかの矛盾がある場合は、本開示が優先する。

30

【0056】

抗Kv1.3抗体

【0057】

本発明は、ヒトKv1.3タンパク質、特に細胞外ループ上のエピトープに対する親和性が高く、かつKv1.3機能の活性を調整する、多様な新しい抗体を提供する。本抗体は、本明細書において開示される完全なVH領域およびVL領域を含んでもよいし、あるいは、本明細書において開示されるCDR配列のみを公知のヒトもしくは他の哺乳動物（例えばヒト）またはトリ（例えばニワトリ）のフレームワーク領域と組み合わせて含んでもよい。加えて、本明細書において開示される特定のCDR配列に基づき、コンセンサスCDR配列の配列モチーフが提供され、また、これらのモチーフによって定義されるCDR配列を公知のヒトもしくは他の哺乳動物またはトリのフレームワーク領域と組み合わせて含む抗体も提供される。さらに、VL領域およびVH領域の各CDRに関して可能性のある基準構造が割り当てられ、開示される構造的モチーフに属するCDRを公知のヒトもしくは他の哺乳動物またはトリのフレームワーク領域と組み合わせて含む抗体も提供される。

40

【0058】

50

本発明のCDR配列(図11~図22に開示されるCDRおよび本明細書において開示される配列モチーフによって定義されるCDRの両方を含む)を、当技術分野で周知の方法により他の免疫グロブリン配列と組み合わせると、本発明のCDRによって決定される抗原結合特異性を有する免疫グロブリン分子を産生することができる。

【0059】

一部の実施形態では、本発明のCDRは、他の抗体のフレームワーク領域(FR)および定常ドメイン(CHまたはCL)配列と組み合わせられる。例えば、本明細書において開示されるCDRの一部はニワトリB細胞に由来し、ニワトリのFRおよび定常ドメイン配列を有するが、それらをヒトもしくは他の哺乳動物またはトリのFRおよび定常ドメイン配列と組換えて、ヒト化抗体または他の組換え抗体を産生することができる。同様に、本明細書において開示されるラマ由来のCDRをヒトまたは他の哺乳動物の定常ドメイン配列と組換えて、ヒト化抗体または他の組換え抗体を産生することができる。そのような組換え抗体の産生は当業者に周知であり、慣例的な実験しか必要としない。

10

【0060】

そのような組換え抗体に含まれる定常領域の種類は、それらの意図される使用によって選択することができる。例えば、抗体が、Kv1.3発現細胞を標的として破壊するための治療上の使用のために意図される場合、IgGサブタイプの重鎖定常ドメイン(すなわち、Fc領域)が使用され得る。抗体が細胞を標識するため(例えば、蛍光活性化細胞ソーティング(FACS)のため)の試薬としてのみ意図される場合、完全抗体、抗原結合性断片(Fab)、単鎖可変断片(scFv)、単ドメイン抗体(sdAb)、またはさらには非抗体免疫グロブリン分子(例えば、MHC受容体細胞外ドメイン)を本発明のCDRと共に使用してもよい。

20

【0061】

本発明のCDRは、所与の可変軽(VL)鎖または可変重(VH)鎖のCDR1、CDR2、およびCDR3配列が、異なる元のVLおよびVH鎖から、異なるVLおよびVH CDRモチーフから、または開示されるCDRおよびモチーフの組み合わせから選択され得るように、独立して選択することができる。しかしながら、軽鎖CDRの配列は、開示されるVL CDRまたはVL CDRモチーフから選択されるべきであり、重鎖CDRの配列は、開示されるVH CDRまたはVH CDRモチーフから選択されるべきである。同様に、必要に応じてVL鎖またはVH鎖につき、CDR1領域の配列は、開示されるCDR1またはCDR1モチーフ配列から選択されるべきであり、CDR2領域の配列は、開示されるCDR2またはCDR2モチーフ配列から選択されるべきであり、CDR3領域の配列は、開示されるCDR3またはCDR3モチーフ配列から選択されるべきである。

30

【0062】

ある特定の態様では、本発明は、図11~図22に記載の抗体のうちのいずれか1つの結合特異性を有するKv1.3結合抗体またはその抗原結合性部分を提供する。

【0063】

ある特定の態様では、本発明は、Kv1.3結合抗体またはその抗原結合性部分であって、図13、図17、または図21の抗体のVH鎖と90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるVH鎖と、図11、図15、または図19の抗体のVL鎖と90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であるVL鎖とを含む、抗体またはその抗原結合性部分を提供する。

40

【0064】

ある特定の態様では、本発明は、Kv1.3結合抗体またはその抗原結合性部分であって、図13、図17、または図21の抗体のVH鎖と、図11、図15、または図19の抗体のVL鎖とを含む、抗体またはその抗原結合性部分を提供する。

【0065】

ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、完全にヒト化されかつ組換え産生されたものである。ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、

50

天然に存在しない。ある特定の実施形態では、抗体は、K v 1 . 3 で免疫化された動物から単離されたV H鎖およびV L鎖の対形成 ( p a i r i n g ) を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、K v 1 . 3 で免疫化された動物から単離されたV H鎖およびV L鎖の対形成を含み、抗体のF c部分は、免疫化された動物から単離されたV H鎖およびV L鎖の対のアイソタイプまたは一部分ではない。ある特定の実施形態では、抗体は、V H鎖およびV L鎖の対形成を含み、V HまたはV Lは、免疫化された動物から個々に単離され得る。一部の実施形態では、抗体は、1つのクローン細胞株のV H鎖またはV H鎖のC D Rと、別のクローン細胞株のV LまたはC D Rとを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、1個または複数のアミノ酸を置換することによって修飾されたK v 1 . 3 で免疫化された動物から単離されたV H鎖およびV L鎖の対形成を含む。

10

## 【 0 0 6 6 】

ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、図 1 3、図 1 7、または図 2 1 の抗体のC D R 1、C D R 2、およびC D R 3を含むV Hを含む。ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、図 1 1、図 1 5、または図 1 9 の抗体のC D R 1、C D R 2、およびC D R 3を含むV Lを含む。

## 【 0 0 6 7 】

ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、図 1 3、図 1 7、または図 2 1 の抗体のC D R 1、C D R 2、およびC D R 3を含むV Hを含み、図 1 1、図 1 5、または図 1 9 の抗体のC D R 1、C D R 2、C D R 3を含む相補的V Lをさらに含む。

## 【 0 0 6 8 】

ある特定の態様では、本発明は、本発明の抗体のうちのいずれか1つもしくはその抗原結合性部分またはそれらの任意の組み合わせを含む医薬組成物を提供する。ある特定の態様では、本発明は、本発明の抗体のうちのいずれか1つまたはその抗原結合性部分と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物を提供する。

20

## 【 0 0 6 9 】

当業者であれば、抗体の配列ならびにそれらのK v 1 . 3 の親和性および阻害を比較することで、配列同一性の決定、配列長の比較、そしてC D Rにおける配列同一性パーセントおよび/または変化を含む、V H配列およびV L配列における配列同一性パーセントおよび/または変化を含む、配列同一性パーセントおよび/または変化、ならびにK v 1 . 3 の親和性および阻害を維持しながら許容され得る置換の特定の位置および種類の決定を容易に行うことができる。

30

## 【 0 0 7 0 】

ある特定の実施形態では、本発明は、本明細書に記載の抗体のV HおよびV Lのアミノ酸配列と99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%、80%同一である抗体であって、K v 1 . 3 に結合しこれを阻害する抗体を提供する。ある特定の実施形態では、本発明は、本明細書に記載の抗体のV HのC D R 1、2、および/または3ならびにV LのC D R 1、2、および/または3のアミノ酸配列と99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%、80%同一である抗体

40

## 【 0 0 7 1 】

抗K v 1 . 3 抗体を使用する方法

## 【 0 0 7 2 】

本発明の抗K v 1 . 3 抗体は、免疫親和性精製、免疫組織化学、および免疫療法の標準的な方法において使用することができるが、K v 1 . 3 タンパク質を発現する細胞および組織に対する特異的な適用で使用される。

## 【 0 0 7 3 】

例えば、本発明の抗K v 1 . 3 抗体を使用すると、K v 1 . 3 を発現する細胞をごく一部しか含まない細胞の混合集団から、K v 1 . 3 を発現する細胞を単離することができる。

50

例えば、個々の細胞は、蛍光標識された抗 K v 1 . 3 抗体を使用する F A C s または固定化された抗 K v 1 . 3 抗体を使用する免疫親和性精製などの技術に供され得る。

【 0 0 7 4 】

同様に、固定化された抗 K v 1 . 3 抗体は、K v 1 . 3 発現細胞に由来する溶解物からの K v 1 . 3 タンパク質の精製のために使用され得る。K v 1 . 3 タンパク質は、細胞膜断片と会合した状態のまま精製されてもよいし、または、例えば多様な界面活性剤で処理した後の、生体膜からの解離後に精製されてもよい。さらに、K v 1 . 3 は、K v 1 . 3 に特異的に結合する小分子または生物製剤（例えばペプチド、m A b など）と会合しながら、そのような様式で精製されてもよい。そのような精製された K v 1 . 3 調製物は、結合した分子の有無を問わず K v 1 . 3 に関する構造的情報を決定するために使用される技術（例えば結晶学、c r y o E M）における有用性を有する。さらに、そのような調製物は、K v 1 . 3 と特異的に相互作用する分子のための多様なライブラリ（例えば小分子、m A b）のスクリーニングにおいて有用性を有する。

10

【 0 0 7 5 】

代替的に、K v 1 . 3 を発現する細胞もしくは組織を特定するため、および/またはそのような細胞における K v 1 . 3 の発現を定量化するために、本発明の抗 K v 1 . 3 抗体を使用して免疫組織化学を行ってもよい。

【 0 0 7 6 】

加えて、本発明の抗 K v 1 . 3 抗体は、K v 1 . 3 発現細胞、特に T E M 細胞を標的とし、かつ/またはそのような細胞における K v 1 . 3 の機能を阻害するために、治療上使用することができる。さらに、K v 1 . 3 に結合し、かつ K v 1 . 3 活性を阻害する場合も、しない場合もある本発明の抗 K v 1 . 3 抗体は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（A D C C）および補体依存性細胞傷害（C D C）などの細胞傷害性 F c 媒介性エフェクター機能を介して、標的 K v 1 . 3 発現細胞、特に T E M 細胞を枯渇させ得る。さらに、K v 1 . 3 機能を阻害する部分とコンジュゲートされた本発明の抗 K v 1 . 3 抗体も治療上使用され得る。本発明の抗 K v 1 . 3 抗体の抗体 - 薬物コンジュゲートを使用して、治療薬を K v 1 . 3 発現細胞に送達することもできる。

20

【 0 0 7 7 】

自己免疫疾患では、特定の自己反応性 T 細胞は、炎症組織に遊走しサイトカインを分泌することにより病原に寄与する、慢性的に活性化されたメモリー T 細胞に分化し得る。いずれの作用機序にも拘束されないが、一部の実施形態では、K v 1 . 3 活性の遮断は、抗原に应答して T 細胞の表現型を変化させ、自己免疫疾患を処置するにあたって有益な抑制状態へと T 細胞を変換し得る。慢性自己免疫疾患では、T エフェクターメモリー（T E M）細胞のクローン増殖がある。K v 1 . 3 機能喪失変異を有する細胞においては、T セントラルメモリー（T C M）細胞は T エフェクターメモリー（T E M）細胞に分化できず、T E M 細胞は T C M 細胞に復帰しさえすることが示されている。（H u ら（2012年）、J . o f B i o l o g i c a l C h e m i s t r y、287巻（2号）、1261~68頁）。このように一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、K v 1 . 3 機能を阻害して自己免疫性免疫障害を処置する。したがって、本発明の K v 1 . 3 結合抗体またはその抗原結合性部分は、被験体の自己免疫障害を防止または処置するための方法において使用することができる。本方法は、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分の治療有効量を被験体に投与することを含む。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、K v 1 . 3 カリウムチャネルを阻害する。一部の実施形態では、被験体の自己反応性エフェクターメモリー T 細胞が枯渇または低減する。一部の実施形態では、被験体は、自己免疫疾患を有することが疑われるか、または自己免疫疾患を有することについて評価される。一部の実施形態では、被験体はヒトである。

30

40

【 0 0 7 8 】

一部の実施形態では、自己免疫障害は、多発性硬化症、重症筋無力症、自己免疫性神経障害、ギランバレー症候群、自己免疫性ぶどう膜炎、クローン病、潰瘍性大腸炎、原発性胆汁性肝硬変、自己免疫性肝炎、自己免疫性血小板減少症、1型真性糖尿病、アジソン病、

50

グレーブス病、橋本甲状腺炎、自己免疫性精巣炎、ベーチェット病、関節リウマチ、歯周病に関連する骨吸収、全身性エリテマトーデス、強皮症多発性筋炎 ( S c l e r o d e r m a P o l y m y o s i t i s )、皮膚筋炎 ( d e r m a t o m y o s i t i s i s )、尋常性天疱瘡、脊椎関節症、強直性脊椎炎、またはシェーグレン症候群である。

【 0 0 7 9 】

移植片対宿主病 ( G v H D ) は、ドナーからレシピエントへの組織の移植後に起こり得る。G v H D は、M H C 不適合の宿主組織を認識し破壊する、ドナー臓器由来のレシピエント反応性 T 細胞によって引き起こされる。したがって、本発明の K v 1 . 3 結合抗体またはその抗原結合性部分は、被験体の G v H D を防止または処置するための方法において使用することができる。本方法は、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分の治療有効量を被験体に投与することを含む。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、K v 1 . 3 カリウムチャネルを阻害する。一部の実施形態では、被験体の自己反応性エフェクターメモリー T 細胞が枯渇または低減する。一部の実施形態では、被験体は、遺伝学的に同一でないドナーから臓器移植を受けたことがある。一部の実施形態では、被験体はヒトである。

10

【 0 0 8 0 】

一部の実施形態では、本発明の K v 1 . 3 結合抗体またはその抗原結合性部分は、被験体の K v 1 . 3 カリウムチャネルを阻害するための方法において使用することができる。本方法は、K v 1 . 3 カリウムチャネルを阻害するのに有効な量で本明細書に記載の抗体を被験体に投与することを含む。一部の実施形態では、被験体はヒトである。

20

【 0 0 8 1 】

抗 K v 1 . 3 抗体をコードする核酸分子

【 0 0 8 2 】

本発明は、本発明の抗 K v 1 . 3 抗体をコードする核酸分子も提供する。そのような核酸は、所望のアミノ酸配列をコードするコドンを選択するために普遍的な遺伝コードの標準的な表を使用してデザインしてもよいし、または異なる生物に特徴的なコドンバイアスを反映する特化したコドン表を使用してもよい。したがって、例えば、C H O 細胞における本発明の抗 K v 1 . 3 抗体の発現を最適化するためには、C H O 細胞のために最適化されたコドン表を使用して、所望の抗体をコードする核酸をデザインすることができる。

【 0 0 8 3 】

本発明の抗 K v 1 . 3 抗体をコードする核酸は、クローニングベクター (例えば、細菌または哺乳動物のクローニングベクター)、形質転換ベクター (例えば、相同組換えベクター、ウイルス組込みベクター、または自己複製ベクター)、および発現ベクター (例えば、高コピー数、誘導性、または構成的な哺乳動物発現ベクター) をはじめとする、当技術分野で公知の多種多様なベクターに含めることができる。

30

【 0 0 8 4 】

抗 K v 1 . 3 抗体を発現する細胞

【 0 0 8 5 】

本発明の抗 K v 1 . 3 抗体をコードする異種配列を発現する宿主細胞も提供される。そのような宿主細胞は、本発明の抗 K v 1 . 3 抗体の商業的産生のために有用であり得、上述の発現ベクターで適切な宿主細胞を形質転換することによって産生することができる。

40

【 0 0 8 6 】

一部の実施形態では、本発明は、C H O 細胞を含め、本発明の抗 K v 1 . 3 抗体を発現する哺乳動物細胞を提供する。しかしながら、当業者であれば、細菌系、酵母系、昆虫系、および哺乳動物系をはじめとする多様な宿主細胞において抗体を発現させることができる。例えば、参照により本明細書に全体が組み込まれる、V e r m a ら ( 1 9 9 8 年 )、J . I m m u n o l . M e t h o d s、2 1 6 巻 ( 1 ~ 2 号 ) : 1 6 5 ~ 8 1 頁を参照されたい。

【 0 0 8 7 】

医薬組成物

50

## 【 0 0 8 8 】

ある特定の態様では、本発明は、本明細書に記載の抗体を含む医薬組成物を提供し、組成物は、限定されないが、自己免疫疾患またはG v H Dの処置および/または防止などの治療目的に使用される。ある特定の態様では、本発明は、自己免疫疾患またはG v H Dを処置および/または防止するための、任意の他の好適な抗体または組成物と組み合わせた、本明細書に記載の抗体を含む医薬組成物を提供する。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、本明細書に記載の抗体をコードする1つまたは複数の核酸を含む。ある特定の実施形態では、これらの核酸は、抗体の発現のための任意の好適なベクターによって発現させることができる。

## 【 0 0 8 9 】

医薬組成物を作製する種々の方法が当技術分野で公知であり、本発明により想定される。一部の実施形態では、組成物は、本明細書に記載の抗体などの生体分子に好適な賦形剤を含む。一部の実施形態では、抗体は、抗体のグリコシル化を制御するために、特定の細胞株および条件において産生される場合がある。

## 【 0 0 9 0 】

ある特定の態様では、本発明は、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分が組成物(例えば医薬組成物)として製剤化され得ることを提供する。好適な組成物は、薬学的に許容される担体(例えば水性媒体)中に溶解または分散した抗体またはその抗原結合性部分を含み得る。組成物は無菌であってもよく、また静脈内によって、例えばポーストとして、または持続注入によって投与される場合がある。投与は、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、関節滑液嚢内、髄腔内、経口局所、または吸入によるものであり得る。抗体またはその抗原結合性部分は、皮膚または粘膜への局所投与に適切な組成物として製剤化することもできる。そのような組成物は、液体、軟膏、クリーム、ゲル、およびペーストの形態をとることができる。好適な組成物の調製には、標準的な製剤化技術を使用することができる。

## 【 0 0 9 1 】

本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、自己免疫疾患および/または移植片対宿主病を有する被験体に投与すること、ならびに、K v 1 . 3細胞を発現するT細胞の表面に抗体またはその抗原結合性部分が結合することによってT細胞を殺傷するために使用することができる。

## 【 0 0 9 2 】

好適な用量範囲は、抗体またはその抗原結合性部分ならびに製剤の性質および投与経路に依存し得る。当業者であれば、過度の実験を行うことなく最適な用量を決定することができる。

## 【 実施例 】

## 【 0 0 9 3 】

K v 1 . 3免疫原およびB細胞およびファージスクリーニング試薬の調製

## 【 0 0 9 4 】

ヒトK v 1 . 3タンパク質をコードする遺伝子(図1A;配列番号1)を、T e t r a h y m e n a t h e r m o p h i l aにおける発現のために最適化した。最適化したK v 1 . 3遺伝子を、K v 1 . 3のC末端における二重親和性のF L A G ( D Y K D D D D K )および10X H i s タグをコードするヌクレオチドの組み込みによってさらに修飾した(図1B:配列番号2)。最適化したK v 1 . 3遺伝子を合成し、K v 1 . 3遺伝子発現を誘導性T e t r a h y m e n a t h e r m o p h i l aメタロチオネインプロモーターの制御下におく発現カセットにクローニングした(図2)。その後、K v 1 . 3遺伝子を含む発現カセット全体を、T e t r a h y m e n a t h e r m o p h i l a高コピー数リボソームDNA発現ベクター、p T R A S 1 (図2;米国特許第8,664,374号)にクローニングした。交配するT e t r a h y m e n a細胞をK v 1 . 3含有p T R A S 1で形質転換し、形質転換体の選択剤を含有する培地中で生存可能な形質転換体を選択した。遺伝子発現の誘導後にK v 1 . 3を発現する細胞を、K v 1 . 3免疫原の調

10

20

30

40

50

製のために選択した。形質転換体 *Tetrahymena* 細胞の培養物 (> 1 L) を増殖させ、Kv1.3 の発現を誘導し、採取し、微小流動化 (microfluidization) によって溶解した。膜画分を遠心分離によって収集してから、後の精製のために冷凍した。

【0095】

Fos-Choline 界面活性剤を含有する緩衝液中で *Tetrahymena* の膜から Kv1.3 を抽出し、その後、NiNTA クロマトグラフィーによって精製した。精製した Kv1.3 を 10 mg/ml のホスファチジルコリンからなるリポソームに再構成して、Kv1.3 プロテオリポソームを産生した。図3は、Kv1.3 プロテオリポソーム免疫原試料の SDS-PAGE およびウェスタン分析を示す。

10

【0096】

抗体の生成

【0097】

ニワトリ由来抗体：Kv1.3 プロテオリポソームを使用してニワトリを免疫化し、追加刺激 (boosting) によって免疫応答を増大させた。血清中の特異的抗 Kv1.3 抗体価が増大した期間の後、動物を殺し、脾細胞を採取した。表1は、抗 Kv1.3 抗体価の結果を示す。特異性は、Kv1.3 または無関係のイオンチャネル Nav1.8 のいずれかで被覆されたウェルにおける ELISA シグナルを比較することによって決定した。さらに、図4は、Kv1.3 被覆磁性ビーズを使用した FACS 分析による血清中の特異的抗 Kv1.3 抗体価を示す。無関係のイオンチャネル、すなわち Nav1.8 で免疫化した動物に由来する血清からは、Kv1.3 磁性ビーズを使用した FACS によって特異的なシグナルは観察されなかった。Kv1.3 プロテオリポソームまたは磁性ビーズに結合した Kv1.3 のいずれか (図5A および図5B) を組み込んだ GEM アッセイ (米国特許第 8,030,095 号および米国特許第 8,415,173 号) を使用した蛍光により、抗 Kv1.3 抗体を産生する脾臓 B 細胞が特定された。

20

【0098】

【表1】

表1. 免疫化したニワトリにおける抗Kv1.3抗体価。

希釈	Kv1.3		Nav1.8	
	免疫前	最後の抽出	免疫前	最後の抽出
50	0.242	3.354	0.066	0.444
250	0.063	2.433	0.051	0.141
1250	0.051	1.587	0.057	0.081
6250	0.046	0.621	0.048	0.058
31250	0.038	0.155	0.05	0.05
156250	0.045	0.074	0.049	0.06
781250	0.035	0.051	0.054	0.049

30

【0099】

GEM アッセイにより特定された個々の B 細胞に由来する可変軽鎖および重鎖遺伝子を PCR により増幅し、ヒト IgG1 Fc との融合物として哺乳動物発現ベクターにクローニングして、二価 scFv-Fc 抗体をコードする遺伝子を生成した (図6)。抗体を HEK293 細胞において発現させ、ELISA により上清をアッセイして、無関係のイオンチャネル (Nav1.8) と比較した Kv1.3 への特異的結合を確かめた。以下の表2は、Kv1.3 プロテオリポソームを使用した GEM アッセイにおいて特定された、クローニングされた scFv-Fc 抗体の ELISA 結果を示す。以下の表3は、Kv1.3 磁性ビーズを使用した GEM アッセイにおいて特定された、クローニングされた scFv-Fc 抗体の ELISA 結果を示す。

40

50

【 0 1 0 0 】

【 表 2 】

表2. ニワトリ由来の抗Kv1. 3抗体のELISA分析。

	19724p1.A1		19724p1.A11		19724p1.A5		19724p1.A9		19724p1.B1		19724p1.B11	
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8
50	1.231	0.072	1.209	0.07	1.08	0.054	1.24	0.074	1.119	0.068	1.134	0.074
250	1.496	0.052	1.482	0.05	1.169	0.056	1.486	0.053	1.375	0.064	1.235	0.057
1250	1.216	0.075	1.277	0.059	1.195	0.066	1.404	0.067	1.382	0.065	0.109	0.067
6250	1.101	0.055	1.156	0.067	1.224	0.061	0.94	0.064	1.308	0.057	0.95	0.05
	19724p1.C12		19724p1.C4		19724p1.D11		19724p1.D2		19724p1.D8		19724p1.E2	
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8
50	1.337	0.06	1.096	0.06	1.181	0.059	0.86	0.062	1.053	0.065	1.278	0.061
250	0.103	0.053	1.029	0.07	1.116	0.063	1.004	0.047	1.207	0.048	1.43	0.047
1250	1.526	0.083	1.203	0.056	1.078	0.072	0.904	0.06	1.066	0.062	1.533	0.053
6250	1.075	0.051	1.105	0.051	0.869	0.057	0.638	0.074	0.693	0.058	1.283	0.062
	19724p1.E3		19724p1.F3		19724p1.F6		19724p1.F7		19724p1.F8		19724p1.F9	
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8
50	1.029	0.061	1.199	0.077	1.385	0.072	1.357	0.08	1.802	1.435	1.399	0.065
250	1.349	0.053	1.268	0.054	1.321	0.066	1.372	0.064	1.487	1.007	1.359	0.05
1250	1.22	0.051	1.194	0.053	1.512	0.067	1.358	0.061	1.113	0.436	1.392	0.062
6250	0.83	0.068	0.945	0.075	1.239	0.068	1.353	0.068	0.523	0.183	1.317	0.072
	19724p1.G6		19724p1.H12		19724p1.H2		19724p1.H4		19724p1.H7		19724p1.B5(陰性)	
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8
50	1.64	0.059	1.291	0.077	1.328	0.064	1.344	0.062	1.358	0.071	0.078	0.053
250	1.54	0.056	1.424	0.09	1.466	0.085	1.253	0.066	1.267	0.065	0.082	0.067
1250	1.307	0.051	1.167	0.081	1.397	0.083	1.122	0.077	1.149	0.08	0.073	0.08
6250	1.155	0.062	1.213	0.083	1.202	0.086	0.811	0.094	1.009	0.083	0.088	0.084
	19724p1.E6(陰性)		模擬									
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8								
50	0.077	0.06	0.071	0.04								
250	0.074	0.074	0.071	0.053								
1250	0.077	0.077	0.066	0.067								
6250	0.084	0.084	0.09	0.081								

【 0 1 0 1 】

【 表 3 】

表3. ニワトリ由来の抗Kv1. 3抗体のELISA分析。

	19724p2.A2		19724p2.A3		19724p2.A5		19724p2.A7		19724p2.B5		19724p2.C4	
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8
50	0.621	0.039	0.972	0.058	0.693	0.062	0.795	0.042	0.577	0.07	0.876	0.052
250	0.459	0.051	0.945	0.053	0.747	0.059	0.781	0.051	0.361	0.052	0.829	0.051
1250	0.219	0.055	0.931	0.051	0.584	0.055	0.568	0.047	0.149	0.051	0.828	0.044
6250	0.083	0.054	0.671	0.053	0.29	0.055	0.278	0.056	0.061	0.053	0.412	0.065
	19724p2.D1		19724p2.D2		19724p2.D9		19724p2.E6		19724p2.F7		19724p2.G9	
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8
50	0.951	0.055	0.77	0.056	0.813	0.056	0.878	0.071	0.701	0.061	0.955	0.059
250	0.853	0.053	0.501	0.054	0.974	0.063	0.921	0.063	0.63	0.061	0.994	0.073
1250	0.914	0.046	0.254	0.051	0.753	0.065	0.934	0.063	0.501	0.054	0.919	0.074
6250	0.671	0.053	0.132	0.056	0.557	0.06	0.59	0.063	0.303	0.066	0.638	0.07
	19724p2.H10		19724p2.H12		19724p2.H4		19724p2.H6					
	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8	Kv1.3	Nav1.8				
50	0.853	0.049	0.542	0.046	0.598	0.057	0.912	0.065				
250	0.882	0.061	0.477	0.049	0.506	0.063	0.966	0.059				
1250	0.893	0.064	0.363	0.062	0.285	0.05	0.99	0.054				
6250	0.173	0.051	0.146	0.052	0.136	0.064	0.77	0.052				

【 0 1 0 2 】

ラマ由来抗体：ヒトKv1. 3をコードするDNAでラマを免疫化し、Kv1. 3プロテオリポソームで追加刺激した。特異的な抗Kv1. 3抗体価が検出されたら、ファージラ

10

20

30

40

50

イブラリを構築し、Kv1.3 磁性ビーズを使用してファージのパニングを行った。陽性クローンの配列決定を行い、精製された scFv-Fc 抗体が Kv1.3 に特異的に結合することを ELISA によって確かめた。

【0103】

抗 Kv1.3 抗体の分析

【0104】

抗 Kv1.3 抗体クローンを、(i) ヒト T 細胞株の天然 Kv1.3 に結合するそれらの能力、および/または (ii) Kv1.3 活性の機能性を調整するそれらの能力について試験した(表4および表7)。

【0105】

ヒト白血病 T 細胞株 Jurkat は、細胞表面で Kv1.3 を発現する (Gasiorska ら (2012 年)、Cell Mol Biol Lett.、17 巻: 559~570 頁)。GEM によって発見された各抗体の Jurkat 細胞に結合する能力を FACS によって分析した。表4は、6 個のクローン (19724 p1.A11、19724 p1.D8、19724 p1.H7、19724 p1.E6、19724 p2.A3、19724 p2.G9) が、他の抗体に関連するバックグラウンドレベル (平均シグナルおよそ 193) よりも著しく高いシグナル (平均シグナルおよそ 3,370) で Jurkat 細胞に結合したことを示す。さらに 3 個のクローン (19724 p2.D2、19724 p2.D9、および 19724 p2.E6) は、バックグラウンドレベルよりもわずかに高いシグナル (平均シグナルおよそ 314) を示す。Jurkat 結合に関して FACS 陽性である抗体のうち 1 個のクローン (19724 p1.E6) は、ELISA によって Kv1.3 への結合を示さない。この結果は、この抗体が、最初の GEM 選択に使用した Kv1.3 プロテオリポソームにおいて、そして Jurkat 細胞表面に存在する天然の Kv1.3 チャネルにおいては維持されるが、ELISA 手順の間、おそらく Kv1.3 が ELISA プレートのウェルに結合するときに失われる、コンフォメーション依存性 Kv1.3 エピトープを認識することを示し得る。

【0106】

10

20

30

40

50

## 【表 4】

表4. ニワトリ由来の抗Kv1.3抗体の抗体ELISAおよび機能分析。

抗Kv1.3抗体クローン	Kv1.3 ELISA	Nav1.8 ELISA (陰性)	Jurkat結合 (MFI)	Kv1.3阻害%(400nM)		
				平均	SEM (+/-)	n
19724p1.A1	陽性	陰性	198	50.28	13.02	8
19724p1.A11	陽性	陰性	9401	56.51	10.1	6
19724p1.A5	陽性	陰性	181	0	0	3
19724p1.A9	陽性	陰性	208	0	0	2
19724p1.B1	陽性	陰性	180	0	0	3
19724p1.B11	陽性	陰性	185	0	0	2
19724p1.C12	陽性	陰性	191	0	0	4
19724p1.C4	陽性	陰性	187	0	0	2
19724p1.D11	陽性	陰性	180	0	0	2
19724p1.D2	陽性	陰性	177	0	0	2
19724p1.D8	陽性	陰性	1757	54.47	1.52	3
19724p1.E2	陽性	陰性	202	0	0	2
19724p1.E3	陽性	陰性	205	0	0	2
19724p1.F3	陽性	陰性	180	0	0	2
19724p1.F6	陽性	陰性	181	0	0	2
19724p1.F7	陽性	陰性	185	0	0	2
19724p1.F8	陽性	陰性	174	44.34	12.12	3
19724p1.F9	陽性	陰性	206	0	0	2
19724p1.G6	陽性	陰性	193	0	0	2
19724p1.H12	陽性	陰性	198	0	0	2
19724p1.H2	陽性	陰性	209	0	0	2
19724p1.H4	陽性	陰性	222	45.99	12.38	6
19724p1.H7	陽性	陰性	1168	47.32	12.42	2
19724p1.E6	陽性	陰性	4776	82.28	10.45	12
19724p2.A2	陽性	陰性	205	0	0	2
19724p2.A3	陽性	陰性	1960	45.02	3.5	2
19724p2.A5	陽性	陰性	171	0	0	2
19724p2.A7	陽性	陰性	170	0	0	2
19724p2.B5	陽性	陰性	183	0	0	2
19724p2.C4	陽性	陰性	190	0	0	2
19724p2.D1	陽性	陰性	188	0	0	2
19724p2.D2	陽性	陰性	264	0	0	2
19724p2.D9	陽性	陰性	298	0	0	2
19724p2.E6	陽性	陰性	380	0	0	2
19724p2.F7	陽性	陰性	180	0	0	2
19724p2.G9	陽性	陰性	1157	75.35	11.65	11
19724p2.H10	陽性	陰性	172	0	0	2
19724p2.H12	陽性	陰性	174	0	0	2
19724p2.H4	陽性	陰性	172	0	0	2
19724p2.H6	陽性	陰性	177	0	0	2

## 【 0 1 0 7 】

L929ヒト線維芽細胞において一過性に発現するヒトKv1.3チャネルの阻害について、抗Kv1.3抗体を試験した。EPC-10 HEKA増幅器を使用したホールセルパッチクランプのため、トランスフェクションの24時間後、ポリ-L-リシンで被覆されたカバースリップに細胞を播種した。160mM NaCl、4.5mM KCl、2mM CaCl<sub>2</sub>、1mM MgCl<sub>2</sub>、10mM HEPESを含有する通常のリングル液(pH7.4および290~310mOsmに調整した)中で対照電流を記録した。ソーダ石灰ガラス(マイクロヘマトクリット管、Kimble Chase、Rochester、NY)から2~3Mの抵抗までパッチピペットを引き、45mM KF、2mM MgCl<sub>2</sub>、10mM HEPES、10mM EGTAを含有するピペット内溶液(pH7.2、290~310mOsm)で満たした。30秒毎に200ミリ秒間にわたって印加した40mVまでの脱分極パルスを使用して電流を記録した。抗体は、浴での灌流の直前に通常のリングル液に新たに希釈した。細胞表面積の直接的尺度である細胞キャパシタンス、およびアクセス抵抗を記録中継続的にモニタリングし、電流のランダウンが最小限であることを確実にした。図7は、10個の抗体クローン(ニワトリ抗体p1A11、p1

10

20

30

40

50

D 8、p 1 H 7、P 1 E 6、p 2 A 3、p 2 G 9、p 1 A 1、p 1 F 8、p 1 H 4、およびラマ抗体 L 1 A 3) が K v 1 . 3 活性を機能的に阻害することを示す。用量 - 応答分析は、最も強力な抗体が、6 nM ( p 1 E 6 )、4 6 nM ( p 2 G 9 )、および 1 0 9 nM ( L 1 A 3 ) の I C 5 0 値を有することを示す ( 図 8 )。さらに、抗体は、他の K v ファミリーメンバーと比べた K v 1 . 3 の選択的阻害 ( 図 9 ) および活性化されたアカゲザル T 細胞における K v 1 . 3 の阻害 ( 図 1 0 ) を示し、これらがヒト T 細胞における K v 1 . 3 に対して同様の活性を実証することが示された。

【 0 1 0 8 】

抗体配列分析

【 0 1 0 9 】

ニワトリ由来の抗体：有用な可能性がある抗 K v 1 . 3 抗体を産生する B 細胞クローンを DNA 配列決定に供し、対応する軽鎖および重鎖可変ドメインのアミノ酸配列を推定した。上述の G E M スクリーニングから得られた 4 0 個の抗体に関する配列を開示する。

【 0 1 1 0 】

可変軽鎖配列

【 0 1 1 1 】

V L 配列アラインメント。上述の V L 配列の全てのアラインメントを図 1 1 A ~ 図 1 1 B に示す。この図は、3 つの C D R 領域のおよその位置 ( 太字、下線 ) および各配列に対応する配列番号を示す。

【 0 1 1 2 】

ユニークな V L C D R 配列。図 1 1 A ~ 図 1 1 B の V L のユニークな C D R 配列のアラインメントを図 1 2 に示す。図 1 2 に示されるように、4 0 個の V L 配列には、2 7 個のユニークな C D R 1 配列、1 9 個のユニークな C D R 2 配列、および 2 4 個のユニークな C D R 3 配列がある。

【 0 1 1 3 】

V L C D R コンセンサス配列。図 1 2 に開示される配列、ならびに天然に存在するアミノ酸の構造 / 機能の特徴に基づいて、V L C D R のコンセンサス配列を決定することができる。

【 0 1 1 4 】

1 つのコンセンサス配列は、V L C D R 1 モチーフ 1 :

X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub> ( 配列番号 1 1 3 )  
 であり、ここで、X<sub>1</sub> は S、T または C であり；X<sub>2</sub> は G、A、V、L、I、M、R、K または H であり；X<sub>3</sub> G、A、V、L、I、M、D、E、S、T または C；X<sub>4</sub> は Y、F、W、R、K、H、D、E、G、A、S、T、C または非存在であり；X<sub>5</sub> は N、Q、S、T、C、Y、F、W または非存在であり；X<sub>6</sub> は Y、F、W、V、L、I、M、A、G、D、E または非存在であり；X<sub>7</sub> は A、G、V、L、I、M、S、T、C、D、E または非存在であり；X<sub>8</sub> は S、T、C、G、A、V、L、I、M または非存在であり；X<sub>9</sub> は G、A、V、L、I、M、S、T、C、D、E、R、K、H、W、F、Y または非存在であり；X<sub>10</sub> は S、T、C、Y、F、W、N、Q、G、A、V、L、I、M、R、K、H または非存在であり；X<sub>11</sub> は Y、F、W、G、A、V、L、I、M、T、S、C、N、Q または非存在であり；X<sub>12</sub> は Y、F または W であり、X<sub>13</sub> は G、A、V、L、I、M、S、T または C である。一部の実施形態では、X<sub>1</sub> は S に限定され；かつ / または X<sub>2</sub> は G または R に限定され；かつ / または X<sub>3</sub> は G、D または S に限定され；かつ / または X<sub>4</sub> は Y、R、D、G、S または非存在に限定され；かつ / または X<sub>5</sub> は N、S、Y または非存在に限定され；かつ / または X<sub>6</sub> は Y、V、D または非存在に限定され；かつ / または X<sub>7</sub> は A、S、D または非存在に限定され；かつ / または X<sub>8</sub> は S、G または非存在に限定され；かつ / または X<sub>9</sub> は G、S、D、R、W または非存在に限定され；かつ / または X<sub>10</sub> は S、Y、N、G、R または非存在に限定され；かつ / または X<sub>11</sub> は Y、G、T、S、F、N または非存在に限定され；かつ / または X<sub>12</sub> は Y または F に限定され；かつ / または X<sub>13</sub> は G または S に限定される。一部の実施形態では、部分配列

10

20

30

40

50

$X_1 X_2 X_3$  は S G G に限定され；一部の実施形態では、部分配列  $X_1 X_2 X_3$  は S G S に限定され；一部の実施形態では、部分配列  $X_1 X_2 X_3$  は S R D に限定され；一部の実施形態では、部分配列  $X_1 X_2 X_3$  は、S G D に限定される。

【0115】

配列番号 3、21、22、23、24、37、38、39 および 42 の V L C D R 1 配列は、図 11A ~ 11B 中の他のものとは明確に異なり、K v 1 . 3 機能を阻害する抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、V L C D R 1 モチーフ 2 :

$X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13}$  (配列番号 114) であり、ここで、 $X_1$  は S、T または C であり； $X_2$  は G、A、V、L、I または M であり； $X_3$  は G、A、V、L、I、M、S、T または C であり； $X_4$  は Y、F、W または非存在であり； $X_5$  は S、T、C または非存在であり； $X_6$  は D、E または非存在であり； $X_7$  は D、E、S、T、C または非存在であり； $X_8$  は G、V、L、I、M、A、S、T または C であり； $X_9$  は G、V、L、I、M、A、S、T または C であり； $X_{10}$  は Y、F、W、S、T、C、K、R または H であり； $X_{11}$  は Y、F、W、G、V、L、I、M または A であり； $X_{12}$  は Y、F または W であり、 $X_{13}$  は G、V、L、I、M または A である。一部の実施形態では、 $X_1$  は S に限定され；かつ / または  $X_2$  は G に限定され；かつ / または  $X_3$  は G または S に限定され；かつ / または  $X_4$  は Y または非存在に限定され；かつ / または  $X_5$  は S または非存在に限定され；かつ / または  $X_6$  は D または非存在に限定され；かつ / または  $X_7$  は D、S または非存在に限定され；かつ / または  $X_8$  は G、S または非存在に限定され；かつ / または  $X_9$  は S、G または V に限定され；かつ / または  $X_{10}$  は Y、S または R に限定され；かつ / または  $X_{11}$  は Y、F または G に限定され；かつ / または  $X_{12}$  は Y または F に限定され；かつ / または  $X_{13}$  は G に限定される。一部の実施形態では、部分配列  $X_1 X_2 X_3$  は S G G に限定され；一部の実施形態では、部分配列  $X_1 X_2 X_3$  は、S G S に限定される。

【0116】

配列番号 21、22、23、24、39 および 42 の V L C D R 1 配列は、図 11A ~ 11B 中の他のものとは明確に異なり、J u r k a t 細胞結合に関して F A C S 陽性である抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、V L C D R 1 モチーフ 3 :

$X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12} X_{13}$  (配列番号 115) であり、ここで、 $X_1$  は S、T または C であり； $X_2$  は G、A、V、I、L または M であり； $X_3$  は G、A、V、I、L または M であり； $X_4$  は S、T、C、Y、F または W であり； $X_5$  は S、T、C、G、A、V、I、L または M であり； $X_6$  は V、A、I、L、M、G、D、E または非存在であり； $X_7$  は S、T、C、D、E または非存在であり； $X_8$  は G、A、V、I、L、M または非存在であり； $X_9$  は S、T、C または非存在であり； $X_{10}$  は Y、F、W または非存在であり； $X_{11}$  は F、Y、W または非存在であり； $X_{12}$  は F、Y または W であり、 $X_{13}$  は G、V、L、I、M または A である。一部の実施形態では、 $X_1$  は S に限定され；かつ / または  $X_2$  は G に限定され；かつ / または  $X_3$  は G に限定され；かつ / または  $X_4$  は S または Y に限定され；かつ / または  $X_5$  は S または G に限定され；かつ / または  $X_6$  は D、V または非存在に限定され；かつ / または  $X_7$  は S、D または非存在に限定され；かつ / または  $X_8$  は G または非存在に限定され；かつ / または  $X_9$  は S または非存在に限定され；かつ / または  $X_{10}$  は Y または非存在に限定され；かつ / または  $X_{11}$  は F、Y または非存在に限定され；かつ / または  $X_{12}$  は F または Y に限定され；かつ / または  $X_{13}$  は、G に限定される。一部の実施形態では、部分配列  $X_1 X_2 X_3$  は、S G G に限定される。

【0117】

配列番号 42 の V L C D R 1 配列は、図 11A ~ 11B 中の他のものとは明確に異なり、コンフォメーションナル K v 1 . 3 エピトープを認識し得る抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、V L C D R 1 モチーフ 4 :

10

20

30

40

50

X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub> (配列番号116)  
 であり、ここで、X<sub>1</sub>はS、TまたはCであり；X<sub>2</sub>はG、A、V、I、LまたはMであり；X<sub>3</sub>はG、A、V、I、LまたはMであり；X<sub>4</sub>はY、FまたはWであり；X<sub>5</sub>はS、TまたはCであり；X<sub>6</sub>はDまたはEであり；X<sub>7</sub>はDまたはEであり；X<sub>8</sub>はG、A、V、I、LまたはMであり；X<sub>9</sub>はS、TまたはCであり；X<sub>10</sub>はY、FまたはWであり；X<sub>11</sub>はY、FまたはWであり；X<sub>12</sub>はY、FまたはWであり；X<sub>13</sub>はG、A、V、I、LまたはMである。一部の実施形態では、X<sub>1</sub>はSに限定され；かつ/またはX<sub>2</sub>はGに限定され；かつ/またはX<sub>3</sub>はGに限定され；かつ/またはX<sub>4</sub>はYに限定され；かつ/またはX<sub>5</sub>はSに限定され；かつ/またはX<sub>6</sub>はDに限定され；かつ/またはX<sub>7</sub>はDに限定され；かつ/またはX<sub>8</sub>はGに限定され；かつ/またはX<sub>9</sub>はSに限定され；かつ/またはX<sub>10</sub>はYに限定され；かつ/またはX<sub>11</sub>はYに限定され；かつ/またはX<sub>12</sub>はYに限定され；かつ/またはX<sub>13</sub>は、Gに限定される。

10

## 【0118】

VL CDR2について、1つのコンセンサス配列は、VL CDR2モチーフ1：

Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub> (配列番号117)

であり、ここで、Y<sub>1</sub>はD、E、N、Q、Y、F、W、S、T、C、R、KまたはHであり；Y<sub>2</sub>はN、Q、D、E、S、TまたはCであり；Y<sub>3</sub>はT、S、C、N、Q、D、E、K、RまたはHであり；Y<sub>4</sub>はN、Q、K、R、H、EまたはDであり；Y<sub>5</sub>はR、KまたはHであり；Y<sub>6</sub>はPであり、Y<sub>7</sub>はS、TまたはCである。一部の実施形態では、Y<sub>1</sub>はD、N、E、Y、S、W、RまたはHに限定され；かつ/またはY<sub>2</sub>はN、DまたはSに限定され；かつ/またはY<sub>3</sub>はT、N、D、KまたはSに限定され；かつ/またはY<sub>4</sub>はN、K、QまたはEに限定され；かつ/またはY<sub>5</sub>はRまたはKに限定され；かつ/またはY<sub>6</sub>はPに限定され；かつ/またはY<sub>7</sub>は、Sに限定される。

20

## 【0119】

配列番号3、21、22、23、24、37、38、39および42のVL CDR2配列は、図11A～11B中の他のものとは明確に異なり、Kv1.3機能を阻害する抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VL CDR2モチーフ2：

Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub> (配列番号118)

であり、ここで、Y<sub>1</sub>はD、E、Y、FまたはWであり；Y<sub>2</sub>はN、Q、S、TまたはCであり；Y<sub>3</sub>はT、S、C、D、E、NまたはQであり；Y<sub>4</sub>はK、R、H、NまたはQであり；Y<sub>5</sub>はR、KまたはHであり；Y<sub>6</sub>はPであり、Y<sub>7</sub>はS、TまたはCである。一部の実施形態では、Y<sub>1</sub>はD、EまたはYに限定され；かつ/またはY<sub>2</sub>はNまたはSに限定され；かつ/またはY<sub>3</sub>はT、DまたはNに限定され；かつ/またはY<sub>4</sub>は、KまたはNに限定される。かつ/またはY<sub>5</sub>はRまたはKに限定され；かつ/またはY<sub>6</sub>はPに限定され；かつ/またはY<sub>7</sub>は、Sに限定される。

30

## 【0120】

配列番号21、22、23、24、39および42のVL CDR2配列は、図11A～11B中の他のものとは明確に異なり、Jurkat細胞結合に関してFACS陽性である抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VL CDR2モチーフ3：

40

Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub> (配列番号119)

であり、ここで、Y<sub>1</sub>はY、F、W、DまたはEであり；Y<sub>2</sub>はN、Q、S、TまたはCであり；Y<sub>3</sub>はD、E、NまたはQであり；Y<sub>4</sub>はK、RまたはHであり；Y<sub>5</sub>はR、KまたはHであり；Y<sub>6</sub>はPであり；Y<sub>7</sub>はS、TまたはCである。一部の実施形態では、Y<sub>1</sub>はYまたはEに限定され；かつ/またはY<sub>2</sub>はNまたはSに限定され；かつ/またはY<sub>3</sub>はDまたはNに限定され；かつ/またはY<sub>4</sub>はKに限定され；かつ/またはY<sub>5</sub>はRまたはKに限定され；かつ/またはY<sub>6</sub>はPに限定され；かつ/またはY<sub>7</sub>は、Sに限定される。

## 【0121】

50

配列番号42のVL CDR2配列は、図11A~11B中の他のものとは明確に異なり、コンフォメーションナルKv1.3エピトープを認識し得る抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VL CDR2モチーフ4:

Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub>(配列番号120)

であり、ここで、Y<sub>1</sub>はEまたはDであり; Y<sub>2</sub>はNまたはQであり; Y<sub>3</sub>はNまたはQであり; Y<sub>4</sub>はK、RまたはHであり; Y<sub>5</sub>はR、KまたはHであり; Y<sub>6</sub>はPであり; Y<sub>7</sub>はS、TまたはCである。一部の実施形態では、Y<sub>1</sub>はEに限定され; かつ/またはY<sub>2</sub>はNに限定され; かつ/またはY<sub>3</sub>はNに限定され; かつ/またはY<sub>4</sub>はKに限定され; かつ/またはY<sub>5</sub>はRに限定され; かつ/またはY<sub>6</sub>はPに限定され; かつ/またはY<sub>7</sub>は、Sに限定される。

10

【0122】

VL CDR3について、1つのコンセンサス配列は、VL CDR3モチーフ1:

Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub>Z<sub>10</sub>(配列番号121)

であり、ここで、Z<sub>1</sub>はG、A、V、L、I、M、C、SまたはTであり; Z<sub>2</sub>はG、A、N、Q、V、L、I、M、S、TまたはCであり; Z<sub>3</sub>はY、F、W、E、D、T、S、C、I、V、L、M、A、G、R、KまたはHであり; Z<sub>4</sub>はD、E、I、V、L、M、GまたはAであり; Z<sub>5</sub>はS、T、C、G、A、D、E、N、Q、I、V、L、M、K、RまたはHであり; Z<sub>6</sub>はN、Q、S、T、C、I、V、L、M、GまたはAであり; Z<sub>7</sub>はT、S、C、I、V、L、M、A、G、R、K、H、Y、F、W、D、E、NまたはQであり; Z<sub>8</sub>はY、F、W、N、Q、T、S、C、V、L、I、M、A、D、E、Gまたは非存在であり; Z<sub>9</sub>はV、L、I、M、A、G、D、Eまたは非存在であり; Z<sub>10</sub>はA、G、V、L、I、M、T、S、C、D、E、Y、F、Wまたは非存在である。一部の実施形態では、Z<sub>1</sub>はGまたはCに限定され; かつ/またはZ<sub>2</sub>はG、N、A、SまたはTに限定され; かつ/またはZ<sub>3</sub>はY、E、W、T、F、I、S、AまたはRに限定され; かつ/またはZ<sub>4</sub>はD、EまたはIに限定され; かつ/またはZ<sub>5</sub>はS、G、D、N、IまたはKに限定され; かつ/またはZ<sub>6</sub>はN、S、TまたはIに限定され; かつ/またはZ<sub>7</sub>はT、I、G、R、Y、E、S、AまたはNに限定され; かつ/またはZ<sub>8</sub>はY、N、T、V、D、Gまたは非存在に限定され; かつ/またはZ<sub>9</sub>はV、Dまたは非存在に限定され; かつ/またはZ<sub>10</sub>は、A、T、D、S、Yまたは非存在に限定される。

20

【0123】

配列番号3、21、22、23、24、37、38、39および42のVL CDR3配列は、図8A~8B中の他のものとは明確に異なり、Kv1.3機能を阻害する抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VL CDR3モチーフ2:

Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub>(配列番号122)

であり、ここで、Z<sub>1</sub>はG、A、V、L、IまたはMであり; Z<sub>2</sub>はG、A、V、L、I、M、S、TまたはCであり; Z<sub>3</sub>はY、FまたはWであり; Z<sub>4</sub>はDまたはEであり; Z<sub>5</sub>はS、TまたはCであり; Z<sub>6</sub>はS、T、C、N、Q、I、V、L、M、AまたはGであり; Z<sub>7</sub>はN、Q、T、S、C、D、E、I、V、L、M、AまたはGであり; Z<sub>8</sub>はG、A、V、L、I、M、Y、FまたはWであり; Z<sub>9</sub>はF、Y、W、A、V、L、I、M、Gまたは非存在である。一部の実施形態では、Z<sub>1</sub>はGに限定され; かつ/またはZ<sub>2</sub>はG、TまたはSに限定され; かつ/またはZ<sub>3</sub>はYまたはWに限定され; かつ/またはZ<sub>4</sub>はDに限定され; かつ/またはZ<sub>5</sub>はSに限定され; かつ/またはZ<sub>6</sub>はS、NまたはIに限定され; かつ/またはZ<sub>7</sub>はN、T、EまたはAに限定され; かつ/またはZ<sub>8</sub>はG、YまたはAであり; かつ/またはZ<sub>9</sub>は、Y、Aまたは非存在に限定される。

40

【0124】

配列番号21、22、23、24、39および42のVL CDR3配列は、図11A~11B中の他のものとは明確に異なり、Jurkat細胞結合に関してFACS陽性である抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VL CDR3モチーフ3:

Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub>(配列番号123)

50

であり、ここで、Z<sub>1</sub>はG、A、V、L、IまたはMであり；Z<sub>2</sub>はT、SまたはCであり；Z<sub>3</sub>はY、FまたはWであり；Z<sub>4</sub>はDまたはEであり；Z<sub>5</sub>はS、TまたはCであり；Z<sub>6</sub>はI、V、L、M、A、G、S、TまたはCであり；Z<sub>7</sub>はE、D、A、G、V、L、IまたはMであり；Z<sub>8</sub>はA、G、V、L、IまたはMであり；Z<sub>9</sub>はY、F、Wまたは非存在である。一部の実施形態では、Z<sub>1</sub>はGに限定され；かつ/またはZ<sub>2</sub>は、TまたはSに限定される。かつ/またはZ<sub>3</sub>はYまたはWに限定され；かつ/またはZ<sub>4</sub>はDに限定され；かつ/またはZ<sub>5</sub>はSに限定され；かつ/またはZ<sub>6</sub>はIまたはSに限定され；かつ/またはZ<sub>7</sub>は、EまたはAに限定される。かつ/またはZ<sub>8</sub>はAまたはGに限定され；かつ/またはZ<sub>9</sub>はYまたは非存在。

【0125】

配列番号42のVL CDR3配列は、図11A～11B中の他のものとは明確に異なり、コンフォメーションalKv1.3エピトープを認識し得る抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VL CDR3モチーフ4：

Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>(配列番号124)

であり、ここで、Z<sub>1</sub>はG、A、V、L、IまたはMに限定され；Z<sub>2</sub>はS、TまたはCであり；Z<sub>3</sub>はW、FまたはYであり；Z<sub>4</sub>はDまたはEであり；Z<sub>5</sub>はS、TまたはCであり；Z<sub>6</sub>はS、TまたはCであり；Z<sub>7</sub>はA、G、V、L、IまたはMであり；Z<sub>8</sub>はG、A、V、L、IまたはMである。一部の実施形態では、Z<sub>1</sub>はGに限定され；かつ/またはZ<sub>2</sub>は、Sに限定される。かつ/またはZ<sub>3</sub>は、Wに限定される。かつ/またはZ<sub>4</sub>はDに限定され；かつ/またはZ<sub>5</sub>はSに限定され；かつ/またはZ<sub>6</sub>はSに限定され；かつ/またはZ<sub>7</sub>はAに限定され；かつ/またはZ<sub>8</sub>は、Gに限定される。

【0126】

可変重鎖配列

【0127】

VH配列アラインメント。上述のVH配列の全てのアラインメントを図13A～図13Cに示す。この図は、3つのCDR領域のおよその位置(太字、下線)および各配列に対応する配列番号を示す。

【0128】

ユニークなVH CDR配列。図13A～図13CのVHのユニークなCDR配列のアラインメントを図14に示す。図14に示されるように、40個のVH配列には、13個のユニークなCDR1配列、25個のユニークなCDR2配列、および27個のユニークなCDR3配列がある。

【0129】

VL CDRコンセンサス配列。図14に開示される配列、ならびに天然に存在するアミノ酸の構造/機能の特徴に基づいて、VH CDRのコンセンサス配列を決定することができる。

【0130】

VH CDR1について、1つのコンセンサス配列は、VH CDR1モチーフ1：

X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>(配列番号442)

であり、ここで、X<sub>1</sub>はN、Q、S、TまたはCであり；X<sub>2</sub>はD、E、S、TまたはCであり；X<sub>3</sub>はY、F、W、H、KまたはRであり；X<sub>4</sub>はG、A、N、Q、V、L、M、I、S、TまたはCであり；X<sub>5</sub>はM、V、L、I、GまたはAである。一部の実施形態では、X<sub>1</sub>はNまたはSに限定され；かつ/またはX<sub>2</sub>はD、SまたはTに限定され；かつ/またはX<sub>3</sub>はY、H、RまたはFに限定され；かつ/またはX<sub>4</sub>はG、N、A、Q、SまたはTに限定され；かつ/またはX<sub>5</sub>は、MまたはVに限定される。

【0131】

配列番号125、129、130、131、132、133、141、159および160のVH CDR1配列は、図13A～13C中の他のものとは明確に異なり、Kv1.3機能を阻害する抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VH CDR1モチーフ2：

10

20

30

40

50

$X_1 X_2 X_3 X_4 X_5$  (配列番号 443)

であり、ここで、 $X_1$  は S、T、C、N または Q であり； $X_2$  は S、T、C、D または E であり； $X_3$  は Y、F、W、K、R または H であり； $X_4$  は G、A、V、L、I または M であり； $X_5$  は M、A、V、L、G または I である。一部の実施形態では、 $X_1$  は S または N に限定され；かつ/または  $X_2$  は S または D に限定され；かつ/または  $X_3$  は Y、R または H に限定され；かつ/または  $X_4$  は A または G に限定され；かつ/または  $X_5$  は、M に限定される。

【0132】

配列番号 129、130、131、132、133 および 141 の VH CDR1 配列は、図 13A ~ 13C 中の他のものとは明確に異なり、Jurkat 細胞結合に関して FACS 陽性である抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VH CDR1 モチーフ 3：

10

$X_1 X_2 X_3 X_4 X_5$  (配列番号 444)

であり、ここで、 $X_1$  は S、T または C であり； $X_2$  は D、E、S、T または C であり； $X_3$  は R、K、H、Y、F または W であり； $X_4$  は G、A、V、L、I、M、N または Q であり； $X_5$  は M、A、G、V、L または I である。一部の実施形態では、 $X_1$  は S に限定され；かつ/または  $X_2$  は D または S に限定され；かつ/または  $X_3$  は R、Y または H に限定され；かつ/または  $X_4$  は G または Q に限定され；かつ/または  $X_5$  は、M に限定される。

【0133】

20

配列番号 129 の VH CDR1 配列は、図 10 ~ 10C 中の他のものとは明確に異なり、コンフォメーションナル Kv1.3 エピトープを認識し得る抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VH CDR1 モチーフ 4：

$X_1 X_2 X_3 X_4 X_5$  (配列番号 445)

であり、ここで、 $X_1$  は S、T または C であり； $X_2$  は S、T または C であり； $X_3$  は H、R または K であり； $X_4$  は G、A、V、I、L または M であり； $X_5$  は M、A、G、I、L または V である。一部の実施形態では、 $X_1$  は S に限定され；かつ/または  $X_2$  は S に限定され；かつ/または  $X_3$  は H に限定され；かつ/または  $X_4$  は G に限定され；かつ/または  $X_5$  は、M に限定される。

【0134】

30

VH CDR2 について、コンセンサス配列は、VH CDR2 モチーフ 1：

$Y_1 Y_2 Y_3 Y_4 Y_5 Y_6 Y_7 Y_8 Y_9 Y_{10} Y_{11} Y_{12} Y_{13} Y_{14} Y_{15} Y_{16} Y_{17}$  (配列番号 446)

であり、ここで、 $Y_1$  は G、A、V、L、I、M、E、D、K、R、H、S、T または C であり； $Y_2$  は I、V、L、M または A であり； $Y_3$  は Y、F、W、S、T、C、D、E、N または Q であり； $Y_4$  は S、T、C または非存在であり； $Y_5$  は S、T、C、N、Q、R、K、H、A、G、V、L、I、M、D または E であり； $Y_6$  は S、T、C、D、E、A、G、V、L、I、M、F、Y または W であり； $Y_7$  は G、A、V、L、I、M、D または E であり； $Y_8$  は R、K、H、N、Q、S、T、C、G、A、V、L、I または M であり； $Y_9$  は Y、F、W、S、T、C、R、K、H、E、D、G、A、V、L、I、M または非存在であり； $Y_{10}$  は T、S、C、A、G、V、L、I または M であり； $Y_{11}$  は Y、F、W、A、G、V、L、I、M、R、K、H、S、T、C、D、E、N または Q であり； $Y_{12}$  は Y、F、W、H、K、R または P であり； $Y_{13}$  G、A、V、L、I、M、T、S または C； $Y_{14}$  は A、G、V、L、I、M、S、T、C または P であり； $Y_{15}$  は A、G、V、L、I または M であり； $Y_{16}$  は V、L、I、M、A または G であり； $Y_{17}$  は Q、N、K、R、H、D または E である。一部の実施形態では、 $Y_1$  は G、A、E、K、V または S に限定され；かつ/または  $Y_2$  は I または V に限定され；かつ/または  $Y_3$  は Y、S、D、N、E または T に限定され；かつ/または  $Y_4$  は S または非存在に限定され；かつ/または  $Y_5$  は非存在、N、R、A、D、K または V に限定され；かつ/または  $Y_6$  は S、D、A、V、T、F または G に限定され；かつ/または  $Y_7$  は G、A

40

50

またはDに限定され；かつ/またはY<sub>8</sub>はR、N、S、GまたはTに限定され；かつ/またはY<sub>9</sub>はY、F、S、R、T、E、G、Dまたは非存在に限定され；かつ/またはY<sub>10</sub>はTまたはAに限定され；かつ/またはY<sub>11</sub>はY、A、R、G、S、L、D、NまたはHに限定され；かつ/またはY<sub>12</sub>はY、HまたはPに限定され；かつ/またはY<sub>13</sub>はG、TまたはAに限定され；かつ/またはY<sub>14</sub>はA、SまたはPに限定され；かつ/またはY<sub>15</sub>はAに限定され；かつ/またはY<sub>16</sub>はVに限定され；かつ/またはY<sub>17</sub>は、Q、K、R、DまたはEに限定される。

【0135】

配列番号125、129、130、131、132、133、141、159および160のVH CDR2配列は、図13A~13C中の他のものとは明確に異なり、Kv1.3機能を阻害する抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VH CDR2モチーフ2：

Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub>Y<sub>8</sub>Y<sub>9</sub>Y<sub>10</sub>Y<sub>11</sub>Y<sub>12</sub>Y<sub>13</sub>Y<sub>14</sub>Y<sub>15</sub>Y<sub>16</sub>Y<sub>17</sub> (配列番号447)

であり、ここで、Y<sub>1</sub>はS、T、C、G、A、V、L、I、Mまたは非存在であり；Y<sub>2</sub>はI、V、L、M、AまたはGであり；Y<sub>3</sub>はI、V、L、M、A、G、S、T、C、Y、FまたはWであり；Y<sub>4</sub>はN、Q、S、T、Cまたは非存在であり；Y<sub>5</sub>はA、V、L、I、M、G、S、T、C、R、KまたはHであり；Y<sub>6</sub>はD、E、G、A、V、L、I、M、F、Y、W、S、TまたはCであり；Y<sub>7</sub>はD、E、G、A、V、L、I、AまたはMであり；Y<sub>8</sub>はS、T、C、N、Q、R、KまたはHであり；Y<sub>9</sub>はT、S、C、Y、F、W、R、KまたはHであり；Y<sub>10</sub>はS、T、C、A、V、L、I、MまたはGであり；Y<sub>11</sub>はY、F、W、K、R、H、G、V、L、I、MまたはAであり；Y<sub>12</sub>はY、F、W、K、RまたはHであり；Y<sub>13</sub>はA、G、V、L、IまたはMであり；Y<sub>14</sub>はA、G、V、L、IまたはMであり；Y<sub>15</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；Y<sub>16</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり、Y<sub>17</sub>はK、R、H、QまたはNである。一部の実施形態では、Y<sub>1</sub>はS、Gまたは非存在に限定され；かつ/またはY<sub>2</sub>はI、AまたはGに限定され；かつ/またはY<sub>3</sub>はS、YまたはIに限定され；かつ/またはY<sub>4</sub>はN、Sまたは非存在に限定され；かつ/またはY<sub>5</sub>はV、SまたはRに限定され；かつ/またはY<sub>6</sub>はD、A、FまたはSに限定され；かつ/またはY<sub>7</sub>はDまたはGに限定され；かつ/またはY<sub>8</sub>はS、NまたはRに限定され；かつ/またはY<sub>9</sub>はS、YまたはRに限定され；かつ/またはY<sub>10</sub>はTまたはAに限定され；かつ/またはY<sub>11</sub>はY、H、G、RまたはAに限定され；かつ/またはY<sub>12</sub>はYまたはHに限定され；かつ/またはY<sub>13</sub>はGに限定され；かつ/またはY<sub>14</sub>はAに限定され；かつ/またはY<sub>15</sub>はAに限定され；かつ/またはY<sub>16</sub>はVに限定され；かつ/またはY<sub>17</sub>はKまたはQである。

【0136】

配列番号129、130、131、132、133および141のVH CDR2配列は、図13A~13C中の他のものとは明確に異なり、Jurkat細胞結合に関してFACS陽性である抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VH CDR2モチーフ3：

Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub>Y<sub>8</sub>Y<sub>9</sub>Y<sub>10</sub>Y<sub>11</sub>Y<sub>12</sub>Y<sub>13</sub>Y<sub>14</sub>Y<sub>15</sub>Y<sub>16</sub> (配列番号448)

であり、ここで、Y<sub>1</sub>はG、A、V、L、IまたはMであり；Y<sub>2</sub>はI、V、L、A、GまたはMであり；Y<sub>3</sub>はS、T、C、NまたはQであり；Y<sub>4</sub>はS、T、C、R、KまたはHであり；Y<sub>5</sub>はS、T、C、F、Y、W、DまたはEであり；Y<sub>6</sub>はG、A、V、L、IまたはMであり；Y<sub>7</sub>はR、K、H、N、Q、S、TまたはCであり；Y<sub>8</sub>はS、T、C、R、KまたはHであり；Y<sub>9</sub>はS、T、C、A、G、V、L、IまたはMであり；Y<sub>10</sub>はA、G、V、L、I、M、R、KまたはHであり；Y<sub>11</sub>はY、F、W、H、RまたはKであり；Y<sub>12</sub>はG、A、V、I、LまたはMであり；Y<sub>13</sub>はA、G、V、I、LまたはMであり；Y<sub>14</sub>はA、G、V、I、LまたはMであり；Y<sub>15</sub>はV、A、G

10

20

30

40

50

、I、LまたはMであり；Y<sub>16</sub>はK、RまたはHである。一部の実施形態では、Y<sub>1</sub>はGまたはAに限定され；かつ/またはY<sub>2</sub>はIに限定され；かつ/またはY<sub>3</sub>はSまたはNに限定され；かつ/またはY<sub>4</sub>はSまたはRに限定され；かつ/またはY<sub>5</sub>はS、FまたはDに限定され；かつ/またはY<sub>6</sub>はGに限定され；かつ/またはY<sub>7</sub>はR、NまたはSに限定され；かつ/またはY<sub>8</sub>はSまたはRに限定され；かつ/またはY<sub>9</sub>はAまたはTに限定され；かつ/またはY<sub>10</sub>はA、GまたはRに限定され；かつ/またはY<sub>11</sub>はYまたはHに限定され；かつ/またはY<sub>12</sub>はGに限定され；かつ/またはY<sub>13</sub>はAに限定され；かつ/またはY<sub>14</sub>はAに限定され；かつ/またはY<sub>15</sub>はVに限定され；かつ/またはY<sub>16</sub>は、Kに限定される。

【0137】

配列番号129のVH CDR2配列は、図13A～13C中の他のものとは明確に異なり、コンフォメーションalKv1.3エピトープを認識し得る抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VH CDR2モチーフ4：

Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub>Y<sub>8</sub>Y<sub>9</sub>Y<sub>10</sub>Y<sub>11</sub>Y<sub>12</sub>Y<sub>13</sub>Y<sub>14</sub>Y<sub>15</sub>Y<sub>16</sub> (配列番号449)

であり、ここで、Y<sub>1</sub>はG、A、V、I、LまたはMであり；Y<sub>2</sub>はI、V、L、M、GまたはAであり；Y<sub>3</sub>はS、TまたはCであり；Y<sub>4</sub>はR、KまたはHであり；Y<sub>5</sub>はDまたはEであり；Y<sub>6</sub>はG、A、V、I、LまたはMであり；Y<sub>7</sub>はS、TまたはCであり；Y<sub>8</sub>はR、KまたはHであり；Y<sub>9</sub>はT、SまたはCであり；Y<sub>10</sub>はR、KまたはHであり；Y<sub>11</sub>はY、FまたはWであり；Y<sub>12</sub>はG、A、V、I、LまたはMであり；Y<sub>13</sub>はA、G、V、I、LまたはMであり；Y<sub>14</sub>はA、G、V、I、LまたはMであり；Y<sub>15</sub>はV、G、A、I、LまたはMであり；Y<sub>16</sub>はK、RまたはHである。一部の実施形態では、Y<sub>1</sub>はGに限定され；かつ/またはY<sub>2</sub>はIに限定され；かつ/またはY<sub>3</sub>はSに限定され；かつ/またはY<sub>4</sub>はRに限定され；かつ/またはY<sub>5</sub>はDに限定され；かつ/またはY<sub>6</sub>はGに限定され；かつ/またはY<sub>7</sub>はSに限定され；かつ/またはY<sub>8</sub>はRに限定され；かつ/またはY<sub>9</sub>はTに限定され；かつ/またはY<sub>10</sub>はRに限定され；かつ/またはY<sub>11</sub>はYに限定され；かつ/またはY<sub>12</sub>はGに限定され；かつ/またはY<sub>13</sub>はAに限定され；かつ/またはY<sub>14</sub>はAに限定され；かつ/またはY<sub>15</sub>はVに限定され；かつ/またはY<sub>16</sub>は、Kに限定される。

【0138】

VH CDR3について、1つのコンセンサス配列は、VH CDR3モチーフ1：

Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub>Z<sub>10</sub>Z<sub>11</sub>Z<sub>12</sub>Z<sub>13</sub>Z<sub>14</sub>Z<sub>15</sub>Z<sub>16</sub>Z<sub>17</sub>Z<sub>18</sub>Z<sub>19</sub>Z<sub>20</sub>Z<sub>21</sub>Z<sub>22</sub>Z<sub>23</sub>Z<sub>24</sub>Z<sub>25</sub>Z<sub>26</sub>Z<sub>27</sub> (配列番号450)

であり、ここで、Z<sub>1</sub>はN、Q、S、T、C、A、G、V、L、I、M、DまたはEであり；Z<sub>2</sub>はA、G、V、L、I、M、S、T、C、Y、F、W、NまたはQであり；Z<sub>3</sub>はD、E、G、A、V、L、I、M、Y、F、W、S、T、C、H、R、Kまたは非存在であり；Z<sub>4</sub>はS、T、C、E、D、N、Q、G、A、V、I、L、M、R、K、Hまたは非存在であり；Z<sub>5</sub>はG、A、V、L、I、M、C、S、Tまたは非存在であり；Z<sub>6</sub>はY、F、W、C、S、T、R、K、Hまたは非存在であり；Z<sub>7</sub>はY、F、W、N、Q、C、S、Tまたは非存在であり；Z<sub>8</sub>はW、F、Yまたは非存在であり；Z<sub>9</sub>はN、Qまたは非存在であり；Z<sub>10</sub>はT、S、Cまたは非存在であり；Z<sub>11</sub>はC、S、T、Y、F、W、A、G、V、L、I、Mまたは非存在であり；Z<sub>12</sub>はT、S、C、N、Q、G、A、V、L、I、M、D、E、Y、F、Wまたは非存在であり；Z<sub>13</sub>はG、A、V、L、I、M、C、S、T、D、E、K、R、Hまたは非存在であり；Z<sub>14</sub>はY、F、W、A、G、V、L、I、M、S、T、C、P、D、Eまたは非存在であり；Z<sub>15</sub>はN、Q、S、T、C、G、A、V、L、I、M、R、K、Hまたは非存在であり；Z<sub>16</sub>はC、S、T、G、A、V、L、I、Mまたは非存在であり；Z<sub>17</sub>はA、G、V、L、I、M、W、F、Y、T、S、C、D、Eまたは非存在であり；Z<sub>18</sub>はD、E、T、S、C、A、G、V、L、I、M、P、W、F、Yまたは非存在であり；Z<sub>19</sub>はY、F、W、A、G、V、L、I、M、N、Q、S、T、Cまたは非存在であり；Z<sub>20</sub>はG、A、V

10

20

30

40

50

、L、I、M、T、S、Cまたは非存在であり；Z<sub>21</sub>はA、G、V、L、I、M、P、Y、F、W、S、T、Cまたは非存在であり；Z<sub>22</sub>はG、A、V、L、I、M、H、K、R、D、E、S、T、C、Y、F、Wまたは非存在であり；Z<sub>23</sub>はY、F、W、E、D、S、T、C、N、Q、L、A、G、V、IまたはMであり；Z<sub>24</sub>はI、V、L、A、GまたはMであり；Z<sub>25</sub>はDまたはEであり、Z<sub>26</sub>はA、G、V、L、I、M、S、TまたはCであり；Z<sub>27</sub>はW、FまたはYである。一部の実施形態では、Z<sub>1</sub>はN、S、C、A、G、DまたはTに限定され；かつ/またはZ<sub>2</sub>はA、S、T、Y、N、G、VまたはFに限定され；かつ/またはZ<sub>3</sub>はD、G、Y、S、H、Lまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>4</sub>はS、T、E、N、D、G、R、C、Qまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>5</sub>はG、Cまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>6</sub>はY、C、Rまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>7</sub>はY、N、Cまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>8</sub>はWまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>9</sub>はNまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>10</sub>はTまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>11</sub>はC、Y、Aまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>12</sub>はT、N、G、D、Y、A、C、Sまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>13</sub>はG、C、D、K、Aまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>14</sub>はY、A、S、P、T、Dまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>15</sub>はN、S、G、I、R、Tまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>16</sub>はC、G、Sまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>17</sub>はA、W、Y、G、T、I、D、Vまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>18</sub>はD、T、C、A、G、P、Wまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>19</sub>はY、F、A、N、S、Gまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>20</sub>はG、T、A、Iまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>21</sub>はA、P、Y、V、T、I、Lまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>22</sub>はG、A、H、D、S、Yまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>23</sub>はY、E、S、N、L、T、D、C、I、GまたはAに限定され；かつ/またはZ<sub>24</sub>はIまたはMに限定され；かつ/またはZ<sub>26</sub>はA、SまたはTに限定され；かつ/またはZ<sub>27</sub>は、Wに限定される。

【0139】

配列番号125、129、130、131、132、133、141、159および160のVH CDR3配列は、図13A~13C中の他のものとは明確に異なり、Kv1.3機能を阻害する抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサ配列は、VH CDR3モチーフ2：

Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub>Z<sub>10</sub>Z<sub>11</sub>Z<sub>12</sub>Z<sub>13</sub>Z<sub>14</sub>Z<sub>15</sub>Z<sub>16</sub>Z<sub>17</sub>Z<sub>18</sub>Z<sub>19</sub>Z<sub>20</sub>Z<sub>21</sub>(配列番号451)

であり、ここで、Z<sub>1</sub>はS、T、C、V、L、I、M、AまたはGまたは非存在であり；Z<sub>2</sub>はS、T、C、V、L、I、M、AまたはGまたは非存在であり；Z<sub>3</sub>はY、F、Wまたは非存在であり；Z<sub>4</sub>はQ、N、D、E、V、L、I、M、A、Gまたは非存在であり；Z<sub>5</sub>はC、S、T、N、Q、Y、F、Wまたは非存在であり；Z<sub>6</sub>はA、G、V、L、I、M、S、T、C、DまたはEであり；Z<sub>7</sub>はG、V、L、I、M、A、D、E、S、T、Cまたは非存在であり；Z<sub>8</sub>はD、E、Y、F、W、G、V、L、I、M、A、S、TまたはCであり；Z<sub>9</sub>はC、S、T、N、Q、G、V、L、I、MまたはAであり；Z<sub>10</sub>はC、S、T、F、Y、W、G、V、L、I、MまたはAであり；Z<sub>11</sub>はF、YまたはWであり；Z<sub>12</sub>はT、S、Cまたは非存在であり；Z<sub>13</sub>はG、V、L、I、M、A、F、Y、W、S、TまたはCであり；Z<sub>14</sub>はY、F、W、G、V、L、I、MまたはAであり；Z<sub>15</sub>はP、G、A、V、I、LまたはMであり；Z<sub>16</sub>はF、Y、W、G、V、L、I、MまたはAであり；Z<sub>17</sub>はG、A、V、I、L、M、S、T、C、D、E、F、YまたはWであり；Z<sub>18</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；Z<sub>19</sub>はDまたはEであり；Z<sub>20</sub>はS、T、C、V、L、I、M、AまたはGであり；Z<sub>21</sub>はW、FまたはYである。一部の実施形態では、Z<sub>1</sub>はS、Gまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>2</sub>はS、Aまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>3</sub>はYまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>4</sub>はQ、E、Gまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>5</sub>はC、Y、Nまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>6</sub>はA、D、S、CまたはAに限定さ

10

20

30

40

50

れ；かつ／またはZ 7はG、T、Dまたは非存在に限定され；かつ／またはZ 8はD、Y、GまたはSに限定され；かつ／またはZ 9はN、S、TまたはGに限定され；かつ／またはZ 10はC、G、SまたはYに限定され；かつ／またはZ 11はWまたはYに限定され；かつ／またはZ 12は、Tまたは非存在に限定される。かつ／またはZ 13はG、F、CまたはTに限定され；かつ／またはZ 14はY、I GまたはAに限定され；かつ／またはZ 15はP、AまたはVに限定され；かつ／またはZ 16はYまたはGに限定され；かつ／またはZ 17はG、S、E、LまたはYに限定され；かつ／またはZ 18はIに限定され；かつ／またはZ 19はDに限定され；かつ／またはZ 20はTまたはAに限定され；かつ／またはZ 21は、Wに限定される。

【0140】

配列番号129、130、131、132、133および141のVH CDR3配列は、図13A～13C中の他のものとは明確に異なり、Jurkat細胞結合に関してFACS陽性である抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VH CDR3モチーフ3：

Z 1 Z 2 Z 3 Z 4 Z 5 Z 6 Z 7 Z 8 Z 9 Z 10 Z 11 Z 12 Z 13 Z 14 Z 15 Z 16 Z 17 Z 18 Z 19 Z 20 Z 21 (配列番号452)

であり、ここで、Z 1はG、A、V、I、L、M、S、T、Cまたは非存在であり；Z 2はA、G、V、I、L、Mまたは非存在であり；Z 3はY、F、Wまたは非存在であり；Z 4はD、E、G、A、V、I、L、Mまたは非存在であり；Z 5はS、T、C、Y、F、Wまたは非存在であり；Z 6はD、E、S、TまたはCであり；Z 7はT、S、C、G、A、V、I、LまたはMであり；Z 8はY、F、W、S、T、C、G、A、V、I、LまたはMであり；Z 9はT、S、C、G、A、V、I、LまたはMであり；Z 10はS、TまたはCであり；Z 11はG、V、L、I、M、A、Y、FまたはWであり；Z 12はS、T、C、Y、FまたはWであり；Z 13はF、Y、W、G、A、V、I、L、Mまたは非存在であり；Z 14はG、A、V、I、LまたはMであり；Z 15はG、A、V、I、LまたはMであり；Z 16はG、A、V、L、IまたはMであり；Z 17はE、D、S、T、C、G、A、V、I、LまたはMであり；Z 18はV、L、I、M、AまたはGであり；Z 19はDまたはEであり；Z 20はV、L、I、M、AまたはGであり；Z 21はW、FまたはYである。一部の実施形態では、Z 1はG、Sまたは非存在に限定され；かつ／またはZ 2はAまたは非存在に限定され；かつ／またはZ 3はYまたは非存在に限定され；かつ／またはZ 4はG、Eまたは非存在に限定され；かつ／またはZ 5はY、Cまたは非存在に限定され；かつ／またはZ 6はD、Cまたは非存在に限定され；かつ／またはZ 7はSまたはGに限定され；かつ／またはZ 8はT、SまたはYに限定され；かつ／またはZ 9はSまたはGに限定され；かつ／またはZ 10はT、CまたはSに限定され；かつ／またはZ 11はGまたはWに限定され；かつ／またはZ 12はY、CまたはTに限定され；かつ／またはZ 13はG、Fまたは非存在に限定され；かつ／またはZ 14はG、AまたはIに限定され；かつ／またはZ 15はVまたはAに限定され；かつ／またはZ 16はGであり；かつ／またはZ 17はE、LまたはSに限定され；かつ／またはZ 18はIに限定され；かつ／またはZ 19はDに限定され；かつ／またはZ 20はAに限定され；かつ／またはZ 21は、Wに限定される。

【0141】

配列番号129のVH CDR3配列は、図10A～10C中の他のものとは明確に異なり、コンフォメーションナルKv1.3エピトープを認識し得る抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VH CDR3モチーフ4：

Z 1 Z 2 Z 3 Z 4 Z 5 Z 6 Z 7 Z 8 Z 9 Z 10 Z 11 Z 12 Z 13 Z 14 Z 15 Z 16 Z 17 Z 18 Z 19 Z 20 Z 21 (配列番号453)

であり、ここで、Z 1はS、TまたはCであり；Z 2はA、G、V、I、LまたはMであり；Z 3はY、FまたはWであり；Z 4はEまたはDであり；Z 5はC、SまたはTであり；Z 6はDまたはEであり；Z 7はG、A、V、I、LまたはMであり；Z 8はY、FまたはWであり；Z 9はS、TまたはCであり；Z 10はS、TまたはCであり；Z 11

10

20

30

40

50

はW、FまたはYであり；Z<sub>12</sub>はT、SまたはCであり；Z<sub>13</sub>はEまたはDであり；Z<sub>14</sub>はI、A、G、V、LまたはMであり；Z<sub>15</sub>はA、G、V、I、LまたはMであり；Z<sub>16</sub>はG、A、V、I、LまたはMであり；Z<sub>17</sub>はS、TまたはCであり；Z<sub>18</sub>はI、G、A、V、LまたはMであり；Z<sub>19</sub>はDまたはEであり；Z<sub>20</sub>はA、G、V、I、LまたはMであり；Z<sub>21</sub>はW、FまたはYである。別の実施形態では、Z<sub>1</sub>はSに限定され；かつ/またはZ<sub>2</sub>はAに限定され；かつ/またはZ<sub>3</sub>はYに限定され；かつ/またはZ<sub>4</sub>はEに限定され；かつ/またはZ<sub>5</sub>はCに限定され；かつ/またはZ<sub>6</sub>はDに限定され；かつ/またはZ<sub>7</sub>はGに限定され；かつ/またはZ<sub>8</sub>はYに限定され；かつ/またはZ<sub>9</sub>はSに限定され；かつ/またはZ<sub>10</sub>はCに限定され；かつ/またはZ<sub>11</sub>はWに限定され；かつ/またはZ<sub>12</sub>はTに限定され；かつ/またはZ<sub>13</sub>はEに限定され；かつ/またはZ<sub>14</sub>はIに限定され；かつ/またはZ<sub>15</sub>はAに限定され；かつ/またはZ<sub>16</sub>はGに限定され；かつ/またはZ<sub>17</sub>はSに限定され；かつ/またはZ<sub>18</sub>はIに限定され；かつ/またはZ<sub>19</sub>はDに限定され；かつ/またはZ<sub>20</sub>はAに限定され；かつ/またはZ<sub>21</sub>は、Wに限定される。

10

【0142】

CDRの基準構造

【0143】

軽鎖および重鎖可変領域内のCDR構造の予測は、Chothiaおよび共同研究者らの研究（例えば、Chothiaら（1987年）、*J. Mol. Biol.*、196巻：901～17頁；Al-Lazikaniら（1997年）、*J. Mol. Biol.*、273巻：927～48頁）に基づき、免疫グロブリン超可変領域により提示される保存された基準CDR構造に注目する（Northら（2011年）、*J. Mol. Biol.*、406巻（2号）：228～56頁）。開示されるニワトリ由来の抗Kv1.3抗体（表4）に関連する可能性のある基準構造を決定するために、各抗Kv1.3クローンの軽鎖および重鎖可変領域を、「SAbDAb」構造抗体データベース（Dunbarら（2014年）、*Nucleic Acids Res.*、42巻：D1140～D1146頁）における配列分析に提出した。RSCB Protein Data Bank（PDB）で最も高い同一性パーセンテージを有する構造をPyIgClassifyデータベースにおいてさらに分析して、関連するCDRループのコンフォメーションを特定した。一部の事例において、同一性パーセントが同じである1つを超えるPDB構造がSAbDAb分析によって特定された。こうした場合は、PyIgClassifyデータベースを用いて、各PDBヒットに関する基準構造を決定した（表5）。

20

30

【0144】

40

50

【表 5】

表5. ニワトリ由来の抗Kv1.3抗体のPDB構造およびCDR基準構造の割り当て。

\* SAbDAb: 完全な可変ドメインに基づく配列検索

SAbDAb配列分析			PyIgClassifyによるCDR基準構造の割り当て					
mAbクローン	PDB構造	同一性 パーセント (完全な 可変領域)	H1	H2	H3	L1	L2	L3
19724p2.A2	5d72	60.28	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	60.28	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.A3	5d70	65.09	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.A5	4qci	63.01	H1-13-1	H2-10-2	H3-13-*	L1-11-3	L2-8-1	L3-9-*
19724p2.A7	5d7s	63.33	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5c7x	63.33	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p2.B5	5d71	60.56	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	5d70	60.56	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.C4	5d7s	63.5	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5c7x	63.5	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p2.D1	5d72	63.67	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	63.67	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.D2	5d72	64.31	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	64.31	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.D9	4qhu	62.79	H1-13-1	H2-10-*	H3-8-2	L1-11-3	L2-8-1	L3-11-1
19724p2.E6	5d72	64.28	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p2.F7	5d72	65.72	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	65.72	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.G9	5d70	65.09	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.H10	5d71	62.73	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.H12	5d72	64.31	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	64.31	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.H4	5d72	64.78	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	64.78	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p2.H6	5d72	63.67	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	63.67	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_A1	4qhu	62.79	H1-13-1	H2-10-*	H3-8-2	L1-11-3	L2-8-1	L3-11-1
19724p1_A5	5d71	64.31	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_A9	5d72	62.61	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	62.61	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_A11	5d70	63.03	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_B1	5d72	64.92	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	64.92	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_B11	5d70	66.19	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_C4	5d72	62.61	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	62.61	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_C12	5d72	66.82	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_D2	5d72	62.73	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_D8	5d72	63.38	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_D11	5d70	62.91	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_E2	5d72	61.5	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_E3	5d71	63.38	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_E6	5d70	64.95	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_F3	5d70	66.19	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_F6	5d72	60.37	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_F7	5d72	66.35	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	66.35	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_F8	5d72	62.08	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	62.08	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_F9	5d72	66.82	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d70	66.82	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_G6	5d72	63.67	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5d7s	63.67	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	5c7x	63.67	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_H2	5d72	61.97	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
19724p1_H4	4qhu	62.79	H1-13-1	H2-10-*	H3-8-2	L1-11-3	L2-8-1	L3-11-1
19724p1_H7	5d70	62.85	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
19724p1_H12	5d70	63.84	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*

10

20

30

40

【0145】

この分析に基づくと、抗Kv1.3抗体は、次のPDB構造：5d72、5d70、4qci、5d7s、5c7x、5d71、および4qhuを含み得る。

【0146】

PDB構造に基づくと、抗Kv1.3抗体は、以下の基準CDR構造を有し得る：H1 CDRはH1-13-1であり；H2 CDRはH2-12-1、H2-10-2またはH2-10-\*であり；H3 CDRはH3-8-2またはH3-13-\*であり；L1 CDRはL1-11-3であり；L2 CDRはL2-6-\*またはL2-8-1であり；L3 CDRはL3-9-\*またはL3-11-1である。

50

## 【0147】

抗Kv1.3抗体クローン19724p1\_\_F8、19724p1\_\_A1、19724p2\_\_A3、19724p2\_\_G9、19724p1\_\_A11、19724p1\_\_D8、19724p1\_\_E6、19724p1\_\_H4、および19724p1\_\_H7が、発見された他の抗体と明確に異なり、Kv1.3活性を阻害することに特に注目すると、抗Kv1.3抗体の関連するPDB構造は、5d72、5d70、および4qhuを含み得る(表6)。これらのPDB構造の割り当てに基づくと、機能的に阻害するKv1.3抗体は、次の基準CDR配列を含み得る：H1 CDRはH1-13-1であり；H2 CDRはH2-12-1、H2-10-2またはH2-10-\*であり；H3 CDRはH3-8-2であり；L1 CDRはL1-11-3であり；L2 CDRはL2-6-\*またはL2-8-1であり、L3 CDRはL3-9-\*またはL3-11-1である。

10

## 【0148】

抗Kv1.3抗体クローン19724p1\_\_A11、19724p1\_\_H7、19724p2.G9、19724p2.A3、19724p1.E6および19724\_\_D8が、発見された他の抗体と明確に異なり、Jurkat結合に関してFACS陽性であることに特に注目すると、抗Kv1.3抗体の関連するPDB構造は、5d70、および5d72を含み得る(表6)。これらのPDB構造の割り当てに基づくと、FACS陽性Jurkat結合Kv1.3抗体は、次の基準CDR配列を含み得る：H1 CDRはH1-13-1であり；H2 CDRはH2-10-2またはH2-12-1であり；H3 CDRはH3-8-2であり；L1 CDRはL1-11-3であり；L2 CDRはL2-6-\*であり、L3 CDRはL3-9-\*である。

20

## 【0149】

抗Kv1.3抗体クローン19724p1\_\_E6が、発見された他の抗体と明確に異なり、コンフォメーションナルKv1.3エピトープを認識し得ることに特に注目すると、抗Kv1.3抗体の関連するPDB構造は、5d70から構成され得る(表6)。このPDB構造の割り当てに基づくと、コンフォメーションナルKv1.3抗体は、次の基準CDR配列を含み得る：H1 CDRはH1-13-1であり；H2 CDRはH2-10-2であり；H3 CDRはH3-8-2であり；L1 CDRはL1-11-3であり；L3 CDRはL3-9-\*である。

## 【0150】

30

40

50

## 【表 6】

表6. 選択されたニワトリ由来の抗Kv1. 3抗体のPDB構造およびCDR基準構造の割り当て。

mAbの特徴	クローン	PDB構造	PyIgClassifyによるCDR基準構造の割り当て					
			H1	H2	H3	L1	L2	L3
Kv1. 3活性を阻害する	19724p1_F8	5d72	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
		5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p1_A1	4qhu	H1-13-1	H2-10-*	H3-8-2	L1-11-3	L2-8-1	L3-11-1
	19724p2_A3	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p2_G9	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p1_A11	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p1_D8	5d72	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	19724p1_E6	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p1_H4	4qhu	H1-13-1	H2-10-*	H3-8-2	L1-11-3	L2-8-1	L3-11-1
19724p1_H7	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*	
FACS陽性Jurkat結合	19724p1_A11	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p1_H7	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p2.G9	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p2.A3	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
	19724p1_D8	5d72	H1-13-1	H2-12-1	H3-8-2	L1-11-3	L2-6-*	L3-9-*
	19724p1_E6	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*
コンフォメーションナル エピトープを認識する	19724p1_E6	5d70	H1-13-1	H2-10-2	H3-8-2	L1-11-3		L3-9-*

10

20

## 【0151】

有用な可能性がある抗Kv1. 3抗体を産生するさらなるクローンのDNA配列決定を行い、対応する軽鎖および重鎖可変ドメインのアミノ酸配列を推定した。上述のGEMスクリーニングから得られた10個の抗体に関する配列を開示する。

## 【0152】

可変軽鎖配列

## 【0153】

VL配列アラインメント。上述のVL配列の全てのアラインメントを図19に示す。この図は、3つのCDR領域のおよその位置(太字、下線)および各配列に対応する配列番号を示す。

## 【0154】

ユニークなVL CDR配列。図19のVLのユニークなCDR配列のアラインメントを図20に示す。図20に示されるように、10個のVL配列には、6個のユニークなCDR1配列、5個のユニークなCDR2配列、および7個のユニークなCDR3配列がある。

## 【0155】

可変重鎖配列

## 【0156】

VH配列アラインメント。上述のVH配列の全てのアラインメントを図21に示す。この図は、3つのCDR領域のおよその位置(太字、下線)および各配列に対応する配列番号を示す。

## 【0157】

ユニークなVH CDR配列。図21のVHのユニークなCDR配列のアラインメントを図22に示す。図22に示されるように、10個のVH配列には、7個のユニークなCDR1配列、7個のユニークなCDR2配列、および7個のユニークなCDR3配列がある。

## 【0158】

ラマ由来の抗体：有用な可能性がある抗Kv1. 3抗体を産生するクローンのDNA配列決定を行い、対応する軽鎖および重鎖可変ドメインのアミノ酸配列を推定した。上述のよ

30

40

50

うに K v 1 . 3 免疫化ラマに由来する 19 個の抗体に関する配列を開示する。

【 0 1 5 9 】

可変軽鎖配列

【 0 1 6 0 】

V L 配列アラインメント。上述の V L 配列の全てのアラインメントを図 15 に示す。この図は、3つの C D R 領域のおよその位置（太字、下線）および各配列に対応する配列番号を示す。

【 0 1 6 1 】

ユニークな V L C D R 配列。図 15 の V L のユニークな C D R 配列のアラインメントを図 16 に示す。図 16 に示されるように、19 個の V L 配列には、19 個のユニークな C D R 1 配列、13 個のユニークな C D R 2 配列、および 17 個のユニークな C D R 3 配列がある。

10

【 0 1 6 2 】

V L C D R コンセンサス配列。図 16 に開示される配列、ならびに天然に存在するアミノ酸の構造 / 機能の特徴に基づいて、V L C D R のコンセンサス配列を決定することができる。

【 0 1 6 3 】

1 つのコンセンサス配列は、V L C D R 1 モチーフ 5 :

X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub>X<sub>15</sub>X<sub>16</sub>X<sub>17</sub> (配列番号 430)

20

であり、ここで、X<sub>1</sub> は K、R、H、V、L、I、M、A、G、S、T または C であり；X<sub>2</sub> は S、T、C、G、V、L、I、M または A であり；X<sub>3</sub> は S、T、C、K、R または H であり；X<sub>4</sub> は Q、N、E、D、S、T または C であり；X<sub>5</sub> は S、T、C、G、V、L、I、M または A であり；X<sub>6</sub> は V、L、I、M、A、G、D、E、S、T または C であり；X<sub>7</sub> は A、G、V、L、I または M であり；X<sub>8</sub> は S、T、C、H、K、R、F、W、Y、G、V、L、I、M または A であり；X<sub>9</sub> は G、A、V、L、I、M または非存在であり；X<sub>10</sub> は S、T、C または非存在であり；X<sub>11</sub> は N、Q、D、E または非存在であり；X<sub>12</sub> は Q、N、G、V、L、I、M、A、E、D、Y、F、W、S、T または C であり；X<sub>13</sub> は K、R、H、N、Q、G、V、L、I、M、A、F、Y、W、S、T または C であり；X<sub>14</sub> は T、S、C、N または Q であり；X<sub>15</sub> は F、Y、W、S、T または C であり；X<sub>16</sub> は G、V、L、I、M、A、F、Y、W または P であり、X<sub>17</sub> は N、Q、Y、F、W、T、S、C、D または E である。一部の実施形態では、X<sub>1</sub> は K、A、T または G に限定され；かつ / または X<sub>2</sub> は S、A、T、G または L に限定され；かつ / または X<sub>3</sub> は S、T または R に限定され；かつ / または X<sub>4</sub> は Q、E または S に限定され；かつ / または X<sub>5</sub> は S、T または G に限定され；かつ / または X<sub>6</sub> は V、L、D または S に限定され；かつ / または X<sub>7</sub> は L、V、M または I に限定され；かつ / または X<sub>8</sub> は S、H、R、F、G または T に限定され；かつ / または X<sub>9</sub> は G、A または非存在に限定され；かつ / または X<sub>10</sub> は S、T または非存在に限定され；かつ / または X<sub>11</sub> は N、D または非存在に限定され；かつ / または X<sub>12</sub> は Q、G、E、Y または S に限定され；かつ / または X<sub>13</sub> は K、N、G、Y または S に限定され；かつ / または X<sub>14</sub> は T、S または N に限定され；かつ / または X<sub>15</sub> は Y または S に限定され；かつ / または X<sub>16</sub> は L、A、F、V または P に限定され；かつ / または X<sub>17</sub> は、N、Y、T、S または D に限定される。

30

40

【 0 1 6 4 】

配列番号 231 の V L C D R 1 配列は、図 15 中の他のものとは明確に異なり、K v 1 . 3 機能を阻害する抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、V L C D R 1 モチーフ 6 :

X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub>X<sub>15</sub>X<sub>16</sub>X<sub>17</sub> (配列番号 431)

であり、ここで、X<sub>1</sub> は K、R または H であり；X<sub>2</sub> は S、T または C であり；X<sub>3</sub> は S

50

、 TまたはCであり； X<sub>4</sub>はQまたはNであり； X<sub>5</sub>はS、 TまたはCであり； X<sub>6</sub>はV、 L、 I、 M、 AまたはGであり； X<sub>7</sub>はV、 L、 I、 M、 AまたはGであり； X<sub>8</sub>はS、 TまたはCであり； X<sub>9</sub>はV、 L、 I、 M、 AまたはGであり； X<sub>10</sub>はS、 TまたはCであり； X<sub>11</sub>はNまたはQであり； X<sub>12</sub>はNまたはQであり； X<sub>13</sub>はK、 RまたはHであり； X<sub>14</sub>はS、 TまたはCであり； X<sub>15</sub>はY、 FまたはWであり； X<sub>16</sub>はV、 L、 I、 M、 AまたはGであり； X<sub>17</sub>はNまたはQである。一部の実施形態では、 X<sub>1</sub>はKに限定され；かつ/またはX<sub>2</sub>はSに限定され；かつ/またはX<sub>3</sub>はSに限定され；かつ/またはX<sub>4</sub>はQに限定され；かつ/またはX<sub>5</sub>はSに限定され；かつ/またはX<sub>6</sub>はVに限定され；かつ/またはX<sub>7</sub>はVに限定され；かつ/またはX<sub>8</sub>はSに限定され；かつ/またはX<sub>9</sub>はAに限定され；かつ/またはX<sub>10</sub>はSに限定され；かつ/またはX<sub>11</sub>はNに限定され；かつ/またはX<sub>12</sub>はQに限定され；かつ/またはX<sub>13</sub>はKに限定され；かつ/またはX<sub>14</sub>はSに限定され；かつ/またはX<sub>15</sub>はYに限定され；かつ/またはX<sub>16</sub>はLに限定され；かつ/またはX<sub>17</sub>は、 Nに限定される。

10

## 【0165】

V L C D R 2について、 1つのコンセンサス配列は、 V L C D R 2モチーフ5：

Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub>（配列番号432）

であり、ここで、 Y<sub>1</sub>はY、 F、 W、 Q、 N、 R、 K、 H、 EまたはDであり； Y<sub>2</sub>はV、 L、 I、 M、 A、 G、 D、 E、 S、 TまたはCであり； Y<sub>3</sub>はS、 T、 C、 V、 L、 I、 M、 A、 G、 NまたはQであり； Y<sub>4</sub>はS、 T、 C、 N、 Q、 K、 R、 H、 V、 L、 I、 M、 AまたはGであり； Y<sub>5</sub>はR、 K、 H、 QまたはNであり； Y<sub>6</sub>はE、 D、 S、 T、 C、 G、 V、 L、 I、 M、 A、 K、 RまたはHであり、 Y<sub>7</sub>はV、 L、 I、 M、 A、 G、 S、 TまたはCである。一部の実施形態では、 Y<sub>1</sub>はY、 Q、 R、 E、 KまたはNに限定され；かつ/またはY<sub>2</sub>はA、 V、 DまたはTに限定され；かつ/またはY<sub>3</sub>はS、 A、 TまたはNに限定され；かつ/またはY<sub>4</sub>はT、 N、 K、 SまたはIに限定され；かつ/またはY<sub>5</sub>はR、 QまたはHに限定され；かつ/またはY<sub>6</sub>はE、 S、 D、 G、 AまたはHに限定され；かつ/またはY<sub>7</sub>は、 LまたはSに限定される。

20

## 【0166】

配列番号231のV L C D R 2配列は、 図15中の他のものとは明確に異なり、 K v 1 . 3機能を阻害する抗体に由来することに特に注目すると、 代替的なコンセンサス配列は、 V L C D R 2モチーフ6：

30

Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub>（配列番号433）

であり、ここで、 Y<sub>1</sub>はY、 FまたはWであり； Y<sub>2</sub>はV、 L、 I、 M、 AまたはGであり； Y<sub>3</sub>はS、 TまたはCであり； Y<sub>4</sub>はS、 TまたはCであり； Y<sub>5</sub>はQまたはNであり； Y<sub>6</sub>はEまたはDであり； Y<sub>7</sub>はV、 L、 I、 M、 AまたはGである。一部の実施形態では、 Y<sub>1</sub>はYに限定され；かつ/またはY<sub>2</sub>はAに限定され；かつ/またはY<sub>3</sub>はSに限定され；かつ/またはY<sub>4</sub>は、 Tに限定される。かつ/またはY<sub>5</sub>はQに限定され；かつ/またはY<sub>6</sub>はEに限定され；かつ/またはY<sub>7</sub>は、 Lに限定される。

## 【0167】

V L C D R 3について、 1つのコンセンサス配列は、 V L C D R 3モチーフ5：

Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub>Z<sub>10</sub>Z<sub>11</sub>Z<sub>12</sub>（配列番号434）

40

であり、ここで、 Z<sub>1</sub>はQ、 N、 V、 L、 I、 M、 AまたはGであり； Z<sub>2</sub>はQ、 N、 S、 T、 C、 V、 L、 I、 M、 AまたはGであり； Z<sub>3</sub>はV、 L、 I、 M、 A、 G、 F、 Y、 Wまたは非存在であり； Z<sub>4</sub>はK、 R、 H、 V、 L、 I、 M、 A、 Gまたは非存在であり； Z<sub>5</sub>はS、 T、 C、 R、 K、 Hまたは非存在であり； Z<sub>6</sub>はV、 L、 I、 M、 A、 G、 R、 K、 H、 S、 T、 Cまたは非存在であり； Z<sub>7</sub>はY、 F、 W、 S、 T、 C、 G、 V、 L、 I、 M、 A、 NまたはQであり； Z<sub>8</sub>はS、 T、 C、 R、 K、 H、 Y、 F、 Wまたは非存在であり； Z<sub>9</sub>はV、 L、 I、 M、 A、 G、 Y、 F、 Wまたは非存在であり； Z<sub>10</sub>はP、 S、 T、 C、 NまたはQであり； Z<sub>11</sub>はF、 Y、 W、 V、 L、 I、 M、 A、 G、 S、 TまたはCであり； Z<sub>12</sub>はN、 Q、 S、 T、 C、 G、 V、 L、 I、 M、 AまたはGである。一部の実施形態では、 Z<sub>1</sub>はQまたはAに限定され；かつ/またはZ<sub>2</sub>はQ、

50

SまたはLに限定され；かつ/またはZ<sub>3</sub>はA、G、V、Yまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>4</sub>はR、Iまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>5</sub>はT、S、Hまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>6</sub>はG、R、I、K、Sまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>7</sub>はY、T、G、SまたはNに限定され；かつ/またはZ<sub>8</sub>はS、H、Yまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>9</sub>はA、Y、Fまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>10</sub>はP、TまたはNに限定され；かつ/またはZ<sub>11</sub>はY、W、I、L、M、V、TまたはAに限定され；かつ/またはZ<sub>12</sub>は、N、S、T、A、IまたはVに限定される。

【0168】

配列番号231のVL CDR3配列は、図15中の他のものとは明確に異なり、Kv1.3機能を阻害する抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサ配列は、VL CDR3モチーフ6：

Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub> (配列番号435)

であり、ここで、Z<sub>1</sub>はQまたはNであり；Z<sub>2</sub>はQまたはNであり；Z<sub>3</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；Z<sub>4</sub>はY、FまたはWであり；Z<sub>5</sub>はS、TまたはCであり；Z<sub>6</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；Z<sub>7</sub>はPであり；Z<sub>8</sub>はY、FまたはWであり；Z<sub>9</sub>はNまたはQである。一部の実施形態では、Z<sub>1</sub>はQに限定され；かつ/またはZ<sub>2</sub>はQに限定され；かつ/またはZ<sub>3</sub>はAに限定され；かつ/またはZ<sub>4</sub>はYに限定され；かつ/またはZ<sub>5</sub>はSに限定され；かつ/またはZ<sub>6</sub>はAに限定され；かつ/またはZ<sub>7</sub>はPに限定され；かつ/またはZ<sub>8</sub>はYであり；かつ/またはZ<sub>9</sub>は、Nに限定される。

【0169】

可変重鎖配列

【0170】

VH配列アラインメント。上述のVH配列の全てのアラインメントを図17に示す。この図は、3つのCDR領域のおよその位置(太字、下線)および各配列に対応する配列番号を示す。

【0171】

ユニークなVH CDR配列。図17のVHのユニークなCDR配列のアラインメントを図18に示す。図18に示されるように、19個のVH配列には、18個のユニークなCDR1配列、18個のユニークなCDR2配列、および18個のユニークなCDR3配列がある。

【0172】

VL CDRコンセンサ配列。図18に開示される配列、ならびに天然に存在するアミノ酸の構造/機能の特徴に基づいて、VH CDRのコンセンサ配列を決定することができる。

【0173】

VH CDR1について、1つのコンセンサ配列は、VH CDR1モチーフ5：

X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub> (配列番号436)

であり、ここで、X<sub>1</sub>はS、T、Cまたは非存在であり；X<sub>2</sub>はS、T、C、N、Qまたは非存在であり；X<sub>3</sub>はY、F、W、G、V、L、I、M、A、K、R、H、D、E、S、T、C、NまたはQであり；X<sub>4</sub>はY、F、W、S、T、C、NまたはQであり；X<sub>5</sub>はY、F、W、V、L、I、M、A、G、S、TまたはCであり；X<sub>6</sub>はF、Y、W、V、L、I、M、AまたはGであり；X<sub>7</sub>はS、T、C、V、L、I、M、A、G、N、Q、D、E、F、Y、W、K、RまたはHである。一部の実施形態では、X<sub>1</sub>はTまたは非存在に限定され；かつ/またはX<sub>2</sub>はT、S、Nまたは非存在に限定され；かつ/またはX<sub>3</sub>はY、G、K、D、I、A、SまたはNに限定され；かつ/またはX<sub>4</sub>はY、S、F、NまたはSに限定され；かつ/またはX<sub>5</sub>はY、A、G、T、WまたはSに限定され；かつ/またはX<sub>6</sub>はW、IまたはMに限定され；かつ/またはX<sub>7</sub>は、T、S、G、N、E、A、YまたはHに限定される。

10

20

30

40

50

## 【0174】

配列番号306のVH CDR1配列は、図17中の他のものとは明確に異なり、Kv1.3機能を阻害する抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VH CDR1モチーフ6：

X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub> (配列番号437)

であり、ここで、X<sub>1</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；X<sub>2</sub>はNまたはQであり；X<sub>3</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；X<sub>4</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；X<sub>5</sub>はS、TまたはCである。一部の実施形態では、X<sub>1</sub>はIに限定され；かつ/またはX<sub>2</sub>はNに限定され；かつ/またはX<sub>3</sub>はGに限定され；かつ/またはX<sub>4</sub>はMに限定され；かつ/またはX<sub>5</sub>は、Sに限定される。

10

## 【0175】

VH CDR2について、1つのコンセンサス配列は、VH CDR2モチーフ5：

Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub>Y<sub>8</sub>Y<sub>9</sub>Y<sub>10</sub>Y<sub>11</sub>Y<sub>12</sub>Y<sub>13</sub>Y<sub>14</sub>Y<sub>15</sub>Y<sub>16</sub>Y<sub>17</sub> (配列番号438)

であり、ここで、Y<sub>1</sub>はV、L、I、M、A、G、N、Q、S、TまたはCであり；Y<sub>2</sub>はV、L、I、M、A、G、F、WまたはYであり；Y<sub>3</sub>はV、L、I、M、A、G、P、S、T、C、NまたはQであり；Y<sub>4</sub>はF、Y、W、V、L、I、M、A、G、N、Q、P、S、TまたはCであり；Y<sub>5</sub>はS、T、C、V、L、I、M、A、G、Y、F、W、D、E、K、RまたはHであり；Y<sub>6</sub>はV、L、I、M、A、G、D、E、S、TまたはCであり；Y<sub>7</sub>はV、L、I、M、A、G、D、E、S、T、Cまたは非存在であり；Y<sub>8</sub>はS、T、C、N、Q、D、E、R、K、H、V、L、I、M、A、G、N、Qまたは非存在であり；Y<sub>9</sub>はF、Y、W、S、T、C、N、Q、V、L、I、M、AまたはGであり；Y<sub>10</sub>はY、F、W、D、E、N、Q、S、TまたはCであり；Y<sub>11</sub>はY、FまたはWであり；Y<sub>12</sub>はS、T、C、N、Q、V、L、I、M、A、G、R、K、H、DまたはEであり；Y<sub>13</sub>はP、N、Q、EまたはDであり；Y<sub>14</sub>はS、T、C、V、L、I、M、A、G、K、RまたはHであり；Y<sub>15</sub>はV、L、I、M、A、G、F、YまたはWであり；Y<sub>16</sub>はK、R、H、NまたはQであり；Y<sub>17</sub>はS、T、C、V、L、I、M、AまたはGである。一部の実施形態では、Y<sub>1</sub>はA、V、N、T、S、GまたはQに限定され；かつ/またはY<sub>2</sub>はI、VまたはFに限定され；かつ/またはY<sub>3</sub>はA、P、S、G、LまたはNに限定され；かつ/またはY<sub>4</sub>はY、G、N、P、W、SまたはTに限定され；かつ/またはY<sub>5</sub>はS、A、Y、D、E、KまたはGに限定され；かつ/またはY<sub>6</sub>はG、DまたはSに限定され；かつ/またはY<sub>7</sub>はG、D、E、V、Sまたは非存在に限定され；かつ/またはY<sub>8</sub>はS、N、D、R、T、A、G、I、Nまたは非存在に限定され；かつ/またはY<sub>9</sub>はF、T、NまたはAに限定され；かつ/またはY<sub>10</sub>はY、D、N、S、WまたはTに限定され；かつ/またはY<sub>11</sub>はYまたはFに限定され；かつ/またはY<sub>12</sub>はS、T、N、A、RまたはEに限定され；かつ/またはY<sub>13</sub>はP、Q、EまたはDに限定され；かつ/またはY<sub>14</sub>はS、AまたはKに限定され；かつ/またはY<sub>15</sub>はL、F、MまたはVに限定され；かつ/またはY<sub>16</sub>はKまたはQに限定され；かつ/またはY<sub>17</sub>は、SまたはGに限定される。

20

30

## 【0176】

配列番号306のVH CDR2配列は、図17中の他のものとは明確に異なり、Kv1.3機能を阻害する抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサス配列は、VH CDR2モチーフ6：

Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>Y<sub>3</sub>Y<sub>4</sub>Y<sub>5</sub>Y<sub>6</sub>Y<sub>7</sub>Y<sub>8</sub>Y<sub>9</sub>Y<sub>10</sub>Y<sub>11</sub>Y<sub>12</sub>Y<sub>13</sub>Y<sub>14</sub>Y<sub>15</sub>Y<sub>16</sub>Y<sub>17</sub> (配列番号439)

であり、ここで、Y<sub>1</sub>はS、TまたはCであり；Y<sub>2</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；Y<sub>3</sub>はNまたはQであり；Y<sub>4</sub>はS、TまたはCであり；Y<sub>5</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；Y<sub>6</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；Y<sub>7</sub>はEまたはDであり；Y<sub>8</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；Y<sub>9</sub>はS、TまたはCであり；Y<sub>10</sub>はNまたはQであり；Y<sub>11</sub>はY、FまたはWであり；Y<sub>12</sub>はR、KまたはHであり；Y<sub>13</sub>

40

50

はDまたはEであり；Y<sub>14</sub>はS、TまたはCであり；Y<sub>15</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；Y<sub>16</sub>はK、RまたはHであり；Y<sub>17</sub>はV、L、I、M、AまたはGである。一部の実施形態では、Y<sub>1</sub>はSに限定され；かつ/またはY<sub>2</sub>はIに限定され；かつ/またはY<sub>3</sub>はNに限定され；かつ/またはY<sub>4</sub>はSに限定され；かつ/またはY<sub>5</sub>はGに限定され；かつ/またはY<sub>6</sub>はGに限定され；かつ/またはY<sub>7</sub>はEに限定され；かつ/またはY<sub>8</sub>はIに限定され；かつ/またはY<sub>9</sub>はTに限定され；かつ/またはY<sub>10</sub>はNに限定され；かつ/またはY<sub>11</sub>はYに限定され；かつ/またはY<sub>12</sub>はRに限定され；かつ/またはY<sub>13</sub>はDに限定され；かつ/またはY<sub>14</sub>はSに限定され；かつ/またはY<sub>15</sub>はVに限定され；かつ/またはY<sub>16</sub>はKに限定され；かつ/またはY<sub>17</sub>は、Gに限定される。

10

## 【0177】

VH CDR3について、1つのコンセンサ配列は、VH CDR3モチーフ5：

Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>Z<sub>8</sub>Z<sub>9</sub>Z<sub>10</sub>Z<sub>11</sub>Z<sub>12</sub>Z<sub>13</sub>Z<sub>14</sub>Z<sub>15</sub>Z<sub>16</sub>（配列番号440）

であり、ここで、Z<sub>1</sub>はN、Q、V、L、I、M、A、G、R、K、H、D、E、S、T、Cまたは非存在であり；Z<sub>2</sub>はR、K、H、S、T、C、V、L、I、M、A、G、P、F、Y、Wまたは非存在であり；Z<sub>3</sub>はV、L、I、M、A、G、S、T、C、P、R、K、Hまたは非存在であり；Z<sub>4</sub>はV、L、I、M、A、G、F、Y、W、D、E、N、Qまたは非存在であり；Z<sub>5</sub>はF、Y、W、V、L、I、M、A、G、S、T、Cまたは非存在であり；Z<sub>6</sub>はF、Y、W、S、T、C、V、L、I、M、A、Gまたは非存在であり；Z<sub>7</sub>はS、T、C、K、R、Hまたは非存在であり；Z<sub>8</sub>はS、T、C、F、Y、Wまたは非存在であり；Z<sub>9</sub>はV、L、I、M、A、G、P、F、Y、W、Q、Nまたは非存在であり；Z<sub>10</sub>はF、Y、W、V、L、I、M、A、G、S、T、Cまたは非存在であり；Z<sub>11</sub>はP、V、L、I、M、A、G、S、T、Cまたは非存在であり；Z<sub>12</sub>はV、L、I、M、A、G、S、T、C、P、F、Y、Wまたは非存在であり；Z<sub>13</sub>はV、L、I、M、A、G、N、Q、E、D、S、T、Cまたは非存在であり；Z<sub>14</sub>はY、F、W、V、L、I、M、A、Gまたは非存在であり；Z<sub>15</sub>はE、D、V、L、I、M、A、G、S、T、C、Q、Nまたは非存在であり；Z<sub>16</sub>はF、Y、W、S、T、C、V、L、I、M、A、G、DまたはEである。一部の実施形態では、Z<sub>1</sub>はN、A、R、D、G、Sまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>2</sub>はR、S、V、T、P、Wまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>3</sub>はG、T、L、P、Rまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>4</sub>はA、W、Y、D、Nまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>5</sub>はY、L、G、Tまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>6</sub>はY、S、G、Lまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>7</sub>はS、T、K、Rまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>8</sub>はT、Y、Wまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>9</sub>はG、P、Y、Qまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>10</sub>はY、L、I、T、S、Gまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>11</sub>はP、A、G、V、T、I、Sまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>12</sub>はG、S、P、V、F、A、Tまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>13</sub>はG、N、E、D、T、A、Sまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>14</sub>はY、F、W、Lまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>15</sub>はE、D、G、S、Q、Iまたは非存在に限定され；かつ/またはZ<sub>16</sub>は、Y、S、MまたはDに限定される。

20

30

40

## 【0178】

配列番号306のVH CDR3配列は、図17中の他のものとは明確に異なり、Kv1.3機能を阻害する抗体に由来することに特に注目すると、代替的なコンセンサ配列は、VH CDR3モチーフ6：

Z<sub>1</sub>Z<sub>2</sub>Z<sub>3</sub>Z<sub>4</sub>Z<sub>5</sub>Z<sub>6</sub>Z<sub>7</sub>（配列番号441）

であり、ここで、Z<sub>1</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；Z<sub>2</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；Z<sub>3</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；Z<sub>4</sub>はV、L、I、M、AまたはGであり；Z<sub>5</sub>はY、FまたはWであり；Z<sub>6</sub>はDまたはEであり；Z<sub>7</sub>はY、FまたはWである。一部の実施形態では、Z<sub>1</sub>はGに限定され；かつ/またはZ<sub>2</sub>はIに限

50

定され；かつ／またはZ3はVに限定され；かつ／またはZ4はAに限定され；かつ／またはZ5はYに限定され；かつ／またはZ6はDに限定され；かつ／またはZ7は、Yに限定される。

【0179】

CDRの基準構造

【0180】

開示されるラマ由来の抗Kv1.3抗体(表7)に関連する可能性のある基準構造を決定するために、各抗Kv1.3クローンの軽鎖および重鎖可変領域を、「SAbDAb」構造抗体データベース(Dunbarら(2014年)、Nucleic Acids Res., 42巻:D1140~D1146頁)における配列分析に提出した。RSCB Protein Data Bank(PDB)で最も高い同一性パーセンテージを有する構造をPyIgClassifyデータベースにおいてさらに分析して、関連するCDRループのコンフォメーションを特定した。一部の事例において、同一性パーセントが同じである1つを超えるPDB構造がSAbDAb分析によって特定された。こうした場合は、PyIgClassifyデータベースを用いて、各PDBヒットに関する基準構造を決定した(表8)。

【0181】

【表7】

表7. ラマ由来の抗Kv1.3抗体の抗体ELISAおよび機能分析。

抗Kv1.3抗体 クローン	Kv1.3 ELISA	Nav1.8 ELISA (陰性)	Kv1.3阻害%(400nM)		
			平均	SEM (+/-)	n
3A12	陽性	陰性	0	0	2
1A3	陽性	陰性	73.53	8.71	3
3B12	陽性	陰性	0	0	1
3B6	陽性	陰性	0	0	2
3A4	陽性	陰性	0	0	2
3B2	陽性	陰性	0	0	2
3F9	陽性	陰性	0	0	1
2A10	陽性	陰性	0	0	5
3E12	陽性	陰性	0	0	2
3F4	陽性	陰性	0	0	1
3E5	陽性	陰性	0	0	2
2A2	陽性	陰性	0	0	2
3F2	陽性	陰性	0	0	1
3G10	陽性	陰性	0	0	1
3C7	陽性	陰性	0	0	2
2E2	陽性	陰性	0	0	1
3H5	陽性	陰性	0	0	1
1E6	陽性	陰性	0	0	4
3C9	陽性	陰性	0	0	1

【0182】

10

20

30

40

50

## 【表 8】

表8. ラマ由来の抗Kv1.3抗体のPDB構造およびCDR基準構造の割り当て。

SAbDAb配列分析			PyIgClassifyによるCDR基準構造の割り当て					
mAb クローン	PDB構造	同一性パーセント (完全な可変領域)	H1	H2	H3	L1	L2	L3
3A12	5i1d	74.77	H1-13-1	H2-10-12	H3-12-*	L1-17-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	3qos	74.77						
1A3	5i1d	73.79	H1-13-1	H2-10-12	H3-12-*	L1-17-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	3qos	73.79						
3B12	5i1d	74.23	H1-13-1	H2-10-12	H3-12-*	L1-17-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	3qos	74.23						
3B6	5kna	73.21	H1-13-1	H2-10-12	H3-12-*	L1-17-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	5kmv	73.21						
3A4	5tzt	70.22	H1-13-1	H2-10-12	H3-12-*	L1-17-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
3B2	5kna	70.98						
	5kmv	70.98	H1-14-1	H2-9-1	H3-10-*	L1-16-1	L2-8-2	L3-9-cis7-1
3F9	4lkx	73.66						
2A10	4ojf	77.31	H1-13-1	H2-10-6	H3-12-*	L1-16-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	4hix	77.31						
3.00E+12	5kna	75	H1-13-1	H2-10-6	H3-12-*	L1-16-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	5kmv	75						
	4ojf	75						
	4hix	75						
3F4	4ojf	75.89	H1-13-1	H2-10-6	H3-12-*	L1-16-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	4hix	75.89						
3E5	5kna	77.23	H1-13-1	H2-10-6	H3-12-*	L1-16-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	5kmv	77.23						
2A2	5kna	79.01	H1-13-1	H2-10-6	H3-12-*	L1-16-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	5kmv	79.01						
3F2	5kna	77.57	H1-13-1	H2-10-6	H3-12-*	L1-16-1	L2-8-1	L3-9-cis7-1
	5kmv	77.57						
3G10	4zs7	79.74	H1-15-cis11-*	H2-9-1	H3-14-*	L1-14-2	L2-8-1	L3-10-cis6-*
3C7	4zs7	78.44	H1-15-cis11-*	H2-9-1	H3-14-*	L1-14-2	L2-8-1	L3-10-cis6-*
2E2	5f6i	76.88	H1-13-1	H2-10-2	H3-10-*	L1-14-2	L2-8-1	L3-10-*
	4rav	76.88						
3H5	4zs7	82.17	H1-15-cis11-*	H2-9-1	H3-14-*	L1-14-2	L2-8-1	L3-10-cis6-*
1E6	4o9h	69.91	H1-13-1	H2-10-2	H3-11-*	L1-14-1	L2-8-1	L3-9-*
3C9	4o9h	70.35	H1-13-1	H2-10-2	H3-11-*	L1-14-1	L2-8-1	L3-9-*

10

20

30

## 【0183】

この分析に基づくと、抗Kv1.3抗体は、以下のPDB構造で構成され得る：5i1d、3qos、5kna、5kmv、5tzt、4lkx、4ojf、4hix、4zs7、5f6i、4ravおよび4o9h。

## 【0184】

PDB構造に基づくと、抗Kv1.3抗体は、以下の基準CDR構造を有し得る：H1 CDRはH1-13-1、H1-14-1またはH1-15-cis11-\*であり；H2 CDRはH2-10-12、H2-9-1、H2-10-2またはH2-10-6であり；H3 CDRはH3-12-\*、H3-10-\*、H3-11-\*、H3-14-\*またはH3-8-2であり；L1 CDRはL1-17-1、L1-16-1、L1-14-2またはL1-14-1であり；L2 CDRはL2-8-1またはL2-8-2であり；L3 CDRはL3-9-cis7-1、L3-10-cis6-\*、L3-9-\*またはL3-10-\*である。

40

## 【0185】

抗Kv1.3抗体クローン1A3が、発見された他の抗体とは明確に異なり、Kv1.3活性を阻害することに特に注目すると、抗Kv1.3抗体の関連するPDB構造は、5i1dまたは3qosを含み得る（表8）。これらのPDB構造の割り当てに基づくと、機能的に阻害するKv1.3抗体は、以下の基準CDR配列を含み得る：H1 CDRはH1-13-1であり；H2 CDRはH2-10-12であり；H3 CDRはH3-12

50

- \*であり；L 1 C D RはL 1 - 1 7 - 1であり；L 2 C D RはL 2 - 8 - 1であり、L 3 C D RはL 3 - 9 - c i s 7 - 1である。

【 0 1 8 6 】

本開示の主題を前述の例証的な実施形態において記載および例示したが、本開示はほんの一例としてなされたこと、そして本開示の主題の実施に関する詳細には、以下の特許請求の範囲によってのみ限定される本開示の主題の趣旨および範囲から逸脱することなく多数の変更が行われ得ることが理解される。

10

20

30

40

50

【 図 面 】

【 図 1 - 1 】

Figure 1A

LHKv1. 37ミ/糖配列  
(塩基番号P22001. 3、配列番号1)

```

1 MDERLSLLRS PPPPSARHRA HPPQRPASSG GAHTLVNHGY AEPAAAGREL PDMTVVFGDH
61 LLEPEVADGG GAPPOGGCGG GGCDRYEPLP PSLPAAGEQD CCGERVVINI SGLRFETQLK
121 TLCQPPETLL GDPKRRMYF DPLRNEYFFD RNRPSFDALL YYYQSGRIR RPNVNPIDIF
181 SEIRIFYQLG EEAMEKFRFD EGFLEEREP LPRRDFOROV WLLFEYPSS GPARGIAIVS
241 VLVILISIVI FCLETLEPER DEKDYASTS QDSFEAAGNS TSGSRAGASS FSDPFFVET
301 LCIIWFSEFEL LVRFACPSK ATFSRNIMNL IDIVAIIPYF IILGTLEAER QNGGQOAMSL
361 AILRVIRLVR VRFIFKLSRH SKGLQLGQT LKASRELGL LIFFFTIGVI LFSSAVYFAE
421 ADPPTSGFSS IPDAFWAVV TMTTVGYGDM HPTVIGGKIV GSLCAIAGVL TIALPVPVIV
481 SNENYFYHRE TEGEEQSQYM HVGSCQHLSS SAEELRKARS NSTLSKSEYM VIEEGGMNHS
541 AFPQTPFKTG NSTATCTTNN NPNSCVNIKK IFTDV

```

【 図 1 - 2 】

Figure 1B

LHKv1. 37ミ/糖配列(配列番号2)

```

1 MDERLSLLRS PPPPSARHRA HPPQRPASSG GAHTLVNHGY AEPAAAGREL PDMTVVFGDH
61 LLEPEVADGG GAPPOGGCGG GGCDRYEPLP PSLPAAGEQD CCGERVVINI SGLRFETQLK
121 TLCQPPETLL GDPKRRMYF DPLRNEYFFD RNRPSFDALL YYYQSGRIR RPNVNPIDIF
181 SEIRIFYQLG EEAMEKFRFD EGFLEEREP LPRRDFOROV WLLFEYPSS GPARGIAIVS
241 VLVILISIVI FCLETLEPER DEKDYASTS QDSFEAAGNS TSGSRAGASS FSDPFFVET
301 LCIIWFSEFEL LVRFACPSK ATFSRNIMNL IDIVAIIPYF IILGTLEAER QNGGQOAMSL
361 AILRVIRLVR VRFIFKLSRH SKGLQLGQT LKASRELGL LIFFFTIGVI LFSSAVYFAE
421 ADPPTSGFSS IPDAFWAVV TMTTVGYGDM HPTVIGGKIV GSLCAIAGVL TIALPVPVIV
481 SNENYFYHRE TEGEEQSQYM HVGSCQHLSS SAEELRKARS NSTLSKSEYM VIEEGGMNHS
541 AFPQTPFKTG NSTATCTTNN NPNSCVNIKK IFTDV DKKHHHHHH HHH

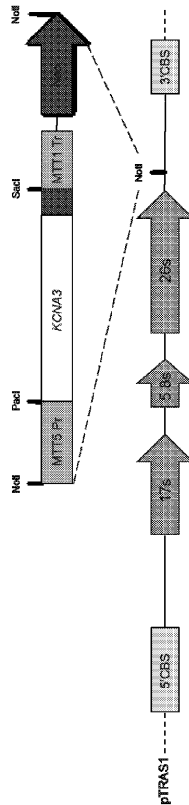
```

10

20

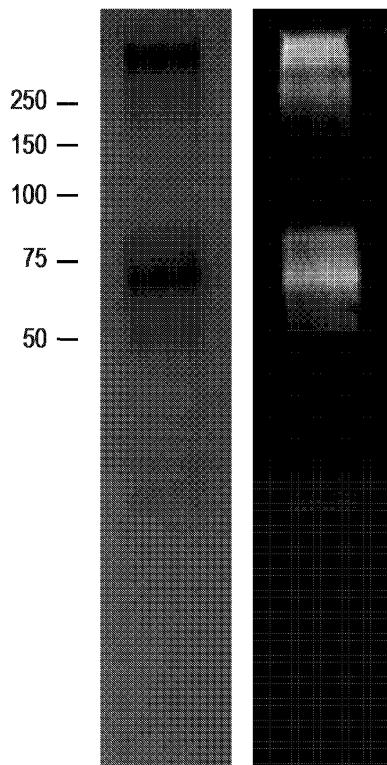
【 図 2 】

Figure 2



【 図 3 】

Figure 3



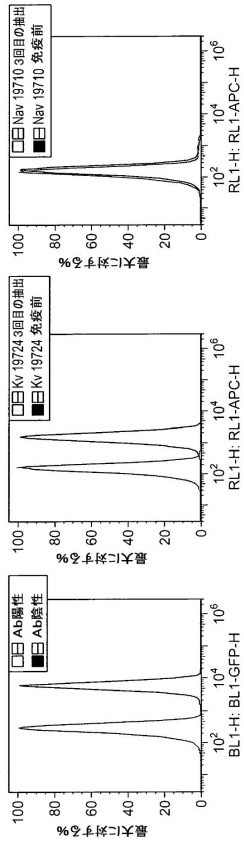
30

40

50

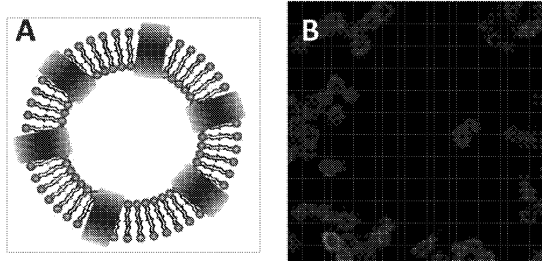
【 図 4 】

Figure 4



【 図 5 A - B 】

Figures 5A-B



10

20

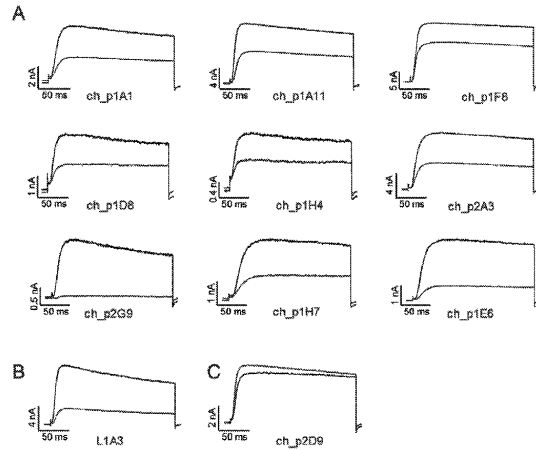
【 図 6 】

Figure 6



【 図 7 A - C 】

Figures 7A-C



30

40

50

【 図 8 】

Figure 8B

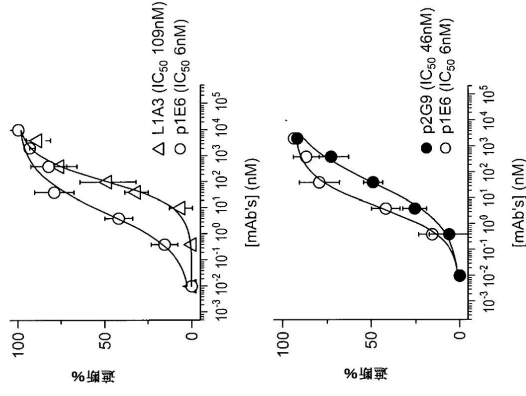
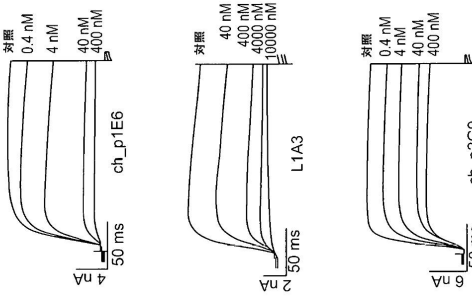
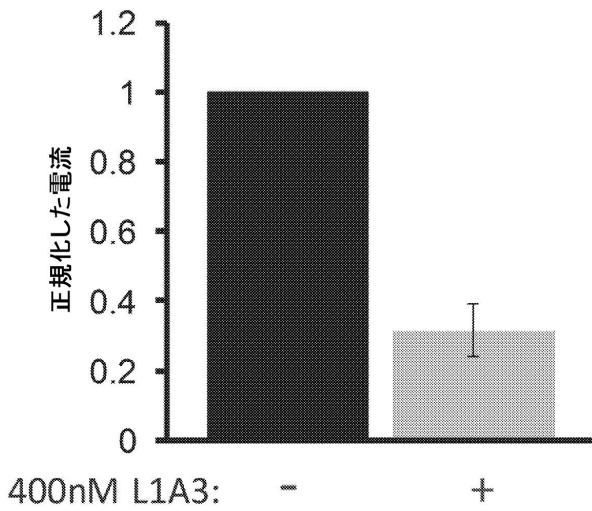


Figure 8A



【 図 10 】

Figure 10



【 図 9 】

Figure 9



【 図 11 A - 1 】

Figure 11A

経緯可変領域の配列アラインメント

配列番号	クローン名	CDR1	CDR2
3	19724p1_F8	-AVTQPASVSANPGETVETVITCSGS---	SGSYGMYQKAPGSGAPVTVIYDNTNRESDIP
4	19724p1_A9	ALTOQPASVSANPGETVETVITCSGTYNAGSYGMYQKAPGSGAPVTVIYDNTNRESNIP	
5	19724p2_A5	-AVTQPASVSANPGETVETVITCSGS---	GSSYGYQKSPGRTPTVTVIYDNTNRESDIP
6	19724p2_H10	-AVTQPASVSANPGETVETVITCSGS---	GSSYGYQKSPGRTPTVTVIYDNTNRESDIP
7	19724p2_A2	-ALTOQPASVSANPGETVETVITCSGKSS---	DYYSWHQOEPAGSAPVTLLIYDNTNRESDIP
8	19724p1_F6	-ALTOQPASVSANLGGTVEITCSGKSS---	RYGYSWHQKSPGSGAPVTLLIYDNTNRESDIP
9	19724p1_D2	-ALTOQPASVSANPGETVETVITCSGKSS---	NGVYSWHQKSPGSGAPVTLLIYDNTNRESDIP
10	19724p1_E2	-ALTOQPASVSANPGETVETVITCSGKSS---	SYGYSWHQKSPGSGAPVTLLIYDNTNRESDIP
11	19724p1_H2	-ALTOQPASVSANPGETVETVITCSGKSS---	SYGYSWHQKSPGSGAPVTLLIYDNTNRESDIP
12	19724p2_D2	-ALTOQPASVSANLGGTVEITCSRDDSS---	GYGYSWHQKSPGSGALVTVIYDNTNRESDIP
13	19724p2_H12	-ALTOQPASVSANLGGTVEITCSRDDSS---	GYGYSWHQKSPGSGALVTVIYDNTNRESDIP
14	19724p2_H4	-ALTOQPASVSANLGGTVEITCSRDDSS---	GYGYSWHQKSPGSGALVTVIYDNTNRESDIP
15	19724p1_C4	-ALTOQPASVSANPGETVETVITCSGGSYAGSYGMYQKAPGSGAPVTVIYDNTNRESDIP	
16	19724p2_E6	ALTOQPASVSANLGGTVEITCSGG---	SYTYGWHQKSPGSGAPVTVIYDNTNRESDIP
17	19724p1_C12	ALTOQPASVSANPGETVETVITCSGG---	SYTYGWHQKSPGSGAPVTVIYDNTNRESDIP
18	19724p1_F7	ALTOQPASVSANPGETVETVITCSGG---	SYTYGWHQKSPGSGALVTVIYDNTNRESDIP
19	19724p1_F9	ALTOQPASVSANPGETVETVITCSGG---	SYTYGWHQKSPGSGALVTVIYDNTNRESDIP
20	19724p2_B5	-AVTQPASVSANLGGTVEITCSGSS---	GSYTYGWHQKSPGSGAPVTLLIYDNTNRESNIP
21	19724p2_G9	-ALTOQPASVSANPGETVETVITCSGSS---	GYFFGMYQKSPGSGAPVTLLIYDNTNRESNIP
22	19724p1_A11	-ALTOQPASVSANPGETVETVITCSGSS---	GYFFGMYQKSPGSGAPVTLLIYDNTNRESNIP
23	19724p1_H7	-ALTOQPASVSANPGETVETVITCSGSS---	GYFFGMYQKSPGSGAPVTLLIYDNTNRESNIP

【 図 1 1 A - 2 】

Figure 11A (続き)

経鎖可変領域の配列アラインメント(続き)

配列番号	クローン名	CDR1	CDR2
24	19724p2_A3	-ALTPASVSNPGETVKITCSGGSS---	GIYFFGWYQKSPGSAFVTLIYENKRPSPHP
25	19724p1_H12	-ALTPASVSNPGETVKITCSGGSS---	SNYIGWYQKSPGSAFVTLIYWDDEPSPHP
26	19724p1_A5	-AVTPASVSNLGGTVEITCSGGSS---	SSYICGFKQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
27	19724p1_E3	-AVTPASVSNLGGTVEITCSGGSS---	SSYIGFWQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
28	19724p2_D1	VLTPQPSVSNPGETVEITCSGGSS---	GSYIGWYQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
29	19724p2_H6	-ALTPQPSVSNPGETVEITCSGGSS---	GSYIGWYQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
30	19724p1_B11	-ALTPQPSVSNPGETVKITCSGGSY---	SNYIGWYQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
31	19724p1_F3	-ALTPQPSVSNPGETVKITCSGGSY---	SNYIGWYQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
32	19724p2_A7	-ALSPASVSNPGETVKITCSGGSS---	GSYIGWYQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
33	19724p2_C4	-ALSPASVSNPGETVKITCSGGSS---	GSYIGWYQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
34	19724p1_G6	-ALTPASVSNLGGTVEITCSGGSS---	SNNYIGWYQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
35	19724p1_D11	-ALTPASVSNPGETVKITCSGGSS---	GSYIGWYQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
36	19724p2_D9	-ALTPASVSNPGETVEITCSGGSS---	GSYIGWYQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
37	19724p1_A1	-ALTPASVSNPGETVEITCSGGSS---	SSYIGFWQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
38	19724p1_H4	-ALTPASVSNPGETVEITCSGGSS---	SSYIGFWQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
39	19724p1_D8	-ALTPASVSNPGETVEITCSGGSS---	YGYWQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
40	19724p2_F7	-ALTPQPSVSNLGGTVEITCSGGSS---	GSYIGWYQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
41	19724p1_B1	-ALTPQPSVSNLGGTVEITCSGGSS---	GSYIGWYQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP
42	19724p1_E6	-ALTPQPSVSNLGGTVEITCSGGSS---	GSYIGWYQKSPGSAFVTLIYNSKRPSPHP

【 図 1 1 B - 1 】

Figure 11B

経鎖可変領域の配列アラインメント(続き)

配列番号	クローン名	CDR3
3	19724p1_F8	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
4	19724p1_A9	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
5	19724p2_A5	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
6	19724p2_H10	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
7	19724p2_A2	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
8	19724p1_F6	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
9	19724p1_D2	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
10	19724p1_E2	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
11	19724p1_H2	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
12	19724p2_D2	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
13	19724p2_H12	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
14	19724p2_H4	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
15	19724p1_C4	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
16	19724p2_E6	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
17	19724p1_C12	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
18	19724p1_F7	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
19	19724p1_F9	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
20	19724p2_B5	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
21	19724p2_G9	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
22	19724p1_A11	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
23	19724p1_H7	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL

10

20

【 図 1 1 B - 2 】

Figure 11B (続き)

経鎖可変領域の配列アラインメント(続き)

配列番号	クローン名	CDR3
24	19724p2_A3	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
25	19724p1_H12	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
26	19724p1_A5	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
27	19724p1_E3	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
28	19724p2_D1	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
29	19724p2_H6	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
30	19724p1_B11	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
31	19724p1_F3	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
32	19724p2_A7	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
33	19724p2_C4	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
34	19724p1_G6	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
35	19724p1_D11	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
36	19724p2_D9	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
37	19724p1_A1	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
38	19724p1_H4	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
39	19724p1_D8	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
40	19724p2_F7	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
41	19724p1_B1	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL
42	19724p1_E6	SRFSGSAGSTATLITIGVQAEDEAVYFCGGYDSDNTV-AGIFGAGTTLTVL

【 図 1 2 】

Figure 12

ユニークな経鎖CDR配列のアラインメント

配列番号	CDR 1	CDR 2	CDR 3
43	SGS---SGSYG	DNTNRES	GGYDNTY-A
44	SGGYNVAGSYYG	NDNKRPS	GNEDSYT---
45	SGG---GSSYIG	ESNKRPS	GWEGSS---
46	SGGRS---DYYS	YNDKRPS	GGYDDTIN--
47	SGGYS---RYGYS	SNNKRPS	GSTDNNGY--
48	SGGYS---NYGYS	NNKRPS	GSTDNNGY--
49	SGGYS---SYGYS	YNKRPS	GSTDINGT--
50	SRDUS---GYGIG	SNSQRS	GFDSSTYVIT
51	SGGGSYAGSYYG	YNDNRES	GFDSSRT--
52	SGG---SYTYG	EDTKRES	GTDSSYV--
53	SGG---SYSYG	ESNKRPS	GFDSSSGD-
54	SGGS---GSYYG	WDERPS	GAYDGSYIT-
55	SGGS---GYFFG	YNSKRPS	GYDSEIA--
56	SGGGS---SNYIG	RNDKRPS	GIEDNTG--A
57	SGDGS---SSYIG	HNDKRPS	CGSIDSS---
58	SGGG---GSYIG	YNDKRPS	GNADTSG--
59	SGGSY---SNYIG	YNKRPS	GNADSSAGD
60	SGAS---GSYIG	ENTKRPS	GAREDSDT-
61	SGSD---SNNYIG	ENNRKPS	GAWESSN-S
62	SGGS---GSYIG		GYDGSND-S
63	SGGG---GSYIG		GSYDSSNG--
64	SGGG---SSYIG		GSWDSAG-Y
65	SGGG---SRYIG		GSADSSYV--
66	SGGSVSG---YG		GSWDSAG--
67	SGGNDGSSYIG		
68	SGG---GSYIG		
69	SGGYSDDGSSYIG		

30

40

50

【 図 1 3 A - 1 】

Figure 13A

重鎖可変領域の配列アラインメント

Table with 4 columns: 配列番号, クローン名, CDR1, CDR2. Contains amino acid sequences for various clones.

【 図 1 3 A - 2 】

Figure 13A (続き)

重鎖可変領域の配列アラインメント(続き)

Table with 4 columns: 配列番号, クローン名, CDR1, CDR2. Continuation of amino acid sequences for various clones.

【 図 1 3 B - 1 】

Figure 13B

重鎖可変領域の配列アラインメント(続き)

Table with 4 columns: 配列番号, クローン名, CDR2 (続き), CDR3. Contains amino acid sequences for various clones.

【 図 1 3 B - 2 】

Figure 13B (続き)

重鎖可変領域の配列アラインメント(続き)

Table with 4 columns: 配列番号, クローン名, CDR2 (続き), CDR3. Continuation of amino acid sequences for various clones.

【】 1 3 C - 1

Figure 13C

重鎖可変領域の配列アラインメント(続き)

配列番号	クローン名	クローン名	CDR3 (続き)
125	19724p1_F8		GAGYIDAWGHGTEVIVS
126	19724p2_D1		TPGYIDSWGHGTEVIVS
127	19724p2_H6		TPGYIDSWGHGTEVIVS
128	19724p1_C4		AYCEIDTWGHGTEVIVS
129	19724p1_E6		IAGSIDAWGHGTEVIVS
130	19724p1_All		GVGEIDAWGHGTEVIVS
131	19724p1_H7		GVGEIDAWGHGTEVIVS
132	19724p2_A3		GVGEIDAWGHGTEVIVS
133	19724p2_G9		GVGEIDAWGHGTEVIVS
134	19724p2_A5		-AANIDAWGHGTEVIVS
135	19724p2_H10		-AANIDAWGHGTEVIVS
136	19724p1_A5		-PGSIDTWGHGTEVIVS
137	19724p1_E3		-PGSIDTWGHGTEVIVS
138	19724p2_A7		-TAYIDAWGHGTEVIVS
139	19724p2_C4		-TAYIDAWGHGTEVIVS
140	19724p1_G6		-AAYIDAWGHGTEVIVS
141	19724p1_D8		-AGLIDAWGHGTEVIVS
142	19724p1_E2		-PATIDAWGHGTEVIVS
143	19724p1_H2		-PATIDAWGHGTEVIVS
144	19724p1_D2		-PATIDAWGHGTEVIVS
145	19724p1_F6		-PATIDAWGHGTEVIVS
146	19724p1_A9		-AGSIDAWGHGTEVIVS
147	19724p2_B5		-IGSIDAWGHGTEVIVS

【】 1 3 C - 2

Figure 13C (続き)

重鎖可変領域の配列アラインメント(続き)

配列番号	クローン名	クローン名	CDR3 (続き)
148	19724p2_F7		---TIDTWGRGTEVIVS
149	19724p1_B11		-LGDMDAWGHGTEVIVS
150	19724p1_F3		-LGDMDAWGHGTEVIVS
151	19724p2_E6		-VGCIDAWGHGTEVIVS
152	19724p1_B1		-THLIDAWGHGTEVIVS
153	19724p1_D11		-TDGLDAWGHGTEVIVS
154	19724p1_C12		-AGCIDAWGHGTEVIVS
155	19724p2_A2		-IGSIDAWGHGTEVIVS
156	19724p1_H12		---NIDAWGHGTEVIVS
157	19724p1_F7		---SDIDAWGHGTEVIVS
158	19724p1_F9		---SDIDAWGHGTEVIVS
159	19724p1_A1		-PYGIDTWGHGTEVIVS
160	19724p1_H4		-PYGIDTWGHGTEVIVS
161	19724p2_D9		-PYGIDTWGHGTEVIVS
162	19724p2_H12		---AIDAWGHGTEVIVS
163	19724p2_D2		---AIDAWGHGTEVIVS
164	19724p2_H4		---AIDAWGHGTEVIVS

【】 1 4 - 1

Figure 14

ユニークな重鎖CDR配列のアラインメント

配列番号	CDR1	CDR2
165	NDYGM	GIY-SSGRYYGAAVQ
166	SSYFM	AIS-NDAMFIAYGSAVK
167	SDYGM	EID-SAGSSTYYTFAVR
168	SSHGM	GIS-RDGRFTRYGAAVK
169	SDRGM	GIS-SSGRSAAYGAAVK
170	SSYGM	GIS-SSGRSTAYGAAVK
171	SSYAM	EIN-AVGSSTTGYGAVD
172	SSYGV	GIS-ATGSETSIYAPAVK
173	SSYQM	AIN-SFGNSTHGAAYK
174	STHGM	AIN-RFGNSTHGAAYK
175	SSYFM	AIN-RFGNSTHGAAYK
176	SSYSV	AIN-RFGNSTHGAAYK
177	SSYTM	KIN-RAGSGTGYGSAVK
178		EVSNDGSDTYSYSAVE
179		GIP-DGGSYTYGAAVK
180		GIP-DDGSDTLYAPAVK
181		GIP-DDGSDTLYAPAVK
182		GIP-NDGG-ADYGAAYK
183		EIT-NTGSETRYGAAVK
184		EIS-DIGTTTTYGSAAVK
185		EIS-DIGTTTTYGSAAVK
186		EIT-NTGSETRYGAAVK
187		VIS-NSGGSSTNYGAAVK
188		VIS-KDGGSTYGSAAVK
189		SIS-VADSSSTHYGAAVK
190		SIS-NTGSSSTAYGAAVK
191		
192		
193		
194		
195		
196		
197		
198		
199		
200		
201		
202		

【】 1 4 - 2

Figure 14 (続き)

配列番号	CDR3
203	NADSGYI---T---GAGYIDAW
204	SAGTGCN---NGYMCADYTPGYIDSW
205	CSGSG---GC---AYGEIDTW
206	SAIEC---PGYSCWTFIAGSIFAW
207	STGTG---YG---GVGEIDAW
208	SYSN---CGGYSC--A-AANIDAW
209	SYSN---CGEYSC--A-AANIDAW
210	AAGSGRC---AGAGGYCN-FGSDITW
211	GAYD---YCG-GGWGN-TAYIDAW
212	GAYD---YCGSGWGN-TAYIDAW
213	GAYG---YCGSGWGN-AYIDAW
214	GAYG---YCGSGWCA-AGLIDAW
215	SAYG---YCGSGSWCS-PATIDAW
216	GAYG---YCGSGSWCS-PATIDAW
217	DNYD---CGKICGAY-AGSIDAW
218	SSHE---CGKSCWGY-IGSIDAW
219	GGI---TIDTW
220	SAGGYCMNTAGYRCIPEY-LGDMERAW
221	TAD---SSGGLMG-VGCLDIAW
222	GVYV-Y---CGSSWGC-THIIDAW
223	AAGG---GCPTC-TY-TDGLDIAW
224	NAGD---AGCDWG-AGCIDAW
225	SSYD---CGTGCWGY-IGSIDAW
226	DFGC---SGSSCVGY--NIDAW
227	GVS---SDIDAW
228	SSYQ---CADNCWGY-PYGIDTW
229	GS-----AIDAW





【 図 19 】

Figure 19

重鎖可変領域の配列アラインメント

配列番号	クローン名	CDR1	CDR2
371	19724p3_E12	AVTOPASVSNPVGTEIITCSGGG-----YIGWYQOKSPGSAFVTVIYVNDKRPSPDIFS	CDR2
372	19724p3_G3	AVTOPASVSNPVGTEIITCSGGG-----YIGWYQOKSPGSAFVTVIYVNDKRPSPDIFS	
373	19724p3_D3	VLTQPASVSNLGGTEIITCSGGS-----NYGHWQOKSPGSAFVTVIYVNDKRPSPDIFS	
374	19724p3_G6	VLTQPASVSNLGGTEIITCSGGS-----NYGHWQOKSPGSAFVTVIYVNDKRPSPDIFS	
375	19724p3_F95'	ALTOPSSVSNLGGTEIITCSGGS-----NYGHWQOKSPGSAFVTVIYVNDKRPSPDIFS	
376	19724p3_F10	ALTOPSSVSNLGGTEIITCSGGS-----NYGHWQOKSPGSAFVTVIYVNDKRPSPDIFS	
377	19724p3_G8	ALTOPASVSNLGGTEIITCSGGS-----YVYGFQOKSPGSAFVTVIYVNDKRPSPDIFS	
378	19724p3_A12	AVTOPASVSNLGGTEIITCSGGS-----YVYGFQOKSPGSAFVTVIYVNDKRPSPDIFS	
379	19724p3_E10_2	ALTOPASVSNLGGTEIITCSGGS-----YVYGFQOKSPGSAFVTVIYVNDKRPSPDIFS	
380	19724p3_F7_	ALTOPASVSNLGGTEIITCSGGS-----YVYGFQOKSPGSAFVTVIYVNDKRPSPDIFS	

【 図 21 - 1 】

Figure 21

重鎖可変領域の配列アラインメント

配列番号	クローン名	CDR1	CDR2
399	19724p3_E10_2	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSDHGMFWVRQAPGKGLFVVTGISKDGGA	
400	19724p3_F7_	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSDHGMFWVRQAPGKGLFVVTGISKDGGA	
401	19724p3_A12	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSNMGWVRQAPGKGLFVVTGISKDGGA	
402	19724p3_F95'	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSNMGWVRQAPGKGLFVVTGISKDGGA	
403	19724p3_D3	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSYDMWVRQAPGKGLFVVAALNRFNG-S	
404	19724p3_G6	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSYDMWVRQAPGKGLFVVAALNRFNG-S	
405	19724p3_G3	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSDYAMWVRQAPGKGLFVVAALNRFNG-S	
406	19724p3_E12	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSFNMLWVRQAPGKGLFVVAALNRFNG-S	
407	19724p3_F10	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSYAMWVRQAPGKGLFVVAALNRFNG-S	
408	19724p3_G8	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSYAMWVRQAPGKGLFVVAALNRFNG-S	

配列番号	クローン名	CDR1	CDR2
399	19724p3_E10_2	TWYATAVDGRATISKDNQOSTLRLLQNLNRAEDTATYFCARPSNVGACTFSPSPCPY----	CDR3
400	19724p3_F7_	TWYATAVDGRATISKDNQOSTLRLLQNLNRAEDTATYFCARPSNVGACTFSPSPCPY----	
401	19724p3_A12	TDYGAAVKGRATISKDNQOSTLRLLQNLNRAEDTGTTCYRIDDGS-----G-----	
402	19724p3_F95'	TDYGAAVKGRATISKDNQOSTLRLLQNLNRAEDTGTTCYRIDDGS-----G-----	
403	19724p3_D3	TGCGEAVKGRATISKDNQOSTLRLLQNLNRAEDTATYCAKAYGCG-SGG-GRG-----	
404	19724p3_G6	TGCGEAVKGRATISKDNQOSTLRLLQNLNRAEDTATYCAKAYGCG-SGG-GRG-----	
405	19724p3_G3	TNYGAAVKGRATISKDNQOSTLRLLQNLNRAEDTATYCAKAYGCG-N-----	
406	19724p3_E12	TNYGAAVKGRATISKDNQOSTLRLLQNLNRAEDTATYCAKAYGCG-N-----	
407	19724p3_F10	TEYGAAVKGRATISKDNQOSTLRLLQNLNRAEDTGTTCYRIDDGS-----R-SRC-----	
408	19724p3_G8	TEYGAAVKGRATISKDNQOSTLRLLQNLNRAEDTGTTCYRIDDGS-----R-SRC-----	

【 図 20 】

Figure 20

ユニークな軽鎖CDR配列のアラインメント

配列番号	CDR2	配列番号	CDR3
387	WNDKRPSPDIFS	392	GGYDGSCTD
388	SNNQRPS	393	GDYDGSCTD
389	SNDKRPSPDIFS	394	GSYDST-DR
390	DATNRPSPDIFS	395	GSRDSN-TE
391	DDTNRPSPDIFS	396	GSDSS-YV
		397	GSADSS-GN
		398	GSWDSN1YA

【 図 21 - 2 】

Figure 21 (続き)

重鎖可変領域の配列アラインメント(続き)

配列番号	クローン名	CDR1	CDR2	CDR3 (続き)
399	19724p3_E10_2	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSDHGMFWVRQAPGKGLFVVTGISKDGGA		TAGSIDAWGHGTEVIIVSS
400	19724p3_F7_	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSDHGMFWVRQAPGKGLFVVTGISKDGGA		TAGSIDAWGHGTEVIIVSS
401	19724p3_A12	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSNMGWVRQAPGKGLFVVTGISKDGGA		CCGSIDVWGHGTEVIIVSS
402	19724p3_F95'	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSNMGWVRQAPGKGLFVVTGISKDGGA		CCGSIDVWGHGTEVIIVSS
403	19724p3_D3	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSYDMWVRQAPGKGLFVVAALNRFNG-S		GVGNIDAWGHGTEVIIVSS
404	19724p3_G6	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSYDMWVRQAPGKGLFVVAALNRFNG-S		GVGNIDAWGHGTEVIIVSS
405	19724p3_G3	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSDYAMWVRQAPGKGLFVVAALNRFNG-S		-SGILDWGHGTEVIIVSS
406	19724p3_E12	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSFNMLWVRQAPGKGLFVVAALNRFNG-S		DSGRIDAWGHGTEVIIVSS
407	19724p3_F10	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSYAMWVRQAPGKGLFVVAALNRFNG-S		AAGCIDTWGHGTEVIIVSS
408	19724p3_G8	MAAVTLDESGGGHTQPPGGGLSIVCKASGFTFSSYAMWVRQAPGKGLFVVAALNRFNG-S		AAGCIDTWGHGTEVIIVSS

【 図 2 2 】

Figure 22

ユニークな重鎖CDR配列のアライメント

配列番号	CDR1	配列番号	CDR2
409	SDHGM	416	GISKDGG-ATWYATAVD
410	SSSNM	417	EITSTGR-ITDYGSAVK
411	SSYDM	418	GITSAGG-GTEYGAADV
412	SSYQM	419	AINRFGN-STGQGEAVK
413	SDYAM	420	SINRFGN-STGYAAAVK
414	SSFNM	421	SIYSGGGYTNYGAAVK
415	SSYAM	422	SIDDAGG---TEYGAAVK
<b>配列番号</b>		<b>配列番号</b>	
423	PSNVGACTFSPSPY---TAGSIDAW		
424	YIDDS-----G-----CCSIDYW		
425	YVSGGCGRG-S-----CGDSIDAW		
426	GAYGYC--GSG-GWC-----GYGNIDAW		
427	SAYSGY-N-----SGLIDAW		
428	DAGSDCWHTD-GWSTYNCGDSGRIDAW		
429	DARSRS---R-SWC-----AAGCIDTW		

【 配列表 】

0007082065000001.app

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

		F I		
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 N	5/071(2010.01)	C 1 2 N	5/071	
C 1 2 N	1/02 (2006.01)	C 1 2 N	1/02	
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	37/02 (2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	37/06 (2006.01)	A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	21/04 (2006.01)	A 6 1 P	21/04	
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	7/04 (2006.01)	A 6 1 P	7/04	
A 6 1 P	3/10 (2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	15/00 (2006.01)	A 6 1 P	15/00	
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	1/02 (2006.01)	A 6 1 P	1/02	
A 6 1 P	19/08 (2006.01)	A 6 1 P	19/08	
A 6 1 P	17/00 (2006.01)	A 6 1 P	17/00	
C 1 2 N	5/0783(2010.01)	C 1 2 N	5/0783	

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

弁護士 山本 健策

## (72)発明者

コルツシ, ポール

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 9 3 0, グロスター, ワシントン ストリート 8 7 3

## (72)発明者

ベドネンコ, ジャンナ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 8 0 1, ウォーバン, ケンブリッジ ロード 2 7 3, ユニット 7 0 2

## (72)発明者

ビシャルヤン, エレナ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 7 4, アーリントン, オールド ミスティック ストリート 1 6

## (72)発明者

パボヤン, アショット

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 7 4, アーリントン, オールド ミスティック ストリート 1 6

## (72)発明者

カルダレリ, ジョアンナ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 2 9, チャールズタウン, ナインス ストリート 1 0 3, アパートメント 1 2 4

## (72)発明者

クラーク, セオドア ジー.

アメリカ合衆国 ニューヨーク 1 4 8 5 0, イサカ, フェアマウント ストリート 2 0 6

## (72)発明者

カーン, アール. ダグラス

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 0 8, ボストン, マウント バーノン ストリート 4 3, ナンバー 1

## (72)発明者

マリエン, ローレ

ベルギー国 9 0 0 0 ヘント, ネーデルカウテル 5 3 / 1 0 2

## (72)発明者

ファン デル ヴォニング, バス

オランダ国 9 8 0 0 パフテ-マリア-ルールネ, デラ ファイッレドレーフ 9

## (72)発明者

デ ハールド, ハンス

オランダ国 4 4 3 6 エンアー アウデランデ, ヘト ズウィント 1

## (72)発明者

ハリマン, ウィリアム ディー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 5 0 1, アラメダ, バーバース ポイント ロード 2 8 6 1

## (72)発明者

コラリニ, エレン ジェイ.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 6 1 8, オークランド, マソニック アベニュー 5 1 2 0

---

審査官 進士 千尋

(56)参考文献 国際公開第2015/193452(WO, A1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C12N 15/00 - 15/90

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/REGISTRY(STN)