

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6286532号  
(P6286532)

(45) 発行日 平成30年2月28日 (2018. 2. 28)

(24) 登録日 平成30年2月9日 (2018. 2. 9)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 K 19/00 (2006. 01)

C O 7 K 19/00

C O 7 K 16/28 (2006. 01)

C O 7 K 16/28 Z N A

C O 7 K 16/46 (2006. 01)

C O 7 K 16/46

C O 7 K 14/56 (2006. 01)

C O 7 K 14/56

A 6 1 K 38/21 (2006. 01)

A 6 1 K 38/21

請求項の数 24 (全 126 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-511712 (P2016-511712)  
 (86) (22) 出願日 平成25年4月29日 (2013. 4. 29)  
 (65) 公表番号 特表2016-522816 (P2016-522816A)  
 (43) 公表日 平成28年8月4日 (2016. 8. 4)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2013/038659  
 (87) 国際公開番号 W02014/178820  
 (87) 国際公開日 平成26年11月6日 (2014. 11. 6)  
 審査請求日 平成28年4月27日 (2016. 4. 27)

(73) 特許権者 500468537  
 テバ・ファーマシューティカルズ・オース  
 トラリア・ピーティワイ・リミテッド  
 オーストラリア・ニュー・サウス・ウェー  
 ルズ・2 1 1 3・マクアリー・パーク・エ  
 ッピング・ロード・3 7・レヴェル・2  
 (74) 代理人 100108453  
 弁理士 村山 靖彦  
 (74) 代理人 100110364  
 弁理士 実広 信哉  
 (74) 代理人 100133400  
 弁理士 阿部 達彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗CD38抗体及び弱毒化インターフェロンアルファ-2Bとの融合物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

CD38に特異的に結合し、配列番号156のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域及び配列番号185のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗体と、弱毒化されたヒトインターフェロンアルファ-2bを含む、抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物。

【請求項 2】

抗体がヒトIgG1重鎖定常領域を含む、請求項1に記載の構築物。

【請求項 3】

抗体がヒトIgG4重鎖定常領域を含む、請求項1に記載の構築物。

【請求項 4】

ヒトIgG4重鎖定常領域が、EU番号付けシステムによる228位にプロリンを含む、請求項3に記載の構築物。

【請求項 5】

ヒトIgG4重鎖定常領域が、EU番号付けシステムによる定常領域の252位にチロシン、254位にトレオニン、及び256位にグルタミン酸を含む、請求項3又は4に記載の構築物。

【請求項 6】

弱毒化されたヒトインターフェロンアルファ2bが、配列番号648のアミノ酸配列と比較して、145位にアラニンからアスパラギン酸への置換を含む、請求項1から5のいずれか一項に記載の構築物。

【請求項 7】

10

20

弱毒化されたヒトインターフェロンアルファ2bが、配列番号647、配列番号649、配列番号650、又は配列番号651のアミノ酸配列を含む、請求項1から5のいずれか一項に記載の構築物。

【請求項 8】

抗体がヒト化抗体である、請求項1から7のいずれか一項に記載の構築物。

【請求項 9】

請求項1から8のいずれか一項に記載の構築物と、薬学的に許容される担体とを含む組成物。

【請求項 10】

B細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、非ホジキンリンパ腫、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病又は急性骨髄性白血病の処置のための、請求項1から8のいずれか一項に記載の構築物、又は請求項9に記載の組成物。

【請求項 11】

CD38とヒトインターフェロンアルファ-2bの受容体とを表面に発現する腫瘍細胞を含む腫瘍を処置する医薬を製造するための、請求項1から8のいずれか一項に記載の構築物の使用。

【請求項 12】

CD38に特異的に結合する抗体であって、配列番号665の重鎖CDR1、CDR2、及びCDR3、並びに、配列番号666の軽鎖CDR1、CDR2、及びCDR3を含む抗体と、弱毒化されたヒトインターフェロンアルファ-2bを含む、抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物。

【請求項 13】

重鎖CDR1は、配列番号514のアミノ酸配列を含み、重鎖CDR2は、配列番号516のアミノ酸配列を含み、重鎖CDR3は、配列番号518のアミノ酸配列を含み、軽鎖CDR1は、配列番号608のアミノ酸配列を含み、軽鎖CDR2は、配列番号591のアミノ酸配列を含み、軽鎖CDR3は、配列番号612のアミノ酸配列を含む、請求項12に記載の抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物。

【請求項 14】

重鎖可変領域は、配列番号156のアミノ酸配列と少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号185のアミノ酸配列と少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、重鎖可変領域又は軽鎖可変領域における、すべてのアミノ酸置換は、CDRの外に存在する、請求項12又は13に記載の抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物。

【請求項 15】

抗体がヒトIgG1重鎖定常領域を含む、請求項12から14のいずれか一項に記載の構築物。

【請求項 16】

抗体がヒトIgG4重鎖定常領域を含む、請求項12から14のいずれか一項に記載の構築物。

【請求項 17】

ヒトIgG4重鎖定常領域が、EU番号付けシステムによる228位にプロリンを含む、請求項16に記載の構築物。

【請求項 18】

ヒトIgG4重鎖定常領域が、EU番号付けシステムによる定常領域の252位にチロシン、254位にトレオニン、及び256位にグルタミン酸を含む、請求項16又は17に記載の構築物。

【請求項 19】

弱毒化されたヒトインターフェロンアルファ2bが、配列番号648のアミノ酸配列と比較して、145位にアラニンからアスパラギン酸への置換を含む、請求項12から18のいずれか一項に記載の構築物。

【請求項 20】

弱毒化されたヒトインターフェロンアルファ2bが、配列番号647、配列番号649、配列番号650、又は配列番号651のアミノ酸配列を含む、請求項12から18のいずれか一項に記載の

10

20

30

40

50

構築物。

【請求項 2 1】

抗体がヒト化抗体である、請求項12から20のいずれか一項に記載の構築物。

【請求項 2 2】

請求項12から21のいずれか一項に記載の構築物と、薬学的に許容される担体とを含む組成物。

【請求項 2 3】

B細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、非ホジキンリンパ腫、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病又は急性骨髄性白血病の処置のための、請求項12から20のいずれか一項に記載の構築物、又は請求項22に記載の組成物。

【請求項 2 4】

CD38とヒトインターフェロンアルファ-2bの受容体とを表面に発現する腫瘍細胞を含む腫瘍を処置するための医薬を製造するための、請求項12から20のいずれか一項に記載の構築物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表の参照

本出願は、462,000バイトのサイズを有する、2013年4月29日に作成された、Anti-CD38\_Antibodies\_ST25という名称のテキストファイルとして電子出願された配列表を含む。配列表は参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

本開示は一般に、抗体工学の分野に関する。より詳細には、本開示は、CD38に特異的に結合する抗体、並びにそのような抗体と、弱毒化されたインターフェロン-アルファリガンドとを含む構築物、及びこれらの構築物を使用する処置方法に関する。これらの構築物中、抗体は、CD38と、リガンドの受容体との両方を発現する細胞にリガンドを指向させ、弱毒化されたインターフェロン-アルファは、CD38を発現しない細胞中でのインターフェロンシグナリングを減少させる。

【背景技術】

【0003】

特許、公開された出願、技術論文、学術論文、及び遺伝子又はタンパク質受託番号を含む、様々な刊行物が、本明細書を通して引用される。これらの材料はそれぞれ、その全体があらゆる目的で参照により本明細書に組み込まれる。

【0004】

CD38は、46kDaのII型膜貫通糖タンパク質である。それは20アミノ酸の短いN末端細胞質尾部、1回膜貫通らせん及び256アミノ酸の長い細胞外ドメインを有する。それは、CD4及びCD8陽性T細胞、B細胞、NK細胞、単球、形質細胞などの多くの免疫細胞の表面で、並びに有意な割合の正常骨髄前駆細胞上で発現される。いくつかの例においては、リンパ球中でのCD38の発現は、細胞の分化及び活性化状態に依存してもよく、例えば、CD38発現に関して、休止T及びB細胞は陰性であってよいが、未熟及び活性化リンパ球は大部分は陽性であってもよい。CD38 mRNA発現は、脾臓、脳、脾臓及び肝臓などの非造血臓器中で検出されている(Koguma, T. (1994) Biochim. Biophys. Acta 1223:160頁)。

【0005】

CD38は、膜貫通シグナリング及び細胞接着に関与する多機能外酵素である。それはまた、細胞外pHに応じて、 $\text{NAD}^+$ 及び $\text{NADP}^+$ をcADPR、ADPR及びNAADPに変換することができるため、サイクリックADPリボースヒドロラーゼとしても知られる。これらの生成物は、細胞内部での $\text{Ca}^{2+}$ 移動を誘導し、チロシンリン酸化及び細胞の活性化をもたらすことができる。CD38はまた、リガンドであるCD31と相互作用することができる受容体でもある。CD31を介する受容体の活性化は、 $\text{Ca}^{2+}$ 移動、細胞活性化、増殖、分化及び移住などの細胞内事象をもたらす。

## 【0006】

CD38は、多発性骨髄腫細胞、多くの場合、T系及びB系細胞急性リンパ芽球性白血病、いくつかの急性骨髄球性白血病、濾胞中心細胞リンパ腫並びにTリンパ芽球性リンパ腫で高レベルに発現される。CD38はまた、B系細胞慢性リンパ芽球性白血病(B-CLL)細胞上で発現される。いくつかの場合、CD38+クローンを示すB-CLL患者は、より進行した疾患ステージ、化学療法に対する弱い応答性及びより短い生存期間を示す好ましくない臨床経過を特徴とする。CD38に対する抗体の使用は、CD38を発現するがん及び血液悪性腫瘍の処置のために提唱されている。したがって、望ましい製造特性、安定性特性及び免疫原性特性を有するCD38に対する代替抗体を提供することが有利であり得る。

## 【0007】

10

細胞表面の受容体と相互作用し、それによって、（通常は、前記受容体を担持する細胞の内部のシグナル伝達経路を含む）生物学的応答を刺激する、阻害する、又はそうでなければ調節することによって機能する、多くのペプチド及びポリペプチドリガンドが報告されている。そのようなリガンドの例としては、ペプチド及びポリペプチドホルモン、サイトカイン、ケモカイン、増殖因子、並びにアポトーシス誘導因子が挙げられる。

## 【0008】

そのようなリガンドの生物学的活性のため、その多くは治療剤として潜在的に有用である。例えば、ヒト増殖ホルモン、インスリン、インターフェロン(IFN)-アルファ2b、IFN-アルファ2a、IFN $\beta$ 、エリスロポエチン、G-CSF及びGM-CSFなどの、いくつかのペプチド又はポリペプチドリガンドが、治療生成物として規制当局によって認可されている。

20

## 【0009】

これらのリガンド及び他のリガンドの治療適用における潜在能力が示されているが、それらはヒト患者に投与された場合、毒性をも示し得る。毒性の1つの理由は、これらのリガンドの多くが、所望の治療効果を媒介するもの以外の細胞を含む様々な細胞上の受容体を誘発するということである。リガンドのそのような「オフターゲット(off target)」活性の結果、多くのリガンドが、現在のところ、治療剤としての使用にとって好適ではない。なぜならば、治療効果を媒介する標的細胞に対する最大の、又は最適な治療効果をもたらすために十分に高い用量でリガンドを投与することができないからである。

## 【0010】

例えば、インターフェロン、特に、IFN-アルファがある特定のがん細胞のアポトーシスを増大し、その増殖を低下させることができることは、1980年代中期以来公知であった。IFN-アルファは、メラノーマ、腎細胞癌、B細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、慢性骨髄性白血病(CML)及びヘアリー細胞白血病などのいくつかのがんの処置についてFDAによって認可されている。腫瘍細胞に対するIFN-アルファの直接的な効果は、これらの細胞上のI型IFN受容体に直接結合し、アポトーシス、最終分化又は増殖の減少を刺激するIFN-アルファによって媒介される。非がん細胞に対するIFN-アルファのさらなる間接的な効果は、免疫系を刺激することであり、免疫系に腫瘍を拒絶させることによりさらなる抗がん効果をもたらすことができる。

30

## 【0011】

これらの生物学的活性は、がん細胞の表面のI型インターフェロン受容体によって媒介され、刺激された場合、様々なシグナル伝達経路を開始し、増殖の減少及び/又は最終分化若しくはアポトーシスの誘導をもたらす。しかしながら、I型インターフェロン受容体はまた、多くの非がん性細胞上にも存在する。IFN-アルファによる非がん性細胞上のこの受容体の活性化は、いくつかの前炎症性サイトカイン及びケモカインの発現を引き起こし、毒性及び有害効果をもたらす。そのような毒性は、重篤な感冒様症状を引き起こし、がん細胞に対する最大の抗増殖活性及び前アポトーシス活性を発揮するレベルでの対象へのIFN-アルファの投与を阻害し得る。

40

## 【0012】

IFN-アルファ2bが多発性硬化症を処置するために使用される場合、その有用性は、少なくとも部分的には、骨髄腫細胞上のI型インターフェロン受容体へのその結合にあり、次

50

いで、アポトーシス及び/又は増殖の減少を誘発し、したがって、疾患進行を制限する。しかしながら、不幸なことに、このIFNは体内の健康な細胞にも結合し、様々なその他の細胞性応答を誘発し、そのうちのいくつかは有害なものである。

#### 【0013】

Ozzello(Breast Cancer Research and Treatment 25:265~76頁、1993)による刊行物は、腫瘍標的化抗体にヒトIFN-アルファを化学的にコンジュゲートすることによって、腫瘍増殖速度を低下させる一手段として腫瘍にIFN-アルファの直接的阻害活性を局在化させることを記載し、そのようなコンジュゲートがヒトがんの異種移植モデルにおいて抗腫瘍活性を有することを示した。実験において使用されたヒトIFN-アルファは、間接的な抗がん効果をもたらすことができるマウスI型IFN受容体と感知できるほどに相互作用しなかったため、観察された抗がん活性の機構は、がん細胞に対するIFN-アルファの直接的な効果に起因するものであった。マウス細胞へのヒトIFN-アルファの結合のこの欠如のため、遊離IFN-アルファと比較した抗体-IFN-アルファコンジュゲートの毒性は評価されなかった。

10

#### 【0014】

抗体とIFN-アルファとを、融合タンパク質の形態で一緒に接続することもできる。例えば、W001/97844は、腫瘍抗原CD20に特異的なIgGの重鎖のC末端へのヒトIFN-アルファの直接的融合を記載する。

#### 【0015】

一般に、IFNを、がん細胞に標的化することができる。このアプローチは、がん細胞に対するIFNの活性の増大をもたらし得るが、健康な細胞に対するIFNの望ましくない活性の問題に完全に対処できるわけではない。IgGの重鎖のC末端へのIFN-アルファの融合は、IFNアルファの半減期を延長し、望ましくない有害事象をもたらし得る。したがって、リガンドの「オンターゲット(on-target)」な治療効果を保持しながら、リガンドに基づく薬物のオフターゲットな活性を低下させることが必要である。

20

#### 【先行技術文献】

#### 【特許文献】

#### 【0016】

【特許文献1】 W001/97844

【特許文献2】 米国特許第7,732,578号

【特許文献3】 米国特許第7,083,784号

30

【特許文献4】 米国特許第7,217,797号

【特許文献5】 W000/42072

【特許文献6】 米国特許出願公開第2009/0142340号

【特許文献7】 米国特許出願公開第2009/0068175号

【特許文献8】 米国特許出願公開第2009/0092599号

【特許文献9】 米国特許第6,602,684号

【特許文献10】 米国特許第7,326,681号

【特許文献11】 米国特許第7,388,081号

【特許文献12】 PCT公開番号W008/006554

【特許文献13】 PCT出願番号PCT/AU2012/001323

40

【特許文献14】 米国特許出願公開第2003/0039649号

#### 【非特許文献】

#### 【0017】

【非特許文献1】 Koguma, T. (1994) Biochim. Biophys. Acta 1223:160頁

【非特許文献2】 Ozzello (Breast Cancer Research and Treatment 25:265~76頁、1993)

【非特許文献3】 Ku & Schutz, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 6552~6556頁、1995

【非特許文献4】 Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987及び1991

【非特許文献5】 <http://www.bioinfo.org.uk/mdex.html>

50

- 【非特許文献 6】Edelman, GMら(1969) Proc. Natl. Acad. USA、63、78～85頁  
【非特許文献 7】Chothiaら(1987) J. Mol. Biol. 196:901～17頁  
【非特許文献 8】Chothiaら(1989) Nature 342:877～83頁  
【非特許文献 9】Al-Lazikaniら(1997) J. Mol. Biol. 273:927～48頁  
【非特許文献 10】Honnegherら(2001) J. Mol. Biol., 309:657～70頁  
【非特許文献 11】Giudicelliら(1997) Nucleic Acids Res. 25:206～11頁  
【非特許文献 12】Padlanら(1995) FASEB J. 9:133～139頁  
【非特許文献 13】Shinkawa T.ら(2003) J. Biol. Chem. 278: 3466～73頁  
【非特許文献 14】Labrinら(2009) Nature Biotechnology 27:8; 767～773頁  
【非特許文献 15】Altschul SF (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389～3402頁  
【非特許文献 16】Hardin J.ら(1994) Blood. 84:3063～70頁  
【非特許文献 17】Gazdar, Blood 67: 1542～1549頁、1986

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0018】

本開示は、新しい抗CD38抗体及び抗CD38抗体と弱毒化IFN-アルファとを含む構築物を特徴とする。重鎖及び/又は軽鎖可変領域中に1つ又は複数の突然変異を含む抗体は、細胞の表面に発現されるCD38を含む、CD38に特異的に結合する能力を保持する。抗体を、例えば、弱毒化された形態のインターフェロンアルファに融合して、抗CD38抗体-弱毒化インターフェロン融合構築物を形成することができる。

20

【課題を解決するための手段】

【0019】

いくつかの態様において、CD38に特異的に結合する単離された抗体は、配列番号559のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号664のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。いくつかの態様において、CD38に特異的に結合する単離された抗体は、配列番号665のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号666のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。いくつかの態様において、CD38に特異的に結合する単離された抗体は、配列番号739のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号664のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。配列番号559の重鎖可変領域アミノ酸配列は、配列番号13のアミノ酸配列を含まない。配列番号664の軽鎖可変領域アミノ酸配列は、配列番号14のアミノ酸配列を含まない。いくつかの態様において、CD38に特異的に結合する単離された抗体は、配列番号200、配列番号514又は配列番号697のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、配列番号202、配列番号516、配列番号544、配列番号698又は配列番号737のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、及び配列番号204、配列番号222、配列番号518、配列番号534、配列番号535、配列番号536、配列番号699又は配列番号738のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3を含み、配列番号233、配列番号319、配列番号583、配列番号590又は配列番号696のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、配列番号235、配列番号307、配列番号311、配列番号585、配列番号591又は配列番号605のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2、配列番号237、配列番号321、配列番号324、配列番号587又は配列番号594のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3をさらに含んでもよい。

30

【0020】

好ましい態様において、重鎖可変領域は、配列番号34、配列番号18、配列番号665、配列番号165、配列番号166、配列番号167、配列番号179、配列番号180、配列番号156、配列番号197、配列番号152、配列番号720、配列番号721、配列番号722、配列番号723、配列番号739、配列番号740、配列番号741、配列番号742、配列番号728、配列番号730、配列番号731のアミノ酸配列を含む。好ましい態様において、軽鎖可変領域は、配列番号65、配列番号68、配列番号86、配列番号88、配列番号92、配列番号93、配列番号660、配列番号661、配列番号662、配列番号663、配列番号161、配列番号184、配列番号185、配列番号188、配列番号198又は配列番号700、配列番号701、配列番号704、配列番号705、配列番号706、配列番号707、配列番号708、配列番号709、配列番号710、配列番号711のアミノ酸配列を含む。

40

50

## 【0021】

抗体は、好ましくは、CD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約100nM未満のEC<sub>50</sub>値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約75nM未満のEC<sub>50</sub>値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約50nM未満のEC<sub>50</sub>値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約30nM未満のEC<sub>50</sub>値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約25nM未満のEC<sub>50</sub>値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約20nM未満のEC<sub>50</sub>値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約15nM未満のEC<sub>50</sub>値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約13nM未満のEC<sub>50</sub>値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約10nM未満のEC<sub>50</sub>値でCD38陽性細胞に結合することができる。

## 【0022】

抗体は、モノクローナル抗体であってもよく、好ましくは、完全ヒト抗体である。抗体は、FAbを含んでもよい。抗体は、ヒトIgG1定常領域又はヒトIgG4定常領域を含んでもよい。IgG1又はIgG4定常領域は、EU番号付けシステムによる252位にチロシン、254位にトレオニン、及び256位にグルタミン酸を含んでもよい。IgG4定常領域は、EU番号付けシステムによる228位にプロリンを含んでもよく、228位のプロリンは、252位のチロシンに加えて、254位のトレオニン及び256位のグルタミン酸であってもよい。

## 【0023】

いくつかの態様において、抗体は、弱毒化インターフェロンアルファ-2bに融合している。インターフェロンアルファ-2bは、配列番号649又は配列番号651のアミノ酸配列を有するインターフェロンアルファ-2bなどの、145位のアラニンのグリシン又はアスパラギン酸への置換を含んでもよい。弱毒化インターフェロンアルファ-2bを、IgG1又はIgG4定常領域のC末端に間接的に融合していてもよく、抗体は配列番号9、配列番号10、配列番号652、配列番号653、配列番号654、配列番号655、配列番号656、配列番号657、配列番号658、又は配列番号694のアミノ酸配列を含んでもよい。弱毒化インターフェロンアルファ-2bに融合した抗体などの抗体は、薬学的に許容される担体を含む組成物中に含まれていてもよい。

## 【0024】

抗体及び弱毒化インターフェロンアルファ-2bに融合した抗体をコードする単離されたポリヌクレオチドが提供される。ポリヌクレオチドは、配列番号667、配列番号670、配列番号671、配列番号672、配列番号673、配列番号674、配列番号668、配列番号669、配列番号675、配列番号676、又は配列番号677、配列番号678、配列番号679、配列番号680、配列番号681、配列番号682、配列番号683、配列番号684、配列番号685、配列番号686、配列番号687、配列番号688、配列番号689、配列番号690、配列番号691、配列番号692、配列番号693、配列番号695、配列番号702、配列番号703、配列番号712、配列番号713、配列番号714、配列番号715、配列番号716、配列番号717、配列番号718、配列番号719、配列番号724、配列番号725、配列番号726、配列番号727、配列番号732、配列番号733、配列番号734、配列番号735、配列番号743、配列番号744、配列番号745、配列番号746の核酸配列を含んでもよい。ポリヌクレオチドは、ベクターを含んでもよい。ベクターを使用して、例えば、細胞を形質転換することができる。そのようなポリヌクレオチドを含む形質転換された細胞も提供される。形質転換された細胞は、哺乳動物細胞、酵母細胞、又は昆虫細胞を含んでもよい。

## 【0025】

抗体を発現する安定な細胞も提供される。抗体を発現する細胞は、哺乳動物細胞であってもよい。好ましい細胞は、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞である。

## 【0026】

弱毒化インターフェロンアルファ-2bに融合した抗体を含むキットが提供される。このキットは、抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物と、CD38及びインターフェロンアルファ-2bの受容体を表面に発現する腫瘍細胞の増殖を阻害するための方法において前記構築物を使用するための説明書、CD38及びインターフェロンアルファ-2bの受容体を表面に発現する腫瘍細胞におけるアポトーシスを誘導するための方法において

10

20

30

40

50

前記構築物を使用するための説明書、それを必要とする対象においてCD38とインターフェロナルファ-2bの受容体とを表面に発現する細胞を含む腫瘍を処置するための方法において前記構築物を使用するための説明書とを含み、場合により、薬学的に許容される担体を含む。抗CD38抗体を含むキットが提供され、そのようなキットは、抗CD38抗体と、対象から単離された組織試料中のCD38陽性腫瘍細胞を検出するための方法において前記抗体を使用するための説明書とを含み、前記抗体は場合により、弱毒化インターフェロナルファ-2bタンパク質に融合していてもよい。

【0027】

抗CD38抗体-弱毒化インターフェロナルファ-2b融合構築物を、CD38及びインターフェロナルファ-2bの受容体を表面に発現する細胞を含む腫瘍の処置における療法として使用することができる。一般に、処置方法は、腫瘍を有する対象に、腫瘍を処置するのに有効な量の抗CD38抗体-弱毒化インターフェロナルファ-2b融合構築物を投与する工程を含む。構築物は、本明細書に記載されるか、又は例示される任意の構築物を含んでもよい。対象は、好ましくは哺乳動物、より好ましくは非ヒト霊長類、最も好ましくはヒトである。腫瘍は、B細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、非ホジキンリンパ腫、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病又は急性骨髄性白血病を含んでもよい。

【0028】

場合により、弱毒化インターフェロナルファ-2bタンパク質に融合した抗CD38抗体を、対象から単離された組織試料中のCD38又はCD38陽性腫瘍細胞を検出するための方法において使用することができる。一般に、前記方法は、CD38に特異的に結合する抗体と、対象から単離された組織試料とを接触させる工程、及び組織試料中の抗体とCD38との複合体又はCD38陽性細胞を検出する工程を含む。組織試料は、CD38陽性腫瘍細胞を有することが知られるか、又は有することが疑われるものであってもよい。組織は、血液又は骨髄を含んでもよい。CD38陽性腫瘍細胞は、CD38陽性B細胞リンパ腫、多発性骨髄腫細胞、非ホジキンリンパ腫細胞、慢性骨髄性白血病細胞、慢性リンパ性白血病細胞、又は急性骨髄性白血病細胞であってもよい。対象は、好ましくは哺乳動物、より好ましくは非ヒト霊長類、最も好ましくはヒトである。前記方法は、対象から組織試料を単離する工程を含んでもよい。前記方法は、抗体と、例えば、陰性対照として役立つCD38陽性細胞を含まない組織試料とを接触させる工程をさらに含んでもよい。

【図面の簡単な説明】

【0029】

【図1】抗CD38抗体-弱毒化インターフェロン融合構築物の例を示す図である。

【図2A】X02.1、関連する構築物、及び最も相同な生殖系列抗体配列の重鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図2B】X02.1、関連する構築物、及び最も相同な生殖系列抗体配列の重鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図3A】X02.1、関連する構築物、及び最も相同な生殖系列抗体配列の軽鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図3B】X02.1、関連する構築物、及び最も相同な生殖系列抗体配列の軽鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図4A】A02.1及び関連する構築物の軽鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図4B】A02.1及び関連する構築物の軽鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図4C】A02.1及び関連する構築物の軽鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図4D】A02.1及び関連する構築物の軽鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図5】A02.1及び関連する構築物のコンセンサス可変重鎖配列を示す図である。囲み領域は、Kabatの番号付けシステム及び強化されたChothiaの番号付けシステムにより定義さ

10

20

30

40

50

れるCDR(示される通り)を含有する。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは太字で示される。強化されたChothiaの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図6】A02.1及び関連する構築物のコンセンサス可変軽鎖配列を示す図である。囲み領域は、Kabatの番号付けシステム及び強化されたChothiaの番号付けシステムにより定義されるCDR(示される通り)を含有する。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは太字で示される。強化されたChothiaの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図7A】ヒト化重鎖可変領域の重鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

10

【図7B】ヒト化重鎖可変領域の重鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図7C】ヒト化重鎖可変領域の重鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図8A】ヒト化軽鎖可変領域の重鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図8B】ヒト化軽鎖可変領域の重鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図8C】ヒト化軽鎖可変領域の重鎖可変領域の配列を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

20

【図9A】A10.0及び関連する構築物の可変重鎖を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図9B】A10.0及び関連する構築物の可変重鎖を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図10A】A10.0及び関連する構築物の可変軽鎖を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図10B】A10.0及び関連する構築物の可変軽鎖を示す図である。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図11a】A10.0及び関連する構築物の可変重鎖コンセンサス配列を示す図である。囲み領域は、Kabatの番号付けシステム及び強化されたChothiaの番号付けシステムにより定義されるCDR(示される通り)を含有する。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは太字で示される。強化されたChothiaの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

30

【図11b】A10.0及び関連する構築物の可変重鎖コンセンサス配列を示す図である。囲み領域は、Kabatの番号付けシステム及び強化されたChothiaの番号付けシステムにより定義されるCDR(示される通り)を含有する。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは太字で示される。強化されたChothiaの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

【図12】A10.0及び関連する構築物の可変軽鎖コンセンサス配列を示す図である。囲み領域は、Kabatの番号付けシステム及び強化されたChothiaの番号付けシステムにより定義されるCDR(示される通り)を含有する。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは太字で示される。強化されたChothiaの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

40

【図13】フローサイトメトリーにより測定された、CD38を発現する多発性骨髄腫細胞株ARP-1へのA02.1バリエーションの結合活性を示す図である。アッセイの詳細は、本明細書の実施例に記載される。

【図14】フローサイトメトリーにより測定された、CD38を発現する多発性骨髄腫細胞株NCI-H929へのA02.1バリエーションの結合活性を示す図である。アッセイの詳細は、本明細書の実施例に記載される。

【図15】多発性骨髄腫細胞株ARP-1上でのA02.1バリエーションの抗増殖活性を示す図である

50

。A-アイソタイプは、対照としての弱毒化インターフェロンと融合した無関係の特異性の抗体である。アッセイの詳細は、実施例に記載される(細胞増殖アッセイ)。

【図16】多発性骨髄腫細胞株ARP-1上でのA02.1バリエーションの抗増殖活性を示す図である。A-アイソタイプは、対照としての弱毒化インターフェロンと融合した無関係の特異性の抗体である。アッセイの詳細は、実施例に記載される(細胞増殖アッセイ)。

【図17】多発性骨髄腫細胞株ARP-1上での、A02.1及びA10.0並びにその対応する非融合抗体X02.1及びX10.0と比較したIFN-アルファ2b(イントロンA)の抗増殖活性を示す図である。A-アイソタイプは、対照としての弱毒化インターフェロンと融合した無関係の特異性の抗体である。アッセイの詳細は、実施例に記載される(細胞増殖アッセイ)。

【図18】未処理の対照と比較した、A02.1及びA10.0並びにその対応する非融合抗体X02.1及びX10.0で24時間処理した場合のCD38を発現する多発性骨髄腫細胞株NCI-H929中でのアネキシンV生成の相対倍数変化を示す図である。A-アイソタイプは、対照としての弱毒化インターフェロンと融合した無関係の特異性の抗体である。アッセイの詳細は、実施例に記載される(アネキシンVアッセイ)。

10

【図19】未処理の細胞と比較した、IFN-アルファ2b(イントロンA)対A02.1及び関連する構築物のCD38を発現する多発性骨髄腫細胞株H929中でのカスパーゼ活性化の相対倍数変化を示す図である。アイソタイプ145Dは、対照としての弱毒化インターフェロンと融合した無関係の特異性の抗体である。アッセイの詳細は、実施例に記載される(カスパーゼアッセイ)。

【図20】CD38陰性細胞に対する、IFN-アルファ2b(イントロンA)対A02.6及び野生型IFN-アルファ2bに融合したA02.6[A02.6(wt. IFN)]のオフターゲット活性を示す図である。アッセイの詳細は、実施例に記載される[HEK-BLUE(商標)]。

20

【図21】抗CD38抗体-弱毒化IFN-アルファ融合タンパク質構築物のIgG1サブタイプとIgG4サブタイプとの間の、CD38を発現する多発性骨髄腫細胞株H929中でのアネキシンV生成の相対倍数変化を示す図である。A-アイソタイプは、対照としての弱毒化インターフェロンと融合した非特異的IgG4抗体である。抗体A02.12及びA10.0は弱毒化IFN-アルファに融合したIgG4定常領域を含有するが、A02.112及びA10.59は弱毒化IFN-アルファに融合したIgG1定常領域を含有する。アッセイの詳細は、実施例に記載される(アネキシンV/7AADアッセイ)。

【図22】フローサイトメトリーにより測定された、CD38を発現する多発性骨髄腫細胞株NCI-H929へのA10.0バリエーションの結合活性を示す図である。アッセイの詳細は、本明細書の実施例に記載される。

30

【図23】未処理の細胞と比較したA10.0及びA10.38のCD38を発現する多発性骨髄腫細胞株H929中でのカスパーゼ活性化を示す図である。A-アイソタイプは、対照としての弱毒化IFNに融合した無関係の特異性の抗体である。アッセイの詳細は、実施例に記載される(カスパーゼアッセイ)。

【図24】未処理の細胞と比較したA10.0バリエーションによるCD38を発現する多発性骨髄腫細胞株H929中でのカスパーゼ活性化の相対倍数変化を示す図である。アッセイの詳細は、実施例に記載される(カスパーゼアッセイ)。

【図25】A10.0バリエーションによるCD38を発現する多発性骨髄腫細胞株H929中でのアネキシンVの生成の相対倍数変化を示す図である。アッセイの詳細は、実施例に記載される(アネキシンV/7AADアッセイ)。

40

【図26】バーキットリンパ腫細胞株Daudi上での、A02.6、A10.0、A10.38及び親A10A2.0キメラ抗体構築物と比較したIFN-アルファ2b(イントロンA)の抗増殖活性を示す図である。A-アイソタイプは、対照としての弱毒化IFNに融合した無関係の特異性の抗体である。アッセイの詳細は、実施例に記載される(細胞増殖アッセイ)。

【図27】SCIDマウスにおける皮下H929骨髄腫腫瘍の増殖に対する、ヒト化A10.0対親A10A2.0キメラ抗体-弱毒化インターフェロン構築物の効果を示す図である。「処置期」と標識されたバーは、化合物による処置の期間を示す。

【図28】同じ弱毒化IFN-アルファ2bタンパク質に融合したA10.0バリエーションの非抗体抗

50

原標的化IFN活性を示す図である。アッセイの詳細は、実施例に記載される(「オフターゲットアッセイ」-iLite遺伝子リポーターアッセイ)。

【図29】A10.0バリエーション及び野生型IFN-アルファ2bに融合した親A10A2.0キメラ抗体[A10A2.0キメラ(wt.IFN)]と比較したIFN-アルファ2b(イントロンA)の「オフターゲット」活性を示す図である。アッセイの詳細は、実施例に記載される[「オフターゲットアッセイ」-HEK-BLUE(商標)]。

【図30】X910/12-HC-L0-インターフェロン-アルファ(A145D)及び関連する配列の可変重鎖コンセンサス配列を示す図である。囲み領域は、Kabatの番号付けシステム及び強化されたChothiaの番号付けシステムにより定義されるCDR(示される通り)を含有する。Kabatの番号付けシステムにより定義されるCDRは太字で示される。強化されたChothiaの番号付けシステムにより定義されるCDRは下線付きである。

10

【発明を実施するための形態】

【0030】

本開示の態様に関する様々な用語が本明細書及び特許請求の範囲を通して用いられる。そのような用語は、別途指摘しない限り、当業界におけるその通常の意味を与えられるべきである。その他の特に定義される用語は、本明細書に提供される定義と一致する様式で解釈されるべきである。

【0031】

対象及び患者という用語は、互換的に用いられ、任意の動物を含む。コンパニオン哺乳動物及び家畜哺乳動物、並びにマウス、ウサギ、及びラットなどのげっ歯類、及びその他のげっ歯類を含む、哺乳動物が好ましい。カンクイザルなどの非ヒト霊長類がより好ましく、ヒトが非常に好ましい。

20

【0032】

抗体などの分子は、それがヒトの手によりその天然の環境から変化した、及び/又は取り出された場合、「単離」されている。

【0033】

本明細書で用いられる場合、単数形「a」、「an」及び「the」は、別途明確に記述されない限り、複数の指示対象を含む。

【0034】

抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物は、限定されるものではないが、配列番号647、配列番号648、配列番号649、配列番号650、又は配列番号651のインターフェロンアルファ-2bを含む、弱毒化インターフェロンアルファ-2bタンパク質に融合したCD38に特異的に結合する、本明細書に記載されるか、又は例示される任意の抗体を含む。いくつかの態様において、抗CD38抗体への、配列番号7などの非突然変異インターフェロンアルファ-2bタンパク質の融合は、インターフェロン分子の生物活性を弱める。本開示において、弱毒化インターフェロン、弱毒化インターフェロンアルファ-2b、IFN-アルファ2b A145D、及びIFN-アルファ2b A145Gは、互換的に用いられる。

30

【0035】

特異性は絶対的な意味である必要はないが、抗原陰性細胞と比較して抗原陽性細胞に対する抗体-IFN-アルファ融合タンパク質構築物の選択性の程度を示す相対的用語であってもよい。抗原陽性細胞に対する抗体-IFN-アルファ融合タンパク質構築物の特異性は、抗体の可変領域によって、通常は、抗体の相補性決定領域(CDR)によって媒介される。構築物は、抗原陰性細胞と比較して抗原陽性細胞に対する100倍の特異性を有してもよい。

40

【0036】

ヒトCD38は、配列番号1のアミノ酸配列を含み、カンクイザルCD38は、配列番号2のアミノ酸配列を含む。

【0037】

インターフェロン-アルファ2bを、そのタンパク質配列中にある特定のアミノ酸変化を導入することによって、細胞表面のインターフェロン受容体に結合するインターフェロンを介して媒介されるその生物活性に関して弱毒化することができることがさらに観察され

50

た。抗体が、弱毒化インターフェロン分子により引き起こされるオフターゲットインターフェロン活性の減少が得られるCD38陽性細胞への弱毒化インターフェロンのための送達媒体として役立ち得るように、弱毒化インターフェロン分子を、CD38に特異的に結合する抗体に融合することができる。CD38抗体への弱毒化インターフェロンの融合は、動物の体内の細胞などのCD38を発現する細胞上のCD38に特異的に結合する抗体の能力に有意に影響しないことがさらに観察された。CD38抗体のバリエーションを、抗体が、CD38抗原への抗体の特異性又は親和性を有意に喪失することなく、低下した免疫原性並びに増強された安定性及び半減期を有するように操作する、及び発現させることができる。これらのバリエーション抗体を、弱毒化インターフェロンに融合することができる。

#### 【0038】

したがって、CD38に特異的に結合する抗体を特徴とする。また、そのような抗CD38抗体を、インターフェロンアルファなどの弱毒化リガンドのための送達媒体として使用することができることも観察された。いかなる特定の理論又は作用機序にも限定されることを意図するものではないが、抗体は、それらがCD38陽性細胞に結合するようにインターフェロンアルファに指令し、インターフェロンはその受容体と相互作用することができると考えられる。送達媒体としての抗体は、インターフェロン分子がその受容体に結合する減少した能力を相殺すると考えられる。この意味において、弱毒化インターフェロンは、健康な細胞、特に、CD38を発現しない細胞上のその受容体と相互作用する能力が低下している。弱毒化インターフェロンを、CD38陽性細胞上のその受容体の近くに持って行くことにより、抗体は、CD38を発現しない健康な細胞に対する望ましくない効果を誘導する能力の減少を示しながら、その関連する受容体に結合する弱毒化インターフェロンの能力を増強し、治療効果を誘導することができると考えられる。

#### 【0039】

抗体は、ポリクローナルであってよいが、いくつかの態様においては、ポリクローナルではない。抗体は、好ましくはモノクローナルである。抗体は、好ましくは完全長抗体である。完全長抗体は、一般に、可変領域重鎖と可変領域軽鎖とを含む。抗体は、抗原結合特異性を保持し、また、好ましくは親抗体分子(例えば、CD38について)の親和性の多く又は全部を保持する、抗体の誘導体又は断片又は部分を含んでもよい。例えば、誘導体は、少なくとも1つの可変領域(重鎖又は軽鎖可変領域のいずれか)を含んでもよい。好適な抗体誘導体及び断片の他の例としては、限定されるものではないが、多エピトープ特異性を有する抗体、二特異的抗体、多特異的抗体、ダイアボディ、一本鎖分子、並びにFab、F(Ab')<sub>2</sub>、Fd、Fabc、及びFv分子、一本鎖(Sc)抗体、一本鎖Fv抗体(scFv)、個々の抗体軽鎖、個々の抗体重鎖、抗体鎖と他の分子との融合物、重鎖単量体又は二量体、軽鎖単量体又は二量体、1つの重鎖と1つの軽鎖とからなる二量体、並びに他の多量体が挙げられる。一本鎖Fv抗体は、多価であってもよい。あらゆる抗体アイソタイプを使用して、抗体誘導体、断片、及び部分を生成することができる。抗体誘導体、断片、及び/又は部分を、原核性又は真核性の任意の細胞型により組換え的に生成、発現させることができる。

#### 【0040】

いくつかの実施形態においては、単離された抗体は、IFN-アルファ、又は弱毒化IFN-アルファが重鎖IgG定常領域のC末端に融合したモノクローナル抗体を指してもよい。モノクローナル抗体がCD38に対する結合特異性を有し、IFN-アルファが弱毒化IFN-アルファ2bである場合、単離された抗体は、本明細書では抗CD38抗体-弱毒化IFN-アルファ融合タンパク質、又は抗CD38抗体-弱毒化IFN-アルファ融合構築物とも呼ばれる。

#### 【0041】

完全長抗体において、それぞれの重鎖は、重鎖可変領域(本明細書ではHCVR又はVHと省略される)と、重鎖定常領域とを含む。重鎖定常領域は、3つのドメイン、CH1、CH2及びCH3を含む。それぞれの軽鎖は、軽鎖可変領域(本明細書ではLCVR又はVLと省略される)と、軽鎖定常領域とを含む。軽鎖定常領域は、1つのドメイン、CLを含む。VH及びVL領域は、フレームワーク領域(FWR又はFR)と呼ばれる、より保存された領域が散在する、相補性決定領域(CDR)と呼ばれる超可変領域にさらに細分することができる。それぞれのVH及びVL

は、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって以下の順序:FWR1、CDR1、FWR2、CDR2、FWR3、CDR3、FWR4で配置された、3つのCDRと4つのFWRとを含む。典型的には、抗体の抗原結合特性は、CDR配列に対する変化によるよりもFWR配列に対する変化によって乱される可能性は低い。免疫グロブリン分子は、任意の型(例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及びIgY)、クラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2)又はサブクラスのものであってもよい。

#### 【0042】

抗体は、任意の種から誘導されたものであってもよい。例えば、抗体は、マウス、ラット、ヤギ、ウマ、ブタ、ウシ、ラクダ、ニワトリ、ウサギ、ロバ、ラマ、ヒトコブラクダ、サメ、又はヒト抗体、並びにその他の任意の動物種に由来する抗体であってもよい。ヒトの処置における使用のために、キメラ化又はヒト化又はスーパーヒト化などにより、ヒト患者への投与時に抗原性が低くなるように非ヒト由来抗体を構造的に変化させることができる。

10

#### 【0043】

いくつかの態様においては、抗体はヒト化抗体である。ヒト化抗体は、抗原結合に直接関与するアミノ酸、例えば、重鎖及び/又は軽鎖の、相補性決定領域(CDR)、いくつかの場合、フレームワーク領域(FWR)、又はその部分がヒト起源のものではないが、抗体中の残りのアミノ酸がヒトであるか、又はそうでなければヒト起源のもの、例えば、ヒト抗体足場であるものである。ヒト化抗体はまた、ヒトタンパク質の1つ若しくは複数の残基が1つ若しくは複数のアミノ酸置換により改変された、及び/又はヒトタンパク質の1つ若しくは複数のFWR残基が対応する非ヒト残基により置き換えられた抗体も含む。ヒト化抗体はまた、ヒト抗体中にも、又は非ヒト抗体中にも見出されない残基を含んでもよい。ヒト化抗体は、例えば、米国特許第7,732,578号に記載のようなスーパーヒト化抗体であってもよい。抗体は、ヒト化キメラ抗体であってもよい。

20

#### 【0044】

非常に好ましい態様において、抗体は、完全ヒト抗体である。完全ヒト抗体は、全分子がヒトであるか、若しくはそうでなければヒト起源のものであるか、又はヒト型の抗体と同一のアミノ酸配列を含む。完全ヒト抗体は、例えば、抗体の可変領域をコードするヒト遺伝子が組換え発現される、ヒトV遺伝子ライブラリーから得られるものを含む。完全ヒト抗体を、他の生物(例えば、マウス及びゼノマウス技術)又はヒト抗体をコードする遺伝子を形質転換された他の生物に由来する細胞中で発現させることができる。それにも拘らず、完全ヒト抗体は、ヒト配列によりコードされないアミノ酸残基、例えば、無作為又は部位特異的突然変異により導入された突然変異を含んでもよい。

30

#### 【0045】

抗体は、任意のクラス、例えば、IgG1、IgG2又はIgG4の完全長抗体であってもよい。そのような抗体の定常ドメインは、好ましくはヒトである。そのような抗体の可変領域は、非ヒト起源のものであってもよいが、又は好ましくは、ヒト起源であるか、若しくはヒト化される。抗体断片を、完全長抗体の代わりに使用することもできる。

#### 【0046】

抗体は、ミニボディであってもよい。ミニボディは、一本鎖中に全抗体の必須エレメントをコードする、小型の全抗体を含む。例えば、ミニボディは、免疫グロブリン分子のヒンジ領域及びCH3ドメインに融合した天然抗体のVH及びVLドメインを含んでもよい。

40

#### 【0047】

いくつかの態様において、抗体は、非免疫グロブリン由来タンパク質フレームワークを含んでもよい。例えば、抗原結合のために選択された、CDRを作出するために無作為化された2つのループを有する4ヘリックスバンドルタンパク質シトクロムb562を記載する、(Ku & Schutz, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 6552~6556頁、1995)を参照することができる。

#### 【0048】

天然配列変異が重鎖及び軽鎖並びにそれらをコードする遺伝子内に存在してもよく、し

50

たがって、当業者であれば、本明細書に記載及び例示される抗体のアミノ酸配列、又はそれらをコードする遺伝子内にいくらかのレベルの変異を見出すことを予想できる。これらのバリエーションは、好ましくは、親抗体のユニークな結合特性(例えば、特異性及び親和性)を維持する。そのような予想は、一部は、遺伝子コードの縮重性に起因する、並びにコードされたタンパク質の性質を感知できるほどに変化させない、保存的アミノ酸配列変異の公知の進化的成功に起因する。したがって、そのようなバリエーション及び相同体は、互いに実質的に同じであると考えられ、本開示の範囲内に含まれる。かくして、抗体は、親抗体の生物学的特性(例えば、結合特異性及び結合親和性)を保持する、1つ又は複数のアミノ酸置換、欠失、付加、又は置き換えを有するバリエーションを含む。バリエーションは、好ましくは、保存的であるが、非保存的であってもよい。

10

#### 【0049】

CDR及びFWRに割り当てられるアミノ酸位置は、Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987及び1991(本明細書ではKabatの番号付けシステムとも呼ばれる)に従って定義することができる。さらに、CDR及びFWRに割り当てられるアミノ酸位置は、強化されたChothiaの番号付けスキーム(<http://www.bioinfo.org.uk/mdex.html>)に従って定義することができる。抗体の重鎖定常領域を、EU番号付けシステム(Edelman, GMら(1969) Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78~85頁)により定義することができる。

#### 【0050】

Kabatの番号付けシステムに従って、VH FWR及びCDRを、以下:残基1~30(FWR1)、31~35(CDR1)、36~49(FWR2)、50~65(CDR2)、66~94(FWR3)、95~102(CDR3)及び103~113(FWR4)のように位置付けることができ、VL FWR及びCDRは以下:残基1~23(FWR1)、24~34(CDR1)、35~49(FWR2)、50~56(CDR2)、57~88(FWR3)、89~97(CDR3)及び98~107(FWR4)のように位置付けられる。いくつかの例では、可変領域は長さを増加させてもよく、Kabatの番号付けシステムに従って、いくつかのアミノ酸を、数字の後に文字で指定することができる。本明細書は、Kabatの番号付けシステムにより定義されるFWR及びCDRに限定されないが、Chothiaら(1987) J. Mol. Biol. 196:901~17頁; Chothiaら(1989) Nature 342:877~83頁;及び/若しくはAl-Lazikaniら(1997) J. Mol. Biol. 273:927~48頁の標準番号付けシステム; Honnegerら(2001) J. Mol. Biol., 309:657~70頁の番号付けシステム;又は Giudicelliら(1997) Nucleic Acids Res. 25:206~11頁に考察されたIMGTシステムなどの、あらゆる番号付けシステムを含む。いくつかの態様においては、CDRは、Kabatの番号付けシステムに従って定義される。

20

30

#### 【0051】

いくつかの特定の態様においては、Kabatの番号付けシステムによる、本明細書に記載の重鎖CDR2サブドメインのいずれかについて、5つのC末端アミノ酸が、抗原結合に直接関与しなくてもよく、したがって、これらの5つのC末端アミノ酸の任意の1つ又は複数を、抗原結合に実質的に有害に影響することなく、別の天然アミノ酸と置換することができることが理解される。いくつかの態様においては、Kabatの番号付けシステムによる、本明細書に記載の軽鎖CDR1サブドメインのいずれかについて、4つのN末端アミノ酸が、抗原結合に直接関与しなくてもよく、したがって、これらの4つのアミノ酸の任意の1つ又は複数を、抗原結合に実質的に有害に影響することなく、別の天然アミノ酸と置換することができることが理解される。例えば、Padlanら(1995) FASEB J. 9:133~139頁により記載されたように、重鎖CDR2の5つのC末端アミノ酸及び/又は軽鎖CDR1の4つのN末端アミノ酸が、抗原結合に関与しなくてもよい。いくつかの態様において、重鎖CDR2と軽鎖CDR1の両方が、抗原結合に直接関与しない。

40

#### 【0052】

いくつかの態様において、アミノ酸の化学的類似体を、本明細書に記載及び/又は例示される抗体において使用することができる。アミノ酸の化学的類似体の使用は、例えば、対象に投与する必要がある場合などの、分子を安定化させるのに有用である。本明細書で企図されるアミノ酸の類似体は、限定されるものではないが、側鎖の改変、ペプチド、ポ

50

リペプチド又はタンパク質合成中の非天然アミノ酸及び/又はその誘導体の組込み並びに架橋剤及びタンパク質性分子又はその類似体に対してコンフォメーション制約を課する他の方法の使用を含む。

#### 【0053】

抗体は、抗体の活性又は安定性に影響し得る、翻訳後改変又は部分を含んでもよい。これらの改変又は部分としては、限定されるものではないが、メチル化、アセチル化、グリコシル化、硫酸化、リン酸化、カルボキシル化、及びアミド化部分並びに当業界で周知である他の部分が挙げられる。部分は、天然の、又はそうでなければ原核及び真核発現系などの組換え発現系により抗体に付加された、免疫グロブリン分子上に一般的に見出される任意の化学基又は基の組合せを含む。

10

#### 【0054】

本開示により企図される側鎖改変の例としては、アルデヒドとの反応、次いで、 $\text{NaBH}_4$ による還元による還元的アルキル化;メチルアセトイミデートによるアミド化;無水酢酸によるアシル化;シアネートによるアミノ基のカルバモイル化;2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸(TNBS)によるアミノ基のトリニトロベンジル化;無水コハク酸及び無水テトラヒドロフタル酸によるアミノ基のアシル化;並びにピリドキサル-5-リン酸によるリシンのピリドキシル化、次いで、 $\text{NaBH}_4$ による還元などのアミノ基の改変が挙げられる。

#### 【0055】

アルギニン残基のグアニジン基を、2,3-ブタンジオン、フェニルグリオキサル及びグリオキサルなどの試薬による複素環縮合生成物の形成により改変することができる。

20

#### 【0056】

カルボキシル基を、O-アシルイソウレア形成、次いで、例えば、対応するアミドへのその後の誘導体化によるカルボジイミド活性化により改変することができる。

#### 【0057】

スルフヒドリル基を、ヨード酢酸又はヨードアセトアミドによるカルボキシメチル化;システイン酸への過ギ酸酸化;他のチオール化合物による混合ジスルフィドの形成;マレイミド、無水マレイン酸又は他の置換マレイミドとの反応;4-クロロメルクリ安息香酸、4-クロロメルクリフェニルスルホン酸、塩化フェニル水銀、2-クロロメルクリ-4-ニトロフェノール及び他の水銀剤による水銀誘導体の形成;アルカリ性pHでのシアネートによるカルバモイル化などの方法により改変することができる。

30

#### 【0058】

トリプトファン残基を、例えば、N-ブロモスクシンイミドによる酸化又は2-ヒドロキシ-5-ニトロベンジルブロミド若しくはハロゲン化スルフェニルによるインドール環のアルキル化により改変することができる。他方、チロシン残基を、テトラニトロメタンによるニトロ化により変化させて、3-ニトロチロシン誘導体を形成させることができる。

#### 【0059】

ヒスチジン残基のイミダゾール環の改変を、ヨード酢酸誘導体によるアルキル化又はジエチルピロカルボネートによるN-カルベトキシル化により達成することができる。

#### 【0060】

架橋剤、例えば、 $n=1$ から $n=6$ の $(\text{CH}_2)_n$ スペーサー基を有する二官能性イミドエステル、グルタルアルデヒド、N-ヒドロキシスクシンイミドエステルなどのホモ二官能性架橋剤並びに通常はN-ヒドロキシスクシンイミドなどのアミノ反応性部分及びマレイミド若しくはジチオ部分(SH)若しくはカルボジイミド(COOH)などの別の基に特異的な反応性部分を含有するヘテロ二官能性試薬を使用して、抗体及び構築物の3Dコンフォメーションを安定化することができる。

40

#### 【0061】

抗体は、親和性成熟されていてもよく、又は例えば、予測されるMHCクラスII結合モチーフを除去することにより、免疫原性を低下させるアミノ酸変化を含んでもよい。本明細書に記載の抗体の治療有用性を、抗体依存的細胞媒介性細胞傷害(ADCC)、補体依存的細胞傷害(CDC)、血清半減期、生体分布及びFc受容体への結合又はこれらのいずれかの組合せ

50

などの、その機能的特徴を調節することによってさらに増強することができる。この調節を、タンパク質工学、糖鎖工学又は化学的方法により達成することができる。必要とされる治療適用に応じて、これらの活性のいずれかを増加又は減少させることが有利であり得る。糖鎖工学の例は、Shinkawa T.ら(2003) J. Biol. Chem. 278: 3466~73頁に記載のPo-telligent(登録商標)法を使用した。

#### 【0062】

抗体は、異化からIgGを保護し、高い血清抗体濃度を維持するのに重要な役割を有する受容体である新生児Fc受容体(FcRn)との抗体の相互作用を調節する改変などの、その血清半減期及び生体分布を調節する改変を含んでもよい。血清半減期を調節する改変は、米国特許第7,083,784号に記載のような、M252Y/S254T/T256E[EU番号付けシステム(Edelman, G.M.ら(1969) Proc. Natl. Acad. USA 63, 78~85頁)による番号付け]の三重の置換(例えば、配列番号656、配列番号657、配列番号658、配列番号694)などのIgG1又はIgG4のFc領域中に存在してもよい。他の置換は、250位及び428位(例えば、米国特許第7,217,797号を参照されたい)、並びに307位、380位及び434位(例えば、W000/42072を参照されたい)に存在してもよい。Fc受容体への結合並びにFcRn結合及び血清半減期などの、これらの受容体により媒介されるその後の機能を調節する定常ドメインアミノ酸置換の例は、米国特許出願公開第2009/0142340号、第2009/0068175号、及び第2009/0092599号に記載されている。ネイキッド抗体は、異種性を減少させるために重鎖C末端リシンが省略又は除去されていてもよい。ヒトIgG4中でのS228P(EU番号付け)の置換は、in vivoで抗体Fabアーム交換を安定化することができる(Labrinら(2009) Nature Biotechnology 27:8; 767~773頁)。

#### 【0063】

抗体分子に連結されたグリカンは、抗体と、Fc受容体及びグリカン受容体との相互作用に影響し、それによって、血清半減期などの抗体活性に影響することが知られている。したがって、所望の抗体活性を調節するある特定の糖型は、治療的利点を提供することができる。操作された糖型を作成するための方法としては、限定されるものではないが、米国特許第6,602,684号、第7,326,681号、及び第7,388,081号並びにPCT公開番号W008/006554に記載のものが挙げられる。あるいは、抗体配列を改変して、関連する糖型結合部位を除去することができる。

#### 【0064】

抗体を標識するか、又は任意の化学的若しくは生物学的分子部分にコンジュゲートすることができる。標識された抗体は、治療、診断、又は基礎研究適用において有用であり得る。蛍光色素、放射性標識、酵素、蛍光タンパク質、及びビオチンなどの、そのような標識/コンジュゲートは、検出可能であってもよい。標識/コンジュゲートは、化学療法剤、毒素、アイソトープ、及びがん細胞の殺傷などの状態を処置するために使用される他の薬剤であってもよい。化学療法剤は、抗体が使用される目的にとって好適である任意のものであってもよい。

#### 【0065】

タンパク質切断を防止するか、又は活性若しくは安定性を増強するために公知の保護基/遮断基によって抗体を誘導体化することができる。

#### 【0066】

抗体は、好ましくは、約 $1 \times 10^{-2}$ M未満の解離定数(Kd)を含むCD38上のエピトープに対する結合親和性を有する。いくつかの実施形態においては、Kdは約 $1 \times 10^{-3}$ M未満である。他の実施形態においては、Kdは約 $1 \times 10^{-4}$ M未満である。いくつかの実施形態においては、Kdは約 $1 \times 10^{-5}$ M未満である。さらに他の実施形態においては、Kdは約 $1 \times 10^{-6}$ M未満である。他の実施形態においては、Kdは約 $1 \times 10^{-7}$ M未満である。他の実施形態においては、Kdは約 $1 \times 10^{-8}$ M未満である。他の実施形態においては、Kdは約 $1 \times 10^{-9}$ M未満である。他の実施形態においては、Kdは約 $1 \times 10^{-10}$ M未満である。さらに他の実施形態においては、Kdは約 $1 \times 10^{-11}$ M未満である。いくつかの実施形態においては、Kdは約 $1 \times 10^{-12}$ M未満である。他の実施形態においては、Kdは約 $1 \times 10^{-13}$ M未満である。他の実施形態においては、Kdは約 $1 \times 10^{-14}$ M未満である。さらに他の実施形態においては、Kdは約 $1 \times 10^{-15}$ M未満である。親和

性の値は、Biacore(商標)分析又はOctet(登録商標)Red 96(Forte Bio社)Dip-and-Readシステムを用いる分析などの表面プラズモン共鳴を含む標準的な方法によって取得されるものを指す。

#### 【0067】

抗体は、一本鎖Fv分子(scFv)、Fab、又は完全長IgGを含んでもよい。任意のそのような抗体は、配列番号659のアミノ酸配列又はそのバリエーションを含む重鎖が配列番号13のアミノ酸配列を含まないという条件で、配列番号659又は配列番号665又は配列番号736のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、又は少なくとも約100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖を含んでもよい。重鎖中にアミノ酸変化を含む抗体は、CD38に特異的に結合する能力を保持することが理解される。保持されたCD38特異的結合活性(親和性を含む)は、好ましくは、重鎖中にアミノ酸変化を含まない抗体の結合活性(親和性を含む)とほぼ同じであるが、その結合活性(親和性を含む)は重鎖中にアミノ酸変化を含まない抗体よりも低いか、又は高いものであってもよい。抗体は、配列番号664のアミノ酸配列又はそのバリエーションを含む軽鎖が配列番号14のアミノ酸配列を含まないという条件で、配列番号664又は配列番号666のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、又は少なくとも約100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖を含んでもよい。軽鎖中にアミノ酸変化を含む抗体は、CD38に特異的に結合する能力を保持することが理解される。保持されたCD38特異的結合活性(親和性を含む)は、好ましくは、軽鎖中にアミノ酸変化を含まない抗体の結合活性(親和性を含む)とほぼ同じであるが、その結合活性(親和性を含む)は軽鎖中にアミノ酸変化を含まない抗体よりも低いか、又は高いものであってもよい。

#### 【0068】

いくつかの態様において、重鎖FWR1は、配列番号199、配列番号206、配列番号214、配列番号215、配列番号217、配列番号219、配列番号389、配列番号396、配列番号400、配列番号404、配列番号408、配列番号412、配列番号416、配列番号420、配列番号424、配列番号428、配列番号432、配列番号466、配列番号470、配列番号472、配列番号474、配列番号476、配列番号478、配列番号480、配列番号482、配列番号486、配列番号488、配列番号513、配列番号537、配列番号542、配列番号547、配列番号552、配列番号557、配列番号562、配列番号567、配列番号572、配列番号577又は配列番号748のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、重鎖FWR1は、配列番号199、配列番号214、配列番号215、配列番号217、配列番号219、配列番号389、配列番号396、配列番号400、配列番号404、配列番号408、配列番号412、配列番号416、配列番号420、配列番号424、配列番号428、配列番号432、配列番号466、配列番号470、配列番号472、配列番号474、配列番号476、配列番号478、配列番号480、配列番号482、配列番号486、配列番号488、配列番号513、配列番号537、配列番号542、配列番号547、配列番号552、配列番号557、配列番号562、配列番号567、配列番号572、配列番号577又は配列番号748のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、重鎖FWR2は、配列番号201、配列番号211、配列番号229、配列番号391、配列番号397、配列番号401、配列番号405、配列番号409、配列番号413、配列番号417、配列番号421、配列番号425、配列番号429、配列番号433、配列番号515、配列番号520、配列番号521、配列番号522、配列番号523、配列番号524、配列番号525、配列番号538、配列番号543、配列番号548、配列番号553、配列番号558、配列番号563、配列番号568、配列番号573、配列番号578、配列番号749又は配列番号750のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、重鎖FWR2は、配列番号201、配列番号211、配列番号229、配列番号391、配列番号397、配列番号401、配列番号405、配列番号409、配列番号413、配列番号417、配列番号421、配列番号425、配列番号429、配列番号433、配列番号515、配列番号520、配列番号521、配列番号522、配列番号523、配列番号524、配列

番号525、配列番号538、配列番号543、配列番号548、配列番号553、配列番号558、配列番号563、配列番号568、配列番号573、配列番号578、配列番号749又は配列番号750のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、重鎖FWR3は、配列番号203、配列番号210、配列番号212、配列番号213、配列番号216、配列番号218、配列番号221、配列番号226、配列番号227、配列番号230、配列番号393、配列番号399、配列番号403、配列番号407、配列番号411、配列番号415、配列番号419、配列番号423、配列番号427、配列番号431、配列番号435、配列番号468、配列番号517、配列番号530、配列番号531、配列番号532、配列番号533、配列番号540、配列番号545、配列番号550、配列番号555、配列番号560、配列番号565、配列番号570、配列番号575、配列番号580、配列番号751又は配列番号752のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、重鎖FWR3は、配列番号203、配列番号210、配列番号212、配列番号213、配列番号216、配列番号218、配列番号221、配列番号226、配列番号227、配列番号230、配列番号393、配列番号399、配列番号403、配列番号407、配列番号411、配列番号415、配列番号419、配列番号423、配列番号427、配列番号431、配列番号435、配列番号468、配列番号517、配列番号530、配列番号531、配列番号532、配列番号533、配列番号540、配列番号545、配列番号550、配列番号555、配列番号560、配列番号565、配列番号570、配列番号575、配列番号580、配列番号751又は配列番号752のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、重鎖FWR4は、配列番号205、配列番号395、配列番号519、配列番号541、配列番号546、配列番号551、配列番号556、配列番号561、配列番号566、配列番号571、配列番号576、配列番号581又は配列番号753のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、重鎖FWR4は、配列番号205、配列番号395、配列番号519、配列番号541、配列番号546、配列番号551、配列番号556、配列番号561、配列番号566、配列番号571、配列番号576、配列番号581又は配列番号753のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。重鎖フレームワーク領域(FWR1、FWR2、FWR3、及び/又はFWR4)中にアミノ酸変化を含む抗体は、CD38に特異的に結合する能力を保持することが理解される。保持されたCD38特異的結合活性(親和性を含む)は、好ましくは、任意の重鎖フレームワーク領域中にアミノ酸変化を含まない抗体の結合活性(親和性を含む)とほぼ同じであるが、その結合活性(親和性を含む)は任意の重鎖フレームワーク領域中にアミノ酸変化を含まない抗体よりも低いか、又は高いものであってもよい。

#### 【0069】

いくつかの態様において、重鎖CDR1は、配列番号200、配列番号224、配列番号390、配列番号514、配列番号526、配列番号527、配列番号528、配列番号529、又は配列番号697のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、重鎖CDR1は、配列番号200、配列番号224、配列番号390、配列番号514、配列番号526、配列番号527、配列番号528、配列番号529、又は配列番号697のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、重鎖CDR2は、配列番号202、配列番号392、配列番号398、配列番号402、配列番号406、配列番号410、配列番号414、配列番号418、配列番号422、配列番号426、配列番号430、配列番号434、配列番号467、配列番号471、配列番号473、配列番号475、配列番号477、配列番号479、配列番号481、配列番号483、配列番号485、配列番号487、配列番号489、配列番号516、配列番号539、配列番号544、配列番号549、配列番号554、配列番号559、配列番号564、配列番号569、配列番号574、配列番号579、配列番号698又は配列番号737のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、重鎖CDR2は、配列

10

20

30

40

50

番号202、配列番号392、配列番号398、配列番号402、配列番号406、配列番号410、配列番号414、配列番号418、配列番号422、配列番号426、配列番号430、配列番号434、配列番号467、配列番号471、配列番号473、配列番号475、配列番号477、配列番号479、配列番号481、配列番号483、配列番号485、配列番号487、配列番号489、配列番号516、配列番号539、配列番号544、配列番号549、配列番号554、配列番号559、配列番号564、配列番号569、配列番号574、配列番号579、配列番号698又は配列番号737のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、重鎖CDR3は、配列番号204、配列番号220、配列番号222、配列番号223、配列番号228、配列番号231、配列番号394、配列番号469、配列番号518、配列番号534、配列番号535、配列番号536、配列番号699又は配列番号738のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、重鎖CDR3は、配列番号204、配列番号220、配列番号222、配列番号223、配列番号228、配列番号231、配列番号394、配列番号469、配列番号518、配列番号534、配列番号535、配列番号536、配列番号699又は配列番号738のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。重鎖相補性決定領域(CDR1、CDR2、及び/又はCDR3)中にアミノ酸変化を含む抗体は、CD38に特異的に結合する能力を保持することが理解される。保持されたCD38特異的結合活性(親和性を含む)は、好ましくは、任意の重鎖相補性決定領域中にアミノ酸変化を含まない抗体の結合活性(親和性を含む)とほぼ同じであるが、その結合活性(親和性を含む)は任意の重鎖相補性決定領域中にアミノ酸変化を含まない抗体よりも低いか、又は高いものであってもよい。

#### 【0070】

いくつかの態様において、軽鎖FWR1は、配列番号232、配列番号247、配列番号259、配列番号260、配列番号261、配列番号436、配列番号443、配列番号447、配列番号451、配列番号455、配列番号459、配列番号463、配列番号490、配列番号497、配列番号501、配列番号509、配列番号582、配列番号607、配列番号614、配列番号618、配列番号622、配列番号626、配列番号630、配列番号634又は配列番号638のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、軽鎖FWR1は、配列番号232、配列番号247、配列番号259、配列番号260、配列番号261、配列番号436、配列番号443、配列番号447、配列番号451、配列番号455、配列番号459、配列番号463、配列番号490、配列番号497、配列番号501、配列番号509、配列番号582、配列番号607、配列番号614、配列番号618、配列番号622、配列番号626、配列番号630、配列番号634又は配列番号638のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、軽鎖FWR2は、配列番号234、配列番号246、配列番号248、配列番号281、配列番号283、配列番号285、配列番号287、配列番号289、配列番号291、配列番号293、配列番号295、配列番号297、配列番号438、配列番号444、配列番号448、配列番号452、配列番号456、配列番号460、配列番号464、配列番号492、配列番号498、配列番号502、配列番号506、配列番号510、配列番号584、配列番号592、配列番号593、配列番号609、配列番号615、配列番号619、配列番号623、配列番号627、配列番号631、配列番号635又は配列番号639のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、軽鎖FWR2は、配列番号234、配列番号246、配列番号248、配列番号281、配列番号283、配列番号285、配列番号287、配列番号289、配列番号291、配列番号293、配列番号295、配列番号297、配列番号438、配列番号444、配列番号448、配列番号452、配列番号456、配列番号460、配列番号464、配列番号492、配列番号498、配列番号502、配列番号506、配列番号510、配列番号584、配列番号592、配列番号593、配列番号609、配列番号615、配列番号619、配列番号623、配列番号627、配列番号631、配列番号635又は配列番号639のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも

約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、軽鎖FWR3は、配列番号236、配列番号245、配列番号265、配列番号266、配列番号267、配列番号271、配列番号272、配列番号274、配列番号276、配列番号277、配列番号278、配列番号279、配列番号280、配列番号282、配列番号284、配列番号286、配列番号288、配列番号290、配列番号292、配列番号294、配列番号296、配列番号298、配列番号300、配列番号302、配列番号304、配列番号306、配列番号308、配列番号310、配列番号312、配列番号314、配列番号316、配列番号318、配列番号320、配列番号323、配列番号327、配列番号331、配列番号335、配列番号339、配列番号343、配列番号347、配列番号351、配列番号355、配列番号359、配列番号363、配列番号367、配列番号371、配列番号375、配列番号379、配列番号383、配列番号387、配列番号440、配列番号445、配列番号449、配列番号453、配列番号457、配列番号461、配列番号465、配列番号494、配列番号499、配列番号503、配列番号507、配列番号511、配列番号586、配列番号611、配列番号616、配列番号620、配列番号624、配列番号628、配列番号632、配列番号636又は配列番号640のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、軽鎖FWR3は、配列番号236、配列番号245、配列番号265、配列番号266、配列番号267、配列番号271、配列番号272、配列番号274、配列番号276、配列番号277、配列番号278、配列番号279、配列番号280、配列番号282、配列番号284、配列番号286、配列番号288、配列番号290、配列番号292、配列番号294、配列番号296、配列番号298、配列番号300、配列番号302、配列番号304、配列番号306、配列番号308、配列番号310、配列番号312、配列番号314、配列番号316、配列番号318、配列番号320、配列番号323、配列番号327、配列番号331、配列番号335、配列番号339、配列番号343、配列番号347、配列番号351、配列番号355、配列番号359、配列番号363、配列番号367、配列番号371、配列番号375、配列番号379、配列番号383、配列番号387、配列番号440、配列番号445、配列番号449、配列番号453、配列番号457、配列番号461、配列番号465、配列番号494、配列番号499、配列番号503、配列番号507、配列番号511、配列番号586、配列番号611、配列番号616、配列番号620、配列番号624、配列番号628、配列番号632、配列番号636又は配列番号640のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、軽鎖FWR4は、配列番号238、配列番号442、配列番号446、配列番号450、配列番号454、配列番号458、配列番号462、配列番号496、配列番号500、配列番号504、配列番号508、配列番号512、配列番号588、配列番号613、配列番号617、配列番号621、配列番号625、配列番号629、配列番号633、配列番号637又は配列番号641のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、軽鎖FWR4は、配列番号238、配列番号442、配列番号446、配列番号450、配列番号454、配列番号458、配列番号462、配列番号496、配列番号500、配列番号504、配列番号508、配列番号512、配列番号588、配列番号613、配列番号617、配列番号621、配列番号625、配列番号629、配列番号633、配列番号637又は配列番号641のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。軽鎖フレームワーク領域(FWR1、FWR2、FWR3、及び/又はFWR4)中にアミノ酸変化を含む抗体は、CD38に特異的に結合する能力を保持することが理解される。保持されたCD38特異的結合活性(親和性を含む)は、好ましくは、任意の軽鎖フレームワーク領域中にアミノ酸変化を含まない抗体の結合活性(親和性を含む)とほぼ同じであるが、その結合活性(親和性を含む)は任意の軽鎖フレームワーク領域中にアミノ酸変化を含まない抗体よりも低いか、又は高いものであってもよい。

#### 【0071】

いくつかの態様において、軽鎖CDR1は、配列番号233、配列番号250、配列番号525、配列番号255、配列番号262、配列番号263、配列番号319、配列番号322、配列番号325、配列番号329、配列番号333、配列番号337、配列番号341、配列番号345、配列番号349、配列番

10

20

30

40

50

号353、配列番号357、配列番号361、配列番号365、配列番号369、配列番号373、配列番号377、配列番号381、配列番号385、配列番号437、配列番号491、配列番号583、配列番号589、配列番号590、配列番号608、又は配列番号696のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、軽鎖CDR1は、配列番号233、配列番号250、配列番号525、配列番号255、配列番号262、配列番号263、配列番号319、配列番号322、配列番号325、配列番号329、配列番号333、配列番号337、配列番号341、配列番号345、配列番号349、配列番号353、配列番号357、配列番号361、配列番号365、配列番号369、配列番号373、配列番号377、配列番号381、配列番号385、配列番号437、配列番号491、配列番号583、配列番号589、配列番号590、配列番号608、又は配列番号696のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、軽鎖CDR2は、配列番号235、配列番号249、配列番号253、配列番号264、配列番号299、配列番号301、配列番号303、配列番号305、配列番号307、配列番号309、配列番号311、配列番号313、配列番号315、配列番号317、配列番号326、配列番号330、配列番号334、配列番号338、配列番号342、配列番号346、配列番号350、配列番号354、配列番号358、配列番号362、配列番号366、配列番号370、配列番号374、配列番号378、配列番号382、配列番号386、配列番号439、配列番号493、配列番号585、配列番号591、配列番号605、配列番号610又は配列番号747のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、軽鎖CDR2は、配列番号235、配列番号249、配列番号253、配列番号264、配列番号299、配列番号301、配列番号303、配列番号305、配列番号307、配列番号309、配列番号311、配列番号313、配列番号315、配列番号317、配列番号326、配列番号330、配列番号334、配列番号338、配列番号342、配列番号346、配列番号350、配列番号354、配列番号358、配列番号362、配列番号366、配列番号370、配列番号374、配列番号378、配列番号382、配列番号386、配列番号439、配列番号493、配列番号585、配列番号591、配列番号605、配列番号610又は配列番号747のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、軽鎖CDR3は、配列番号237、配列番号244、配列番号251、配列番号254、配列番号256、配列番号257、配列番号258、配列番号268、配列番号269、配列番号270、配列番号273、配列番号275、配列番号321、配列番号324、配列番号328、配列番号332、配列番号336、配列番号340、配列番号344、配列番号348、配列番号352、配列番号356、配列番号360、配列番号364、配列番号368、配列番号372、配列番号376、配列番号380、配列番号384、配列番号388、配列番号441、配列番号495、配列番号587、配列番号594、配列番号595、配列番号596、配列番号597、配列番号598、配列番号599、配列番号600、配列番号601、配列番号602、配列番号603、配列番号604、配列番号606又は配列番号612のアミノ酸配列を含み、いくつかの態様において、軽鎖CDR3は、配列番号237、配列番号244、配列番号251、配列番号254、配列番号256、配列番号257、配列番号258、配列番号268、配列番号269、配列番号270、配列番号273、配列番号275、配列番号321、配列番号324、配列番号328、配列番号332、配列番号336、配列番号340、配列番号344、配列番号348、配列番号352、配列番号356、配列番号360、配列番号364、配列番号368、配列番号372、配列番号376、配列番号380、配列番号384、配列番号388、配列番号441、配列番号495、配列番号587、配列番号594、配列番号595、配列番号596、配列番号597、配列番号598、配列番号599、配列番号600、配列番号601、配列番号602、配列番号603、配列番号604、配列番号606又は配列番号612のアミノ酸配列との少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。軽鎖相補性決定領域(CDR1、CDR2、及び/又はCDR3)中にアミノ酸変化を含む抗体は、CD38に特異的に結合する能力を保持することが理解される。保持されたCD38特異的結合活性(親和性を含む)は、好ましくは、任意の軽鎖相補性決定領域中にアミノ酸変化を含まない抗体の結合活性(親和性を含む)とほぼ同じであるが、そ

10

20

30

40

50

の結合活性(親和性を含む)は任意の軽鎖相補性決定領域中にアミノ酸変化を含まない抗体よりも低いか、又は高いものであってもよい。

【0072】

いくつかの態様において、抗体は、特定の重鎖と軽鎖との対を含む。配列番号659のアミノ酸配列を有する重鎖を、配列番号664のアミノ酸配列を有する任意の軽鎖と対にするか、又は配列番号665のアミノ酸配列を有する重鎖を、配列番号666のアミノ酸配列を有する任意の軽鎖と対にするか、又は配列番号736のアミノ酸配列を有する重鎖を、配列番号664のアミノ酸配列を有する任意の軽鎖と対にすることができる。

【0073】

可変重鎖と可変軽鎖との対は、以下の表に由来する対を含んでもよい。

10

【0074】

【表 1 A】

| 抗体名     | 可変重鎖の配列番号<br>(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列番号<br>(アミノ酸) |
|---------|---------------------|---------------------|
| A02.10  | 19                  | 14                  |
| A02.11  | 20                  | 14                  |
| A02.112 | 34                  | 65                  |
| A02.12  | 34                  | 65                  |
| A02.13  | 35                  | 65                  |
| A02.16  | 34                  | 92                  |
| A02.17  | 34                  | 93                  |
| A02.18  | 34                  | 73                  |
| A02.19  | 34                  | 74                  |
| A02.2   | 13                  | 65                  |
| A02.20  | 34                  | 75                  |
| A02.21  | 34                  | 76                  |
| A02.22  | 34                  | 77                  |
| A02.23  | 34                  | 78                  |
| A02.24  | 34                  | 79                  |
| A02.25  | 34                  | 80                  |
| A02.26  | 34                  | 81                  |
| A02.27  | 34                  | 82                  |
| A02.28  | 34                  | 83                  |
| A02.29  | 34                  | 84                  |
| A02.3   | 17                  | 65                  |
| A02.30  | 34                  | 85                  |
| A02.31  | 34                  | 86                  |
| A02.32  | 34                  | 87                  |
| A02.33  | 34                  | 88                  |
| A02.34  | 34                  | 89                  |
| A02.35  | 34                  | 90                  |
| A02.36  | 34                  | 91                  |
| A02.37  | 34                  | 66                  |
| A02.38  | 34                  | 113                 |
| A02.39  | 34                  | 112                 |
| A02.4   | 18                  | 65                  |
| A02.40  | 111                 | 65                  |
| A02.41  | 110                 | 65                  |
| A02.43  | 110                 | 113                 |
| A02.44  | 111                 | 112                 |
| A02.46  | 34                  | 67                  |
| A02.47  | 34                  | 68                  |
| A02.48  | 34                  | 69                  |
| A02.49  | 34                  | 70                  |

10

20

30

40

【表 1 B】

| 抗体名    | 可変重鎖の配列番号<br>(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列番号<br>(アミノ酸) |
|--------|---------------------|---------------------|
| A02.5  | 19                  | 65                  |
| A02.50 | 34                  | 71                  |
| A02.51 | 34                  | 72                  |
| A02.52 | 34                  | 94                  |
| A02.53 | 34                  | 95                  |
| A02.54 | 34                  | 96                  |
| A02.55 | 34                  | 97                  |
| A02.56 | 34                  | 98                  |
| A02.57 | 34                  | 99                  |
| A02.58 | 34                  | 100                 |
| A02.59 | 34                  | 101                 |
| A02.6  | 20                  | 65                  |
| A02.60 | 34                  | 102                 |
| A02.61 | 34                  | 103                 |
| A02.62 | 34                  | 104                 |
| A02.63 | 34                  | 105                 |
| A02.64 | 34                  | 106                 |
| A02.65 | 34                  | 107                 |
| A02.66 | 34                  | 108                 |
| A02.67 | 34                  | 109                 |
| A02.8  | 17                  | 14                  |
| A02.9  | 18                  | 14                  |
| A10.1  | 165                 | 161                 |
| A10.10 | 174                 | 161                 |
| A10.11 | 175                 | 161                 |
| A10.12 | 176                 | 161                 |
| A10.13 | 177                 | 161                 |
| A10.14 | 178                 | 161                 |
| A10.15 | 179                 | 161                 |
| A10.16 | 180                 | 161                 |
| A10.17 | 156                 | 181                 |
| A10.18 | 156                 | 182                 |
| A10.19 | 156                 | 183                 |
| A10.2  | 166                 | 161                 |
| A10.20 | 156                 | 184                 |
| A10.21 | 156                 | 185                 |
| A10.22 | 156                 | 186                 |
| A10.23 | 156                 | 187                 |
| A10.24 | 156                 | 188                 |
| A10.25 | 156                 | 189                 |

10

20

30

40

【表 1 C】

| 抗体名           | 可変重鎖の配列番号<br>(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列番号<br>(アミノ酸) |
|---------------|---------------------|---------------------|
| A10.26        | 156                 | 190                 |
| A10.27        | 156                 | 191                 |
| A10.28        | 156                 | 192                 |
| A10.29        | 156                 | 193                 |
| A10.3         | 167                 | 161                 |
| A10.30        | 156                 | 194                 |
| A10.31        | 156                 | 195                 |
| A10.32        | 156                 | 196                 |
| A10.35        | 197                 | 161                 |
| A10.36        | 156                 | 198                 |
| A10.38        | 152                 | 161                 |
| A10.39        | 152                 | 181                 |
| A10.4         | 168                 | 161                 |
| A10.40        | 152                 | 182                 |
| A10.41        | 152                 | 183                 |
| A10.42        | 152                 | 184                 |
| A10.43        | 152                 | 185                 |
| A10.44        | 152                 | 186                 |
| A10.45        | 152                 | 187                 |
| A10.46        | 152                 | 188                 |
| A10.47        | 152                 | 189                 |
| A10.48        | 152                 | 190                 |
| A10.49        | 152                 | 191                 |
| A10.5         | 169                 | 161                 |
| A10.50        | 152                 | 192                 |
| A10.51        | 152                 | 193                 |
| A10.52        | 152                 | 194                 |
| A10.53        | 152                 | 195                 |
| A10.54        | 152                 | 196                 |
| A10.57        | 152                 | 198                 |
| A10.59        | 156                 | 161                 |
| A10.6         | 170                 | 161                 |
| A10.7         | 171                 | 161                 |
| A10.8         | 172                 | 161                 |
| A10.9         | 173                 | 161                 |
| A10A2.0 (キメラ) | 148                 | 157                 |
| A10A2.1       | 149                 | 158                 |
| A10A2.10      | 150                 | 160                 |
| A10A2.11      | 150                 | 161                 |
| A10A2.12      | 150                 | 162                 |

10

20

30

40

【表 1 D】

| 抗体名      | 可変重鎖の配列番号<br>(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列番号<br>(アミノ酸) |
|----------|---------------------|---------------------|
| A10A2.13 | 150                 | 163                 |
| A10A2.14 | 150                 | 164                 |
| A10A2.15 | 151                 | 158                 |
| A10A2.16 | 151                 | 159                 |
| A10A2.17 | 151                 | 160                 |
| A10A2.18 | 151                 | 161                 |
| A10A2.19 | 151                 | 162                 |
| A10A2.2  | 149                 | 159                 |
| A10A2.20 | 151                 | 163                 |
| A10A2.21 | 151                 | 164                 |
| A10A2.22 | 152                 | 158                 |
| A10A2.23 | 152                 | 159                 |
| A10A2.24 | 152                 | 160                 |
| A10A2.25 | 152                 | 161                 |
| A10A2.26 | 152                 | 162                 |
| A10A2.27 | 152                 | 163                 |
| A10A2.28 | 152                 | 164                 |
| A10A2.29 | 153                 | 158                 |
| A10A2.3  | 149                 | 160                 |
| A10A2.30 | 153                 | 159                 |
| A10A2.31 | 153                 | 160                 |
| A10A2.32 | 153                 | 161                 |
| A10A2.33 | 153                 | 162                 |
| A10A2.34 | 153                 | 163                 |
| A10A2.35 | 153                 | 164                 |
| A10A2.36 | 154                 | 158                 |
| A10A2.37 | 154                 | 159                 |
| A10A2.38 | 154                 | 160                 |
| A10A2.39 | 154                 | 161                 |
| A10A2.4  | 149                 | 161                 |
| A10A2.40 | 154                 | 162                 |
| A10A2.41 | 154                 | 163                 |
| A10A2.42 | 154                 | 164                 |
| A10A2.43 | 154                 | 158                 |
| A10A2.44 | 155                 | 159                 |
| A10A2.45 | 155                 | 160                 |
| A10A2.46 | 155                 | 161                 |
| A10A2.47 | 155                 | 162                 |
| A10A2.48 | 155                 | 163                 |
| A10A2.49 | 155                 | 164                 |

10

20

30

40

【表 1 E】

| 抗体名          | 可変重鎖の配列番号<br>(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列番号<br>(アミノ酸) |
|--------------|---------------------|---------------------|
| A10A2.5      | 149                 | 162                 |
| A10A2.50     | 156                 | 158                 |
| A10A2.51     | 156                 | 159                 |
| A10A2.52     | 156                 | 160                 |
| A10A2.53     | 156                 | 161                 |
| A10A2.54     | 156                 | 162                 |
| A10A2.55     | 156                 | 163                 |
| A10A2.56     | 156                 | 164                 |
| A10A2.6      | 149                 | 163                 |
| A10A2.7      | 149                 | 164                 |
| A10A2.8      | 150                 | 158                 |
| A10A2.9      | 150                 | 159                 |
| A5D1.0 (キメラ) | 114                 | 125                 |
| A5D1.1       | 115                 | 126                 |
| A5D1.10      | 116                 | 129                 |
| A5D1.11      | 116                 | 130                 |
| A5D1.12      | 116                 | 131                 |
| A5D1.13      | 117                 | 126                 |
| A5D1.14      | 117                 | 127                 |
| A5D1.15      | 117                 | 128                 |
| A5D1.16      | 117                 | 129                 |
| A5D1.17      | 117                 | 130                 |
| A5D1.18      | 117                 | 131                 |
| A5D1.19      | 118                 | 126                 |
| A5D1.2       | 115                 | 127                 |
| A5D1.20      | 118                 | 127                 |
| A5D1.21      | 118                 | 128                 |
| A5D1.22      | 118                 | 129                 |
| A5D1.23      | 118                 | 130                 |
| A5D1.24      | 118                 | 131                 |
| A5D1.25      | 119                 | 126                 |
| A5D1.26      | 119                 | 127                 |
| A5D1.27      | 119                 | 128                 |
| A5D1.28      | 119                 | 129                 |
| A5D1.29      | 119                 | 130                 |
| A5D1.3       | 115                 | 128                 |
| A5D1.30      | 119                 | 131                 |
| A5D1.31      | 120                 | 126                 |
| A5D1.32      | 120                 | 127                 |
| A5D1.33      | 120                 | 128                 |

10

20

30

40

【表 1 F】

| 抗体名          | 可変重鎖の配列番号<br>(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列番号<br>(アミノ酸) |
|--------------|---------------------|---------------------|
| A5D1.34      | 120                 | 129                 |
| A5D1.35      | 120                 | 130                 |
| A5D1.36      | 120                 | 131                 |
| A5D1.37      | 121                 | 126                 |
| A5D1.38      | 121                 | 127                 |
| A5D1.39      | 121                 | 128                 |
| A5D1.4       | 115                 | 129                 |
| A5D1.40      | 121                 | 129                 |
| A5D1.41      | 121                 | 130                 |
| A5D1.42      | 121                 | 131                 |
| A5D1.43      | 122                 | 126                 |
| A5D1.44      | 122                 | 127                 |
| A5D1.45      | 122                 | 128                 |
| A5D1.46      | 122                 | 129                 |
| A5D1.47      | 122                 | 130                 |
| A5D1.48      | 122                 | 131                 |
| A5D1.49      | 123                 | 126                 |
| A5D1.5       | 115                 | 130                 |
| A5D1.50      | 123                 | 127                 |
| A5D1.51      | 123                 | 128                 |
| A5D1.52      | 123                 | 129                 |
| A5D1.53      | 123                 | 130                 |
| A5D1.54      | 123                 | 131                 |
| A5D1.55      | 124                 | 126                 |
| A5D1.56      | 124                 | 127                 |
| A5D1.57      | 124                 | 128                 |
| A5D1.58      | 124                 | 129                 |
| A5D1.59      | 124                 | 130                 |
| A5D1.6       | 115                 | 131                 |
| A5D1.60      | 124                 | 131                 |
| A5D1.7       | 116                 | 126                 |
| A5D1.8       | 116                 | 127                 |
| A5D1.9       | 116                 | 128                 |
| A5E8.0 (キメラ) | 132                 | 143                 |
| A5E8.1       | 133                 | 144                 |
| A5E8.10      | 135                 | 145                 |
| A5E8.11      | 135                 | 146                 |
| A5E8.12      | 135                 | 147                 |
| A5E8.13      | 136                 | 144                 |
| A5E8.14      | 136                 | 145                 |

10

20

30

40

【表 1 G】

| 抗体名     | 可変重鎖の配列番号<br>(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列番号<br>(アミノ酸) |
|---------|---------------------|---------------------|
| A5E8.15 | 136                 | 146                 |
| A5E8.16 | 136                 | 147                 |
| A5E8.17 | 137                 | 144                 |
| A5E8.18 | 137                 | 145                 |
| A5E8.19 | 137                 | 146                 |
| A5E8.2  | 133                 | 145                 |
| A5E8.20 | 137                 | 147                 |
| A5E8.21 | 138                 | 144                 |
| A5E8.22 | 138                 | 145                 |
| A5E8.23 | 138                 | 146                 |
| A5E8.24 | 138                 | 147                 |
| A5E8.25 | 139                 | 144                 |
| A5E8.26 | 139                 | 145                 |
| A5E8.27 | 139                 | 146                 |
| A5E8.28 | 139                 | 147                 |
| A5E8.29 | 140                 | 144                 |
| A5E8.3  | 133                 | 146                 |
| A5E8.30 | 140                 | 145                 |
| A5E8.31 | 140                 | 146                 |
| A5E8.32 | 140                 | 147                 |
| A5E8.33 | 141                 | 144                 |
| A5E8.34 | 141                 | 145                 |
| A5E8.35 | 141                 | 146                 |
| A5E8.36 | 141                 | 147                 |
| A5E8.37 | 142                 | 144                 |
| A5E8.38 | 142                 | 145                 |
| A5E8.39 | 142                 | 146                 |
| A5E8.4  | 133                 | 147                 |
| A5E8.40 | 142                 | 147                 |
| A5E8.5  | 134                 | 144                 |
| A5E8.6  | 134                 | 145                 |
| A5E8.7  | 134                 | 146                 |
| A5E8.8  | 134                 | 147                 |
| A5E8.9  | 135                 | 144                 |
| X02.10  | 19                  | 14                  |
| X02.100 | 13                  | 58                  |
| X02.101 | 13                  | 59                  |
| X02.102 | 13                  | 60                  |
| X02.103 | 13                  | 61                  |
| X02.104 | 13                  | 62                  |

10

20

30

40

【表 1 H】

| 抗体名     | 可変重鎖の配列番号<br>(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列番号<br>(アミノ酸) |
|---------|---------------------|---------------------|
| X02.105 | 13                  | 63                  |
| X02.106 | 13                  | 64                  |
| X02.107 | 13                  | 65                  |
| X02.108 | 32                  | 14                  |
| X02.11  | 20                  | 14                  |
| X02.110 | 33                  | 14                  |
| X02.114 | 13                  | 660                 |
| X02.115 | 13                  | 661                 |
| X02.116 | 13                  | 662                 |
| X02.117 | 13                  | 663                 |
| X02.118 | 34                  | 700                 |
| X02.119 | 34                  | 701                 |
| X02.120 | 728                 | 700                 |
| X02.121 | 729                 | 700                 |
| X02.122 | 730                 | 700                 |
| X02.123 | 731                 | 700                 |
| X02.124 | 728                 | 701                 |
| X02.125 | 729                 | 701                 |
| X02.126 | 730                 | 701                 |
| X02.127 | 731                 | 701                 |
| X02.68  | 21                  | 14                  |
| X02.69  | 22                  | 14                  |
| X02.70  | 23                  | 14                  |
| X02.71  | 24                  | 14                  |
| X02.72  | 25                  | 14                  |
| X02.73  | 26                  | 14                  |
| X02.74  | 27                  | 14                  |
| X02.75  | 28                  | 14                  |
| X02.76  | 29                  | 14                  |
| X02.77  | 30                  | 14                  |
| X02.78  | 31                  | 14                  |
| X02.8   | 17                  | 14                  |
| X02.80  | 13                  | 38                  |
| X02.81  | 13                  | 39                  |
| X02.82  | 13                  | 40                  |
| X02.83  | 13                  | 41                  |
| X02.84  | 13                  | 42                  |
| X02.85  | 13                  | 43                  |
| X02.86  | 13                  | 44                  |
| X02.87  | 13                  | 45                  |

10

20

30

40

【表 1 I】

| 抗体名     | 可変重鎖の配列番号<br>(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列番号<br>(アミノ酸) |
|---------|---------------------|---------------------|
| X02.88  | 13                  | 46                  |
| X02.89  | 13                  | 47                  |
| X02.9   | 18                  | 14                  |
| X02.90  | 13                  | 48                  |
| X02.91  | 13                  | 49                  |
| X02.92  | 13                  | 50                  |
| X02.93  | 13                  | 51                  |
| X02.94  | 13                  | 52                  |
| X02.95  | 13                  | 53                  |
| X02.96  | 13                  | 54                  |
| X02.97  | 13                  | 55                  |
| X02.98  | 13                  | 56                  |
| X02.99  | 13                  | 57                  |
| X10.100 | 720                 | 706                 |
| X10.101 | 721                 | 706                 |
| X10.102 | 722                 | 706                 |
| X10.103 | 723                 | 706                 |
| X10.104 | 739                 | 706                 |
| X10.105 | 740                 | 706                 |
| X10.106 | 741                 | 706                 |
| X10.107 | 742                 | 706                 |
| X10.108 | 720                 | 707                 |
| X10.109 | 721                 | 707                 |
| X10.110 | 722                 | 707                 |
| X10.111 | 723                 | 707                 |
| X10.112 | 739                 | 707                 |
| X10.113 | 740                 | 707                 |
| X10.114 | 741                 | 707                 |
| X10.115 | 742                 | 707                 |
| X10.116 | 720                 | 708                 |
| X10.117 | 721                 | 708                 |
| X10.118 | 722                 | 708                 |
| X10.119 | 723                 | 708                 |
| X10.120 | 739                 | 708                 |
| X10.121 | 740                 | 708                 |
| X10.122 | 741                 | 708                 |
| X10.123 | 742                 | 708                 |
| X10.124 | 720                 | 709                 |
| X10.125 | 721                 | 709                 |
| X10.126 | 722                 | 709                 |

10

20

30

40

【表 1 J】

| 抗体名     | 可変重鎖の配列番号<br>(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列番号<br>(アミノ酸) |
|---------|---------------------|---------------------|
| X10.127 | 723                 | 709                 |
| X10.128 | 739                 | 709                 |
| X10.129 | 740                 | 709                 |
| X10.130 | 741                 | 709                 |
| X10.131 | 742                 | 709                 |
| X10.132 | 720                 | 710                 |
| X10.133 | 721                 | 710                 |
| X10.134 | 722                 | 710                 |
| X10.135 | 723                 | 710                 |
| X10.136 | 739                 | 710                 |
| X10.137 | 740                 | 710                 |
| X10.138 | 741                 | 710                 |
| X10.139 | 742                 | 710                 |
| X10.140 | 720                 | 711                 |
| X10.141 | 721                 | 711                 |
| X10.142 | 722                 | 711                 |
| X10.143 | 723                 | 711                 |
| X10.144 | 739                 | 711                 |
| X10.145 | 740                 | 711                 |
| X10.146 | 741                 | 711                 |
| X10.147 | 742                 | 711                 |
| X10.60  | 156                 | 704                 |
| X10.61  | 156                 | 705                 |
| X10.62  | 156                 | 706                 |
| X10.63  | 156                 | 707                 |
| X10.64  | 156                 | 708                 |
| X10.65  | 156                 | 709                 |
| X10.66  | 156                 | 710                 |
| X10.67  | 156                 | 711                 |
| X10.68  | 720                 | 161                 |
| X10.69  | 721                 | 161                 |
| X10.70  | 722                 | 161                 |
| X10.71  | 723                 | 161                 |
| X10.72  | 739                 | 161                 |
| X10.73  | 740                 | 161                 |
| X10.74  | 741                 | 161                 |
| X10.75  | 742                 | 161                 |
| X10.76  | 152                 | 704                 |
| X10.77  | 152                 | 705                 |
| X10.78  | 152                 | 706                 |

10

20

30

40

【表 1 K】

| 抗体名                                        | 可変重鎖の配列番号<br>(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列番号<br>(アミノ酸) |
|--------------------------------------------|---------------------|---------------------|
| X10.79                                     | 152                 | 707                 |
| X10.80                                     | 152                 | 708                 |
| X10.81                                     | 152                 | 709                 |
| X10.82                                     | 152                 | 710                 |
| X10.83                                     | 152                 | 711                 |
| X10.84                                     | 720                 | 704                 |
| X10.85                                     | 721                 | 704                 |
| X10.86                                     | 722                 | 704                 |
| X10.87                                     | 723                 | 704                 |
| X10.88                                     | 739                 | 704                 |
| X10.89                                     | 740                 | 704                 |
| X10.90                                     | 741                 | 704                 |
| X10.91                                     | 742                 | 704                 |
| X10.92                                     | 720                 | 705                 |
| X10.93                                     | 721                 | 705                 |
| X10.94                                     | 722                 | 705                 |
| X10.95                                     | 723                 | 705                 |
| X10.96                                     | 739                 | 705                 |
| X10.97                                     | 740                 | 705                 |
| X10.98                                     | 741                 | 705                 |
| X10.99                                     | 742                 | 705                 |
| X910/12-HC-L0-<br>IFN-アルファ<br>(A145D) IgG4 | 110                 | 112                 |
| X913/15-HC-L0-<br>IFN-アルファ<br>(A145D) IgG4 | 111                 | 113                 |

## 【0085】

抗体を弱毒化されたリガンドに融合して、例えば、細胞表面受容体に対する弱毒化リガンドの作用に起因するシグナリング経路の活性化に関して抗原-特異性指数の上昇を示す、抗体-弱毒化リガンド構築物を形成させることができる。これらの構築物は、抗体-リガンド構築物の文脈においては、抗原陰性細胞上でのリガンド活性は劇的に弱まるが、抗原陽性細胞におけるリガンド活性は、たとえあったとしても、穏やかにのみ弱まるような方法でリガンド部分を突然変異させることができるという観察に基づくものである。そのような構築物は、遊離リガンドよりも抗原陰性細胞と比較して抗原陽性細胞に対して1、2、3、4又は5桁規模高い効力を示す。いくつかの態様において、抗体-弱毒化リガンド構築物は、非弱毒化遊離(すなわち、抗体に結合していない)リガンドとして抗原陽性細胞に対する少なくとも1%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%又は少なくとも50%の効力を保持する。いくつかの態様において、抗体-弱毒化リガンド構築物は、非弱毒化遊離(すなわち、抗体に結合していない)リガンドの最大活性の少なくとも30%、少なくとも50%、少なくとも75%又は少なくとも90%を保持する。最大活性は、薬剤のさらなる増加が応答量をさらに増加させない、用量応答曲線の高いプラトー部分でのシグナ

リング活性の量(又はその下流の効果)を含む。

【0086】

いくつかの態様において、インターフェロンリガンドへの抗体融合及びインターフェロンリガンド中への弱毒化突然変異の含有は、融合物を含まない抗体と比較して、10倍を超えて、好ましくは50倍を超えて、好ましくは100倍を超えて、好ましくは1000倍を超えて、又は好ましくは10,000倍を超えて抗原特異性指数(ASI)を増加させる。ASIは、標的抗原陰性細胞上での遊離非突然変異ポリペプチドリガンドと比較したシグナリング活性の倍数減少効力を掛けた、標的抗原陽性細胞上での遊離非突然変異ポリペプチドリガンドと比較した抗体-IFNリガンド構築物のシグナリング活性の倍数増加効力を含む。用量がアッセイ中のリガンド又は抗体-リガンド構築物の濃度を指し、応答が特定の用量のリガンドのシグナリング活性に対する細胞の量的応答を指す、用量応答曲線の数値的中点である、 $EC_{50}$ 値により効力を定量的に表すことができる。かくして、典型的には、同じ方法により測定された場合、例えば、第1の化合物が、同じ細胞上で第2の化合物の $EC_{50}$ よりも10倍低い $EC_{50}$ (例えば、モル濃度単位で表される)を有すると示された場合、第1の化合物は10倍高い効力を有すると言われる。逆に、典型的には、同じ方法により測定された場合、第1の化合物は同じ細胞上で第2の化合物の $EC_{50}$ よりも10倍高い $EC_{50}$ を有すると示された場合、第1の化合物は、10倍低い効力を有すると言われる。

10

【0087】

抗体は、好ましくは、CD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約100nM未満の $EC_{50}$ 値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約75nM未満の $EC_{50}$ 値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約50nM未満の $EC_{50}$ 値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約30nM未満の $EC_{50}$ 値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約25nM未満の $EC_{50}$ 値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約20nM未満の $EC_{50}$ 値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約18nM未満の $EC_{50}$ 値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約15nM未満の $EC_{50}$ 値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約13nM未満の $EC_{50}$ 値でCD38陽性細胞に結合することができる。抗体は、約10nM未満の $EC_{50}$ 値でCD38陽性細胞に結合することができる。

20

【0088】

抗体に連結されたインターフェロンは、好ましくは、抗体が結合するCD38抗原の細胞表面発現を欠く細胞上のそのそれぞれの受容体を刺激する際にインターフェロンの活性を低下させる点突然変異及び/又は欠失を含む、そのアミノ酸配列中の変化を含む。インターフェロンアルファの非常に好ましいバリエーションは、配列番号7のインターフェロンアルファ2b分子の168位にアミノ酸変化を含む。例えば、親IFN-アルファ2b分子中のアラニンである、168位のアミノ酸は、好ましくは、グリシン(Gly/G)(配列番号650)又はアスパラギン酸(Asp/D)(配列番号647)に変化される。いくつかの態様において、IFN-アルファ2bは、IFN-アルファ2bがヒトIgG1又はヒトIgG4重鎖定常ドメインなどのIgG重鎖定常ドメインに融合した場合、そのN末端でトランケートされる。トランケートされたIFN-アルファ2bは配列番号7の23個のN末端アミノ酸を有さず(Met1からGly23までが欠失される)、トランケートされたIFN-アルファ2bは配列番号648のアミノ酸配列を含む。トランケートされたIFN-アルファ2bはまた、以前は168位にあったが、トランケートされたタンパク質中では145位になった(例えば、アラニン168はアラニン145になる)アミノ酸変化を含んでもよい。トランケートされたIFN-アルファ2bにおいて、アラニンは、好ましくは、グリシン(Gly/G)(配列番号651)又はアスパラギン酸(Asp/D)(配列番号649)に変化される。A145D変化を有するインターフェロン(配列番号647又は配列番号649)は、本開示の抗体に融合した弱毒化リガンドとして特に好ましい。これらの点突然変異した、弱毒化されたバージョンのIFN-アルファのいずれかを、例えば、抗体-弱毒化インターフェロン構築物として、本明細書に記載の任意の抗体に連結することができる。

30

40

【0089】

抗体とインターフェロンとの間の連結は、好ましくは、融合物、例えば、インターフェロンのN又はC末端と、抗体の重鎖又は軽鎖のN又はC末端との間のペプチド結合を含む。非

50

常に好ましい態様においては、抗体とインターフェロンとの間にはリンカーは存在せず、かくして、抗体とインターフェロンとは直接融合される。介在リンカーペプチドを含まない直接的融合物は、インターフェロンタンパク質の少なくとも測定可能な程度の弱毒化を提供すると考えられ、また、この弱毒化は本明細書に記載又は例示されるものなどの、インターフェロンタンパク質中に導入される突然変異から生じるインターフェロンタンパク質の弱毒化と共に付加的であるとも考えられる。

#### 【0090】

抗体及びそのサブドメイン(例えば、FWR及びCDR)をコードするポリヌクレオチド配列は、本開示において特徴付けられる。ポリヌクレオチドとしては、限定されるものではないが、RNA、DNA、cDNA、RNAとDNAのハイブリッド、及びRNA、DNA、又はそのハイブリッドの一本鎖、二本鎖又は三本鎖が挙げられる。

#### 【0091】

いくつかの態様において、ポリヌクレオチドは、CD38上のエピトープに特異的に結合する抗体の重鎖をコードする。ポリヌクレオチドは、配列番号667、配列番号668、配列番号679、配列番号680、配列番号681、配列番号682、配列番号683、配列番号684、配列番号、配列番号685、配列番号686、配列番号695、配列番号724、配列番号725、配列番号726、配列番号727、配列番号732、配列番号733、配列番号734、配列番号735、配列番号743、配列番号744、配列番号745又は配列番号746のいずれかのアミノ酸配列を含む重鎖をコードしてもよい。ポリヌクレオチドは、配列番号669、配列番号670、配列番号671、配列番号672、配列番号673、配列番号674、配列番号675、配列番号676、配列番号677、配列番号678、配列番号688、配列番号689、配列番号690、配列番号691、配列番号692、配列番号693、配列番号702、配列番号703、配列番号712、配列番号713、配列番号714、配列番号715、配列番号716、配列番号717、配列番号718又は配列番号719のいずれかのアミノ酸配列を含む軽鎖をコードしてもよい。ポリヌクレオチドは、配列番号667、配列番号668、配列番号679、配列番号680、配列番号681、配列番号682、配列番号683、配列番号684、配列番号、配列番号685、配列番号686、配列番号695、配列番号724、配列番号725、配列番号726、配列番号727、配列番号732、配列番号733、配列番号734、配列番号735、配列番号743、配列番号744、配列番号745、配列番号746、配列番号669、配列番号670、配列番号671、配列番号672、配列番号673、配列番号674、配列番号675、配列番号676、配列番号677、配列番号678、配列番号688、配列番号689、配列番号690、配列番号691、配列番号692、配列番号693、配列番号702、配列番号703、配列番号712、配列番号713、配列番号714、配列番号715、配列番号716、配列番号717、配列番号718又は配列番号719のいずれかの核酸配列を含んでもよい。ポリヌクレオチドは、配列番号667、配列番号668、配列番号679、配列番号680、配列番号681、配列番号682、配列番号683、配列番号684、配列番号、配列番号685、配列番号686、配列番号695、配列番号724、配列番号725、配列番号726、配列番号727、配列番号732、配列番号733、配列番号734、配列番号735、配列番号743、配列番号744、配列番号745、配列番号746、配列番号669、配列番号670、配列番号671、配列番号672、配列番号673、配列番号674、配列番号675、配列番号676、配列番号677、配列番号678、配列番号688、配列番号689、配列番号690、配列番号691、配列番号692、配列番号693、配列番号702、配列番号703、配列番号712、配列番号713、配列番号714、配列番号715、配列番号716、配列番号717、配列番号718又は配列番号719のいずれかとの少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約86%、少なくとも約87%、少なくとも約88%、少なくとも約89%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有する核酸配列を含んでもよく、いくつかの態様において、そのようなバリエーションは、好ましくは、配列番号667、配列番号668、配列番号679、配列番号680、配列番号681、配列番号682、配列番号683、配列番号684、配列番号、配列番号685、配列番号686、配列番号695、配列番号724、配列番号725、配列番号726、配列番号727、配列番号732、配列番号733、配列番号734、配列番号735、配列番号743、配列番号744、配列番号745、配列番号746、配列番号669、配列番号670、配列番号671、配列番号672、配列番

10

20

30

40

50

号673、配列番号674、配列番号675、配列番号676、配列番号677、配列番号678、配列番号688、配列番号689、配列番号690、配列番号691、配列番号692、配列番号693、配列番号702、配列番号703、配列番号712、配列番号713、配列番号714、配列番号715、配列番号716、配列番号717、配列番号718又は配列番号719のポリヌクレオチド配列によりコードされる同じアミノ酸をコードする。好ましくは、ポリヌクレオチドバリエーションによりコードされる抗体は、親(非バリエーション)ポリヌクレオチド配列によりコードされる抗体の親和性とほぼ等しい親和性でCD38に特異的に結合する。例えば、実施例に記載の技術などの、本明細書に記載又は例示される任意の技術に従って、親和性を測定することができる。ポリヌクレオチド配列及びバリエーションポリヌクレオチド配列の相補体も、本開示の範囲内にある。

10

#### 【0092】

また、本開示のポリヌクレオチドを含むベクターも本開示の範囲内に包含される。ベクターは、発現ベクターであってもよい。かくして、対象のポリペプチドをコードする配列を含有する組換え発現ベクターが提供される。発現ベクターは、限定されるものではないが、調節配列、選択マーカー、精製タグ、又はポリアデニル化シグナルなどの1つ又は複数のさらなる配列を含有してもよい。そのような調節エレメントは、転写プロモーター、エンハンサー、mRNAリボソーム結合部位、又は転写及び翻訳の終結を制御する配列を含んでもよい。

#### 【0093】

発現ベクター、特に、哺乳動物発現ベクターは、複製起点、発現させようとする遺伝子に連結された好適なプロモーター及びエンハンサー、他の5'若しくは3'フランキング非転写配列、5'若しくは3'非翻訳配列(必須リボソーム結合部位など)、ポリアデニル化部位、スプライスドナー及びアクセプター部位、又は転写終結配列などの、1つ又は複数の非転写エレメントを含んでもよい。特定の宿主中で複製する能力を付与する複製起点を組み込むこともできる。

20

#### 【0094】

ベクターを使用して、当業者には周知の宿主細胞、好ましくは、抗体を発現することができる宿主細胞の任意の様々なアレイを形質転換することができる。ベクターとしては、限定されるものではないが、プラスミド、ファージミド、コスミド、バキュロウイルス、バクミド、細菌人工染色体(BAC)、酵母人工染色体(YAC)、及びバキュロウイルス、並びに他の細菌、真核、酵母、及びウイルスベクターが挙げられる。好適な宿主細胞としては、限定されるものではないが、CHO細胞、HEK293細胞、又は公知の、若しくは生成された任意の安定な真核細胞株が挙げられ、細菌、酵母、及び昆虫細胞も含む。

30

#### 【0095】

また、抗体をハイブリドーマ細胞により生成することもできる;ハイブリドーマを生成する方法は、当業界で周知であり、確立されている。

#### 【0096】

インターフェロン受容体に対するリガンドの親和性を実質的に低下させる1つ又は複数の突然変異を有するインターフェロンアルファリガンドが、抗体の対応する抗原を示す標的細胞に対して突然変異インターフェロンアルファリガンドを標的化する抗CD38抗体に連結される場合、標的抗原陽性細胞に対するリガンドの活性は維持されるが、非標的抗原陰性細胞に対するリガンドの活性は実質的に減少することが、本開示に従って観察された。正味の結果は、オフターゲットリガンド活性から生じる毒性を低下させるための手段を提供する、抗原陰性非標的細胞と比較して、抗原陽性標的細胞上でのその受容体の活性化においてはるかに高い効力を有するリガンドシグナリング分子である。

40

#### 【0097】

いくつかの態様において、ポリペプチド構築物は、抗CD38抗体又はその抗原結合部分に連結されたIFN-アルファバリエーションを含む。そのようなポリペプチドは、体内でCD38陰性非腫瘍細胞に対してはるかに低い効力を示しながら、高い効力で、CD38陽性腫瘍細胞に対してIFNの抗増殖活性を示すことができる。

50

## 【0098】

本開示はまた、本開示の抗体と抗体-弱毒化インターフェロン構築物とを含む組成物も提供する。これらの組成物は、限定されるものではないが、1つ又は複数の希釈剤、結合剤、安定剤、バッファー、塩、親油性溶媒、保存剤、アジュバント、又は他の好適な担体及び/若しくは賦形剤などの、少なくとも1つの任意の好適な補助剤をさらに含んでもよい。薬学的に許容される補助剤が好ましい。組成物は、本明細書に記載及び/又は例示される、任意の抗体と、抗体-弱毒化インターフェロン構築物と、薬学的に許容される担体などの許容される担体とを含んでもよい。好適な担体は、抗体及び/又はインターフェロンの生物活性に干渉しない任意の媒体を含み、好ましくは、それが投与される宿主にとって非毒性的である。担体は、水、塩水、若しくはアルコール、又は生理的に適合するバッファー、例えば、ハンクス液、リンゲル液、若しくは生理食塩水バッファーなどの水性溶液であってもよい。担体は、懸濁剤、安定化剤及び/又は分散剤などの調合剤(formulatory agent)を含有してもよい。

10

## 【0099】

組成物中で有用な薬学的賦形剤及び添加剤としては、限定されるものではないが、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、脂質、及び炭水化物(例えば、単糖類、二糖類、三糖類、四糖類及びオリゴ糖などの糖;アルジトール、アルドン酸、エステル化糖及び他の公知の糖などの誘導体化糖;並びに多糖類又は糖ポリマー)が挙げられ、単独で、又は組合せで、任意の好適な質量又は容量を含む、単独で、又は組合せ中に存在してもよい。例示的なタンパク質賦形剤としては、血清アルブミン、例えば、ヒト血清アルブミン(HSA)、組換えヒトアルブミン(rHA)、ゼラチン、カゼイン、及び他の公知のタンパク質が挙げられる。緩衝化能力においても機能し得る代表的なアミノ酸としては、アラニン、グリシン、アルギニン、ペタイン、ヒスチジン、グルタミン酸、アスパラギン酸、システイン、リシン、ロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニン、フェニルアラニン、及びアスパルテムが挙げられる。1つの好ましいアミノ酸は、ヒスチジンである。第2の好ましいアミノ酸は、アルギニンである。

20

## 【0100】

組成物中での使用にとって好適な炭水化物賦形剤としては、例えば、フルクトース、マルトース、ガラクトース、グルコース、D-マンノース、及びソルボースなどの単糖類;ラクトース、スクロース、トレハロース、及びセロビオースなどの二糖類;ラフィノース、メレジトース、マルトデキストリン、デキストラン、及びデンプンなどの多糖類;並びにマンニトール、キシリトール、マルチトール、ラクチトール、キシリトールソルビトール(グルシトール)、及びミオイノシトールなどのアルジトールが挙げられる。本開示における使用のための好ましい炭水化物賦形剤は、マンニトール、トレハロース、及びラフィノースである。

30

## 【0101】

抗体組成物はまた、バッファー又はpH調整剤を含んでもよい;典型的には、バッファーは、有機酸又は塩基から調製される塩である。代表的なバッファーとしては、クエン酸、アスコルビン酸、グルコン酸、カルボン酸、酒石酸、コハク酸、酢酸、又はフタル酸の塩などの有機酸塩;Tris、トロメタミン塩酸塩、又はリン酸バッファーが挙げられる。本発明の組成物中での使用のための好ましいバッファーは、クエン酸塩などの有機酸塩である。

40

## 【0102】

さらに、本開示の組成物は、ポリビニルピロリドン、フィコール(ポリマー糖)、デキストレート(例えば、2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリンなどのシクロデキストリン)、ポリエチレングリコール、抗微生物剤、酸化防止剤、帯電防止剤、界面活性剤(例えば、「TWEEN(登録商標)20」及び「TWEEN(登録商標)80」などのポリソルベート)、脂質(例えば、リン脂質、脂肪酸)、ステロイド(例えば、コレステロール)、及びキレート剤(例えば、EDTA)などのポリマー性賦形剤/添加剤を含んでもよい。

## 【0103】

50

また、組成物を、持続放出媒体又はデポー調製物中で製剤化することもできる。例えば、組成物を、好適なポリマー性若しくは疎水性材料(例えば、許容される油中の乳濁液として)若しくはイオン交換樹脂と共に、又はやや溶けにくい誘導体として、例えば、やや溶けにくい塩として製剤化することができる。リポソーム及び乳濁液は、疎水性薬物のための担体としての使用にとって好適な送達媒体の周知の例である。

#### 【0104】

組成物を、任意の好適な剤形中での対象への投与のために製剤化することができる。組成物を、経口、頬、経鼻、経皮、非経口、注射、静脈内、皮下、筋肉内、直腸、又は経膈投与のために製剤化することができる。組成物を、アジュバントと共に、又はデポー製剤として、好適な制御放出媒体中で製剤化することができる。

10

#### 【0105】

非経口投与のための調製物としては、注射できる状態にある滅菌溶液、皮下注射錠剤などの、使用直前に溶媒と組み合わせることができる状態にある滅菌乾燥溶解性生成物、注射できる状態にある滅菌懸濁液、使用直前に媒体と組み合わせることができる状態にある滅菌乾燥不溶性生成物並びに滅菌乳濁液が挙げられる。

#### 【0106】

抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物を使用して、例えば、CD38を表面に発現した細胞の増殖を阻害する、減少させる、低下させる、遮断する、又は防止することができる。いくつかの態様において、CD38を表面に発現する細胞の増殖を阻害するか、又は減少させるための方法は一般に、CD38を発現する細胞と、細胞の増殖を阻害するか、又は減少させるのに有効な量の抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物とを接触させることを含む。CD38に特異的に結合する抗体は、本明細書に記載又は例示される任意の抗体であってもよい。弱毒化インターフェロンアルファ2bは、IFN-アルファ2b A145D又はIFN-アルファ2b A145Gを含んでもよい。細胞は、リンパ球、自己免疫性リンパ球、又は白血病細胞、多発性骨髄腫細胞、若しくはリンパ腫細胞などの腫瘍細胞であってもよい。抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物は、例えば、薬学的に許容される担体及び場合により、本明細書に記載又は例示される任意のそのような担体、補助剤、又は賦形剤などの1つ又は複数の補助剤又は賦形剤と共に組成物中に含まれていてもよい。前記方法を、in vitro、ex vivo、in vivo、又はin situで実行することができる。

20

30

#### 【0107】

抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物を使用して、例えば、CD38を表面に発現した細胞のアポトーシスを誘導する、容易にする、又は増強することもできる。いくつかの態様において、CD38を表面に発現する細胞におけるアポトーシスを誘導するための方法は、一般に、CD38を発現する細胞と、細胞におけるアポトーシスを誘導するのに有効な量の抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物とを接触させることを含む。CD38に特異的に結合する抗体は、本明細書に記載又は例示される任意の抗体であってもよい。弱毒化インターフェロンアルファ2bは、IFN-アルファ2b A145D又はIFN-アルファ2b A145Gを含んでもよい。細胞は、リンパ球、自己免疫性リンパ球、又は白血病細胞、多発性骨髄腫細胞、若しくはリンパ腫細胞などの腫瘍細胞であってもよい。抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物は、例えば、薬学的に許容される担体及び場合により、本明細書に記載又は例示される任意のそのような担体、補助剤、又は賦形剤などの1つ又は複数の補助剤又は賦形剤と共に組成物中に含まれていてもよい。前記方法を、in vitro、ex vivo、in vivo、又はin situで実行することができる。

40

#### 【0108】

抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物を使用して、CD38を表面に発現する細胞を含む、及び/又は少なくとも部分的には、それにより媒介される腫瘍を有する対象を処置することもできる。いくつかの態様において、CD38を表面に発現する細胞を含む腫瘍を処置するための方法は一般に、それを必要とする対象に、対象中の腫瘍を処置するのに有効な量の抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物を投与

50

する工程を含む。有効な処置は、例えば、腫瘍中のCD38陽性細胞の増殖を阻害すること、若しくは減少させること、及び/又は腫瘍中のCD38陽性細胞のアポトーシスを誘導することを含んでもよい。CD38に特異的に結合する抗体は、本明細書に記載又は例示される任意の抗体であってもよい。弱毒化インターフェロンアルファ2bは、IFN-アルファ2b A145D又はIFN-アルファ2b A145Gを含んでもよい。抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物は、例えば、薬学的に許容される担体及び場合により、本明細書に記載又は例示される任意のそのような担体、補助剤、又は賦形剤などの1つ又は複数の補助剤又は賦形剤と共に組成物中に含まれていてもよい。

#### 【0109】

抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物又はそのような構築物を含む組成物を、組成物の構築物を血液に投与することによって腫瘍に投与することができる。抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物又はそのような構築物を含む組成物を、構築物が血流を介して、及び/又は腫瘍細胞中に拡散するように投与することができる。構築物は、腫瘍細胞により内在化されてもよい。

#### 【0110】

腫瘍の処置における抗CD38抗体又は抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物の使用が提供される。抗CD38抗体又は抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物を使用して腫瘍を処置するための方法が提供される。本明細書に記載又は例示される任意の抗CD38抗体又は抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物を使用することができる。処置することができる腫瘍としては、限定されるものではないが、AIDS関連がん、聴神経腫、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、腺嚢癌腫、副腎皮質がん、特発性骨髄化生、脱毛症、胞巣状軟部肉腫、肛門がん、血管肉腫、再生不良性貧血、星状細胞腫、毛細血管拡張性運動失調症、基底細胞癌(皮膚)、膀胱がん、骨がん、腸がん、脳幹グリオーマ、脳腫瘍及びCNS腫瘍、乳がん、CNS腫瘍、カルチノイド腫瘍、子宮頸がん、小児脳腫瘍、小児がん、小児白血病、小児軟部組織肉腫、軟骨肉腫、絨毛癌、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、結腸直腸がん、皮膚T細胞リンパ腫、隆起性皮膚線維肉腫、線維形成性小円形細胞腫瘍、腺管癌、内分泌がん、子宮内膜がん、上衣腫、食道がん、ユーイング肉腫、肝外胆管がん、眼のがん、眼:メラノーマ、網膜芽腫、卵管がん、ファンコニ貧血、線維肉腫、胆嚢がん、胃がん(gastric cancer)、消化管がん、消化管カルチノイド腫瘍、泌尿生殖器がん、胚細胞腫瘍、妊娠性絨毛性疾患、グリオーマ、婦人科がん、血液悪性腫瘍、ヘアリー細胞白血病、頭頸部がん、肝細胞がん、遺伝性乳がん、組織球増殖症、ホジキン病、ヒトパピローマウイルス、胞状奇胎、高カルシウム血症、下咽頭がん、眼内メラノーマ、島細胞がん、カポジ肉腫、腎臓がん、ランゲルハンス細胞組織球増殖症、喉頭がん、平滑筋肉腫、白血病、リー・フラウメニ症候群、口唇がん、脂肪肉腫、肝臓がん、肺がん、リンパ浮腫、リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、男性乳がん、腎臓の悪性ラブドイド腫瘍、髄芽腫、メラノーマ、メルケル細胞がん、中皮腫、転移がん、口腔がん、多発性内分泌腺腫、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、多発性骨髄腫、骨髄増殖性障害、鼻腔がん、鼻咽頭がん、腎芽細胞腫、神経芽細胞腫、神経線維腫症、ナイミーヘン染色体不安定症候群、非メラノーマ皮膚がん、非小細胞肺がん(NSCL

C)、眼がん、食道がん、口腔がん、中咽頭がん、骨肉腫、オストミー卵巣がん(ostomy ovarian cancer)、腭臓がん、副鼻腔がん、副甲状腺がん、耳下腺がん、陰茎がん、末梢神経外胚葉腫瘍、下垂体がん、真性赤血球増加症、前立腺がん、珍しいがん及び関連する障害、腎細胞癌、網膜芽腫、横紋筋肉腫、ロトムンド・トムソン症候群、唾液腺がん、肉腫、神経鞘腫、セザリー症候群、皮膚がん、小細胞肺がん(SCLC)、小腸がん、軟部組織肉腫、脊髄腫瘍、扁平上皮癌(皮膚)、胃がん(stomach cancer)、滑膜肉腫、精巣がん、胸腺がん、甲状腺がん、移行上皮がん(膀胱)、移行上皮がん(腎盂/尿管)、トロホブラストがん、尿道がん、泌尿器系がん、ウロプラキン(uroplakin)、子宮肉腫、子宮がん、膣がん、外陰がん、ワルデンストレームマクログロブリン血症並びにウィルムス腫瘍が挙げられる。ある実施形態において、腫瘍は多発性骨髄腫又は非ホジキンリンパ腫の群から選択され

10

20

30

40

50

る。

#### 【0111】

好ましい態様において、前記方法は、それを必要とする対象における多発性骨髄腫、白血病、又はリンパ腫の処置のために使用される。そのような方法は、対象を、オールトランス型レチノイン酸などのレチノイドで処置することをさらに含んでもよい。細胞表面に結合した抗原がCD38であるいくつかの好ましい態様においては、腫瘍又はがんを、多発性骨髄腫、非ホジキンリンパ腫、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病又は急性骨髄性白血病から選択することができる。

#### 【0112】

抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物を、他の薬物と組み合わせる、及び/又は放射線療法若しくは手術などの、他のがん処置レジメン若しくはモダリティに加えて使用することができる。抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物が公知の治療剤と組み合わせて使用される場合、その組合せを順番に(連続的に、若しくは処置なしの期間で分割して)、又は同時に、又は混合物として投与することができる。がんの場合、本文脈で用いることができるいくつかの公知の抗がん剤がある。組合せ処置はまた、例えば、維持療法として、抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物による処置、次いで、公知の処置、又は公知の薬剤による処置、次いで、抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物による処置を包含することも企図される。例えば、がんの処置においては、抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物を、アルキル化剤(メクロレタミン、シクロホスファミド、クロラムブシル、イフォスファミドシスプラチン、若しくはシスプラチン、カルボプラチン及びオキサリプラチンなどの白金含有アルキル化剤など)、代謝拮抗剤(プリン若しくはピリミジン類似体又はアザチオプリン及びメルカプトプリンなどの抗葉酸剤など)、アントラサイクリン(ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシンイダルビシン、バルルビシン、ミトキサントロン、若しくはアントラサイクリン類似体など)、植物アルカロイド(ビンカルカロイド又はビンクリスチン、ビンブラスチン、ビノレルビン、ビンデシン、パクリタキセル若しくはドセタキセルなどのタキサンなど)、トポイソメラーゼ阻害剤(I型若しくはII型トポイソメラーゼ阻害剤など)、ポドフィロトキシン(エトポシド若しくはテニポシドなど)、又はチロシンキナーゼ阻害剤(イマチニブメシレート、ニロチニブ、若しくはダサチニブなど)と組み合わせて投与することができることが企図される。

#### 【0113】

多発性骨髄腫の処置の場合、抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物を、デキサメタゾンなどのステロイド、プロテアソーム阻害剤(ボルテゾミブ若しくはカルフィルゾミブなど)、免疫調節薬(サリドマイド、レナリドミド若しくはポマリドミドなど)、又は誘導化学療法剤の投与、次いで、メルファラン塩酸塩などの他の化学療法剤又は上に列挙された化学療法剤を用いるか、又は用いない自己造血幹細胞移植による対象の処置などの他の好適な療法と組み合わせて投与することができる。

#### 【0114】

ホジキンリンパ腫の処置の場合、抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物を、ABVD(アドリアマイシン(ドキソルビシン)、ブレオマイシン、ビンブラスチン、及びデカルバジン)、又はStanford V(ドキソルビシン、ブレオマイシン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、メクロレタミン、エトポシド、プレドニゾン)、又はBEACOPP(ドキソルビシン、ブレオマイシン、ビンクリスチン、シクロホスファミド、プロカルバジン、エトポシド、プレドニゾン)などの現在の治療アプローチと組み合わせて投与することができる。

#### 【0115】

非ホジキンリンパ腫又は他のリンパ腫の場合、抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物を、現在の治療アプローチと組み合わせて投与することができる。非ホジキンリンパ腫のために認可された薬物の例としては、Abitrexate(メトトレキサート)、Adriamycin PFS(ドキソルビシン塩酸塩)、Adriamycin RDF(ドキソルビシン塩酸塩)

、Ambochlorin(クロラムブシル)、Amboclorin(クロラムブシル)、Arranon(ネララビン)、ベンダムスチン塩酸塩、Bexxar(トシツモマブ及びヨウ素I131トシツモマブ)、Blenoxane(ブレオマイシン)、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、クロラムブシル、Clafen(シクロホスファミド)、シクロホスファミド、Cytoxan(シクロホスファミド)、DenileukinDiftitox、DepoCyt(リポソームシタラビン)、ドキシソルビシン塩酸塩、DTIC-Dome(ダカルバジン)、Folex(メトトレキサート)、Folex PFS(メトトレキサート)、Folotyn(プララトレキサート)、イブリツモマブチウキセタン、Istodax(ロミデプシン)、Leukeran(クロラムブシル)、Linfolizin(クロラムブシル)、リポソームシタラビン、Matulane(プロカルバジン塩酸塩)、メトトレキサート、Methotrexate LPF(メトトレキサート)、Mexate(メトトレキサート)、Mexate-AQ(メトトレキサート)、Mozobil(プレリキサフォル)、ネララビン、Neosar(シクロホスファミド)、Ontak(デニロイキンジフチトックス)、プレリキサフォル、プララトレキサート、Rituxan(リツキシマブ)、リツキシマブ、ロミデプシン、トシツモマブ及びヨウ素I131トシツモマブ、Treanda(ベンダムスチン塩酸塩)、Velban(ビンブラスチン硫酸塩)、Velcade(ボルテゾミブ)、並びにVelsar(ビンブラスチン硫酸塩)、ビンブラスチン硫酸塩、Vincasar PFS(ビンクリスチン硫酸塩)、ビンクリスチン硫酸塩、ボリノスタット、Zevalin(イブリツモマブチウキセタン)、Zolanza(ボリノスタット)が挙げられる。非ホジキンリンパ腫を処置するのに使用される組合せ薬物の例としては、CHOP(C=シクロホスファミド、H=ドキシソルビシン塩酸塩(ヒドロキシダウノマイシン)、O=ビンクリスチン硫酸塩(Oncovin)、P=プレドニゾン);COPP(C=シクロホスファミド、O=ビンクリスチン硫酸塩(Oncovin)、P=プロカルバジン塩酸塩、P=プレドニゾン);CVP(C=シクロホスファミド、V=ビンクリスチン硫酸塩、P=プレドニゾン);EPOCH[E=エトポシド、P=プレドニゾン、O=ビンクリスチン硫酸塩(Oncovin)、C=シクロホスファミド、H=ドキシソルビシン塩酸塩(ヒドロキシダウノマイシン)];ICE(I=イフォスファミド、C=カルボプラチン、E=エトポシド)及びR-CHOP(R=リツキシマブ、C=シクロホスファミド、H=ドキシソルビシン塩酸塩(ヒドロキシダウノマイシン)、O=ビンクリスチン硫酸塩(Oncovin)、P=プレドニゾン)が挙げられる。

#### 【0116】

抗CD38抗体、又は抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物を使用して、CD38陽性腫瘍細胞などのCD38陽性細胞を検出することができる。いくつかの態様において、これらの構築物を、抗CD38抗体、又は抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物と、対象から単離された組織試料とを接触させる工程、及び組織試料中の抗体又は構築物とCD38陽性細胞との複合体を検出する工程を一般に含んでもよい、対象から単離された組織試料中のCD38陽性腫瘍細胞を検出するための方法において使用することができる。組織試料は、好ましくは血液である。細胞は、CD38陽性B細胞リンパ腫細胞、多発性骨髄腫細胞、非ホジキンリンパ腫細胞、慢性骨髄性白血病細胞、慢性リンパ性白血病細胞、又は急性骨髄性白血病細胞であってもよい。前記方法は、対象から組織試料を単離する工程をさらに含んでもよい。

#### 【0117】

本開示はまた、本明細書に記載及び例示される任意の抗体及び抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物を含むキットを特徴とする。キットを使用して、特に、診断、基礎研究、又は治療方法における使用のための抗体及び他の薬剤を供給することができる。

#### 【0118】

いくつかの態様において、キットは、構築物が場合により薬学的に許容される担体を含む組成物中に含まれる、抗CD38抗体-弱毒化インターフェロンアルファ-2b融合構築物と、CD38を表面に発現する腫瘍細胞の増殖を阻害するか、若しくは減少させるための1つ若しくは複数の方法、CD38を表面に発現する腫瘍細胞におけるアポトーシスを誘導するための方法、並びに/又はCD38を表面に発現する細胞を含む、及び/若しくはそれにより媒介される腫瘍を処置するための方法においてキットを使用するための説明書とを含む。そのような方法は、本明細書に記載又は例示される任意の方法であってもよい。キットは、薬学的に許容される担体を含んでもよい。キットは、薬学的に許容される補助剤及び/又は1つ若

しくは複数の薬学的に許容される賦形剤を含んでもよい。キットにおいて、抗CD38抗体は本明細書に記載又は例示される任意の抗体であってもよく、弱毒化インターフェロンアルファ-2bは本明細書に記載又は例示される任意の弱毒化インターフェロンアルファ-2bを含んでもよい。前記構築物は、注射若しくは静脈内投与できる状態にある滅菌溶液中に含まれるか、又は使用直前に担体と組み合わせることができる状態にある滅菌凍結乾燥形態を含んでもよい。

#### 【0119】

いくつかの態様において、キットは、抗CD38抗体と、対象から単離された組織試料などの試料中のCD38陽性細胞を検出するための方法においてキットを使用するための説明書とを含む。抗CD38抗体は、本明細書に記載又は例示される任意の抗体であってもよい。抗体は、場合により、弱毒化インターフェロンアルファ-2bタンパク質に融合することができる。

10

#### 【0120】

以下の実施例は、本開示をより詳細に説明するために提供される。それらは本開示を例示することを意図するものであり、限定することを意図するものではない。

#### 【実施例1】

#### 【0121】

X355/02-HC-L0-IFN-アルファ(A145D)IgG4の最適化

他の抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質は、PCT出願番号PCT/AU2012/001323に記載されている。これらのものは、このPCT出願においてX355/02-HC-L0-IFN-アルファ(A145D)IgG4と命名された抗体構築物を含む。本明細書では、X355/02-HC-L0-IFN-アルファ(A145D)IgG4は、A02.1と改名された。抗体の重鎖配列は配列番号11のアミノ酸配列を含み、軽鎖配列は配列番号12のアミノ酸配列を含む。A02.1の可変軽鎖(配列番号14)を、S228P置換(EU番号付け)を含有するヒトIgG4定常領域(配列番号3)上で形式化されたその可変重鎖A02.1(配列番号13)と同時発現した。この抗体は本明細書ではX02.1と呼ばれ、A02.1はIFN-アルファ2bとの融合物を含むが、両抗体が同一の重鎖及び軽鎖配列を共有するにも拘らず、X02.1はそれを含まない。

20

#### 【0122】

ヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子のデータベースに対するBLAST検索(Altschul SF (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389~3402頁)を、X02.1の可変重鎖のアミノ酸配列を用いて実施した。最も近いヒト生殖系列可変重鎖遺伝子は、IGHV4-61\*01(配列番号16)であった。X02.1 VHとIGHV4-61\*01のアラインメントを、図2に示す。X02.1可変重鎖領域は、その最も近い生殖系列アミノ酸配列と8アミノ酸異なる。X02.1重鎖可変領域の免疫原性を低下させるために、生殖系列アミノ酸残基置換を、生殖系列配列と異なる残基で生成し、得られる抗体バリエーションを抗CD38抗体結合活性について試験することができる。

30

#### 【0123】

X02.1親配列のいくつかの重鎖バリエーションを、図2に詳述する。これらの重鎖可変領域を、IgG4 S228P定常領域上で形式化し、A02.1軽鎖と同時発現させた。Table 1a(表2)及びTable 1b(表3)は、フローサイトメトリー及び表面プラズモン共鳴(SPR)を用いて評価した場合にヒトCD38に結合するその能力と共に試験したバリエーションの配列を詳述するものである。簡単に述べると、抗体鎖をCHO細胞中で一過的に同時発現させ、実施例5に記載のプロテインAクロマトグラフィーにより精製した。実施例5に記載のフロー結合アッセイを用いて、バリエーションを評価した。それぞれの抗体について得られた用量応答曲線のEC<sub>50</sub>も、Table 1a(表2)及びTable 1b(表3)に記載する。

40

#### 【0124】

【表 2】

Table 1a

| 抗体名     | 可変重鎖アミノ酸置換(X02.1と比較)        | 可変重鎖の配列番号 | 可変軽鎖の配列番号 | SPRによるCD38結合          | ARP-1フロー結合アッセイ(μg/mLでのEC <sub>50</sub> ) |
|---------|-----------------------------|-----------|-----------|-----------------------|------------------------------------------|
| X02.8   | L74S                        | 17        | 14        | $2.30 \times 10^{-8}$ | 18.3                                     |
| X02.9   | H40P                        | 18        | 14        | $2.63 \times 10^{-8}$ | N/T                                      |
| X02.10  | T(82A)S                     | 19        | 14        | $2.07 \times 10^{-8}$ | N/T                                      |
| X02.11  | L74S, I78F<br>R81K, T(82A)S | 20        | 14        | $2.39 \times 10^{-8}$ | 18.1                                     |
| X02.108 | I78F                        | 32        | 14        | $2.63 \times 10^{-8}$ | N/T                                      |
| X02.110 | R81K                        | 33        | 14        | $2.07 \times 10^{-8}$ | N/T                                      |

N/T - タンパク質を精製することができず、試験しなかった。

【0125】

【表 3】

Table 1b

| 抗体名    | 可変重鎖アミノ酸置換(X02.1と比較) | 可変重鎖の配列番号 | 可変軽鎖の配列番号 [Verify] | SPRによるCD38結合           | ARP-1フロー結合アッセイ(μg/mLでのEC <sub>50</sub> ) |
|--------|----------------------|-----------|--------------------|------------------------|------------------------------------------|
| X02.69 | Q2V                  | 22        | 14                 | $3.68 \times 10^{-11}$ | 16.8                                     |
| X02.71 | I29V                 | 24        | 14                 | $1.29 \times 10^{-10}$ | 3.5                                      |
| X02.78 | S32G                 | 31        | 14                 | $2.04 \times 10^{-11}$ | N/T                                      |

N/T - タンパク質は精製又は試験されなかった。

【0126】

Table 1a(表2)に詳述されたバリエーションのSPR結合を、Table 1b(表3)のものと別々に評価した。親抗体X02.1のK<sub>D</sub>(M)は、SPR結合実験において $2.7 \times 10^{-8} \sim 3.78 \times 10^{-10}$ の範囲であった。フローサイトメトリー結合実験により、抗体X02.8、X02.11、X02.69及びX02.71はCD38陽性細胞株ARP-1に強く結合することが示された。

【0127】

続いて、上記のアミノ酸置換を有する抗体を、弱毒化IFN-アルファ2bへのコンジュゲーションによる融合タンパク質の文脈で探索した(A02と呼ばれ、IFNに連結した場合、X02指定を有する同じバリエーションを表す小数点以下の数字を有する)。これらの重鎖可変領域を、A145D弱毒化IFN-アルファ2bに融合したS228P置換を含むIgG4定常領域上で形式化し、CHO又はHEK細胞中で、実施例5に記載のA02.1軽鎖と同時発現させた。次いで、細胞上清から

上手く精製されたタンパク質を、細胞株ARP-1へのフロー結合アッセイ中で試験した。それぞれの抗体に関する用量応答曲線の $EC_{50}$ 値を、Table 2(表4)に記載する。試験した全ての抗体-弱毒化IFN融合構築物は、CD38陽性細胞株ARP-1に結合した。重鎖バリエーションX02.9(IFNに融合していない)は容易に精製することができなかったが、IFNに融合した同一のバリエーション(A02.9)は精製されたことが観察された。いくつかの事例では、同等のモノクローナル抗体を発現させる、及び/又は精製することがより困難であると考えられる場合、弱毒化IFN融合タンパク質を発現及び精製することができた。

【0128】

【表4】

10

Table 2

| 抗 CD38 抗体-弱毒化 IFN 融合タンパク質 | 可変重鎖アミノ酸置換 (A02.1 と比較)    | 可変重鎖の配列番号 | 可変軽鎖の配列番号 | SPR によるプロテイン A 捕捉(RU)* | 350sec での SPR による CD38 結合(RU)* | ARP-1 フロー結合アッセイ ( $\mu\text{g/mL}$ での $EC_{50}$ ) |
|---------------------------|---------------------------|-----------|-----------|------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------|
| A02.8                     | L74S                      | 17        | 14        | 4697                   | 833                            | 1.9                                               |
| A02.9                     | H40P                      | 18        | 14        | 4718                   | 841                            | 1.0                                               |
| A02.10                    | T(82A)S                   | 19        | 14        | 4647                   | 804                            | 1.5                                               |
| A02.11                    | L74S, I78F, R81K, T(82A)S | 20        | 14        | 4483                   | 827                            | 3.5                                               |

20

\*細胞培養上清中の抗 CD38 抗体-弱毒化 IFN 融合タンパク質の量は、SPR によるプロテイン A 捕捉によって示される。SPR による CD38 結合は、解離フェーズの 350 秒後に表面に結合したままである CD38 の量を指す。

30

【0129】

A02.1可変軽鎖のアミノ酸配列を用いるBLAST検索を、ヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子のデータベースに対して実施した。最も近いヒト生殖系列可変軽鎖遺伝子はIGLV5-37\*01であった。A02.1VLとIGLV5-37\*01のアミノ酸配列アラインメントを、図3に記載する。このアラインメントは、これらの配列間の12アミノ酸の相違を例示する。

【0130】

いくつかのアミノ酸置換を、X02.1可変軽鎖中で作製した。これらの置換を、図3に示す。これらの軽鎖可変領域と、S228P置換を含有するIgG4定常領域上で形式化されたX02.1可変重鎖との同時発現を、実施例5に記載のようにCHO細胞中で実施した。

【0131】

続いて、CHO細胞上清から精製された抗体を、CD38陽性細胞株ARP-1へのフローサイトメトリーに基づく結合アッセイにおいて試験した。Table 3(表5)は、それぞれの抗体について得られた用量応答曲線の $EC_{50}$ 値を詳述する。

40

【0132】

【表 5】

Table 3

| 抗体名     | 可変軽鎖アミノ酸置換<br>(A02.1と比較) | 可変重鎖の配列番号 | 可変軽鎖の配列番号 | SPRによるCD38結合<br>(KD)   | ARP-1フロー結合アッセイ<br>( $\mu\text{g/mL}$ での $\text{EC}_{50}$ ) | プロテインA<br>HPLC<br>$\text{mg/L}$ |
|---------|--------------------------|-----------|-----------|------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| X02.95  | A2P                      | 13        | 53        | $4.40 \times 10^{-12}$ | N/T                                                        | 11.1                            |
| X02.96  | A8P                      | 13        | 54        | $2.50 \times 10^{-10}$ | 30.0                                                       | 19.9                            |
| X02.97  | L11S                     | 13        | 55        | $7.51 \times 10^{-12}$ | 低結合                                                        | 15.0                            |
| X02.98  | R29S                     | 13        | 56        | $5.84 \times 10^{-12}$ | N/T                                                        | 8.7                             |
| X02.99  | Y30S                     | 13        | 57        | $3.21 \times 10^{-12}$ | 4.4                                                        | 11.5                            |
| X02.100 | H(54A)D                  | 13        | 58        | $1.60 \times 10^{-7}$  | 低結合                                                        | 18.9                            |
| X02.101 | V(66B)A                  | 13        | 59        | $2.89 \times 10^{-11}$ | 13.7                                                       | 21.0                            |
| X02.102 | T68A                     | 13        | 60        | $1.20 \times 10^{-10}$ | 20.4                                                       | 18.0                            |
| X02.103 | S70T                     | 13        | 61        | $1.28 \times 10^{-9}$  | 9.4                                                        | 27.9                            |
| X02.104 | T90I                     | 13        | 62        | $1.0 \times 10^{-8}$   | 9.7                                                        | 23.1                            |
| X02.105 | S92P                     | 13        | 63        | $3.31 \times 10^{-8}$  | 12.7*                                                      | 19.3                            |
| X02.106 | G95A                     | 13        | 64        | $4.47 \times 10^{-8}$  | N/T                                                        | 11.6                            |

N/T - タンパク質は精製又は試験されなかった。

低結合 - 最小の結合が観察され、 $\text{EC}_{50}$  値にとって十分ではなかった。

\*抗体を H929 細胞株に対するフロー結合アッセイにおいて試験した。報告される値は  $\mu\text{g/mL}$  での  $\text{EC}_{50}$  である。

## 【0133】

抗体X02.96、X02.99、X02.101、X02.102、X02.103及びX02.104はCD38陽性ARP-1細胞株に強く結合した。X02.105は、CD38陽性H929細胞株に強く結合することができた。

## 【0134】

X02.1及びA02.1の可変重鎖配列のアミノ酸配列分析により、酸化又は異性化を潜在的に受け得るアミノ酸が同定された。これらのものは、D101に潜在的な異性化部位及びM(100C)に潜在的な酸化部位を含む。潜在的な異性化及び酸化部位を除去するために、以下のようなアミノ酸置換を作製した:D(101)E(配列番号30)、M(100C)L(配列番号29)及びD(101)EとM(100C)Lの双方の組合せ(配列番号27)(図2)。Table 4(表6)に示されるように可変重鎖中でこれらのアミノ酸置換の組合せを用いて抗体を作製した。抗体重鎖可変領域を、S228 P置換を含有するIgG4定常領域を用いて形式化し、CHO細胞中でA02.1軽鎖と同時発現させた。次いで、抗体をプロテインAクロマトグラフィーにより精製し、フローサイトメトリーによりARP-1細胞への結合についてスクリーニングした。得られた結合データを、Table 4(表6)に示す。

## 【0135】

【表 6】

Table 4

| 抗体名    | 可変重鎖アミノ酸置換<br>(X02.1と比較) | 可変重鎖の配列番号 | 可変軽鎖の配列番号 | SPRによるCD38結合 (KD)      | ARP-1 フロー結合アッセイ<br>( $\mu\text{g/mL}$ での $\text{EC}_{50}$ ) | プロテイン A HPLC<br>mg/L |
|--------|--------------------------|-----------|-----------|------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------|
| X02.76 | M(100C)L                 | 29        | 14        | $1.58 \times 10^{-13}$ | 4.1                                                         | 24.8                 |
| X02.77 | D101E                    | 30        | 14        | $9.11 \times 10^{-12}$ | 3.7                                                         | 15.6                 |
| X02.74 | M(100C)L,<br>D101E       | 27        | 14        | $6.85 \times 10^{-11}$ | N/T                                                         | 21.8                 |

N/T - タンパク質は精製又は試験されなかった。

## 【0136】

抗体X02.76及びX02.77はARP-1細胞株へのその強い結合を維持したが、これは、X02.1及びA02.1重鎖中の潜在的な酸化部位及び異性化部位を除去するためのアミノ酸置換がそのCD38結合活性に対してほとんど影響しなかったことを示している。抗体X02.74を形成するためのこれらの置換の組合せは、実施例5におけるプロトコルを用いて精製しなかった抗体をもたらした。

## 【0137】

X02.1及びA02.1の可変軽鎖配列のアミノ酸分析により、酸化又は脱アミド化を潜在的に受け得るアミノ酸が同定された。これらのものは、N69に潜在的な脱アミド化部位及びM89に潜在的な酸化部位を含んでいた。さらに、推定N結合グリコシル化部位は、N94位で軽鎖のCDR3内に存在すると予測された。N結合グリカンの存在は、治療タンパク質における不均一性を引き起こし、開発を複雑化し得る。これらの潜在的な問題を除去するために、以下の点バリエーションを合成した：N69A(配列番号39)、M89L(配列番号52)及びM89I(配列番号51)、N94T(配列番号48)、N94Q(配列番号38)、G95P(配列番号50)及びS96A(配列番号45)(図3を参照されたい)。抗体を、Table 5(表7)に記載のようにCHO細胞中での重鎖と軽鎖の同時発現によって作成した。抗体をプロテインAクロマトグラフィーにより精製し、フローサイトメトリーによりARP-1細胞への結合についてスクリーニングした。得られた結合データを、Table 5(表7)に提示する。

## 【0138】

10

20

30

【表 7】

Table 5

| 抗体名    | 可変軽鎖アミノ酸置換<br>(A02.1と比較) | 可変重鎖の配列番号 | 可変軽鎖の配列番号 | SPR による<br>CD38 結合     | ARP-1 フロー結合<br>アッセイ<br>( $\mu\text{g/mL}$ での $\text{EC}_{50}$ ) | プロテイン A<br>HPLC<br>mg/L |
|--------|--------------------------|-----------|-----------|------------------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------|
| X02.81 | N69A                     | 13        | 39        | $2.67 \times 10^{-10}$ | N/T                                                             | 12.6                    |
| X02.93 | M89I                     | 13        | 51        | $2.56 \times 10^{-11}$ | 18.7                                                            | 20.0                    |
| X02.94 | M89L                     | 13        | 52        | $3.48 \times 10^{-12}$ | 8.7                                                             | 18.9                    |
| X02.90 | N94T                     | 13        | 48        | $5.52 \times 10^{-10}$ | 26.2                                                            | 23.0                    |
| X02.80 | N94Q                     | 13        | 38        | $1.44 \times 10^{-9}$  | 13.2                                                            | 30.3                    |
| X02.92 | G95P                     | 13        | 50        | 低結合                    | 低結合                                                             | 18.1                    |
| X02.87 | S96A                     | 13        | 45        | $1.99 \times 10^{-9}$  | 37.5                                                            | 18.9                    |

N/T - タンパク質は精製又は試験されなかった。

低結合 - 最小の結合が観察され、 $\text{EC}_{50}$  又は KD 値にとって十分ではなかった。

## 【0139】

X02.94はCD38陽性細胞株ARP-1に結合したが、これは、M89L置換がCD38結合活性にほとんど影響しなかったことを示している。抗体X02.80中でのN94Q置換は、潜在的なN結合グリコシル化モチーフを除去し、フローサイトメトリーにより測定された場合、CD38結合活性に対する影響は最小であった(Table 5(表7))。このグリコシル化モチーフを除去する他の置換は、容易に精製することができない抗体又はCD38陽性細胞株ARP-1への減衰した結合を示す抗体をもたらした。69位の潜在的な脱アミド化部位を、アラニンへの置換により除去したが、この抗体(X02.81)は容易に精製されなかった。

## 【0140】

X02.1可変重鎖バリエーションを含む、試験した他の抗体を、Table 6(表8)に列挙する。これらの重鎖可変領域を、S228P置換を含有するIgG4定常領域上で形式化した。これらの重鎖を、CHO細胞中でA02.1軽鎖と同時発現させた。抗体を発現させ、得られる抗体を、CD38陽性細胞ARP-1への結合についてフローサイトメトリーに基づくアッセイにおいて試験した。T23K(配列番号21;X02.68)を除いて、全ての可変重鎖置換が、フローサイトメトリーに基づくアッセイにおいてCD38陽性細胞株ARP-1への結合に対する影響は最小であった。

## 【0141】

【表 8】

Table 6

| 抗体名    | 可変重鎖アミノ酸置換<br>(X02.1と比較) | 可変重鎖の配列番号 | 可変軽鎖の配列番号 | SPR による<br>CD38 結合     | ARP-1 フロー結合<br>アッセイ<br>( $\mu\text{g/mL}$ での<br>$\text{EC}_{50}$ ) | プロテイン A<br>HPLC<br>$\text{mg/L}$ |
|--------|--------------------------|-----------|-----------|------------------------|--------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| X02.73 | S19K                     | 26        | 14        | $3.85 \times 10^{-10}$ | 4.3                                                                | 20.6                             |
| X02.68 | T23K                     | 21        | 14        | $1.06 \times 10^{-11}$ | N/T                                                                | 17.0                             |
| X02.70 | V71R                     | 23        | 14        | $3.54 \times 10^{-9}$  | 7.2                                                                | 32.8                             |
| X02.75 | T73K                     | 28        | 14        | $6.38 \times 10^{-10}$ | 4.9                                                                | 17.8                             |
| X02.72 | T83R                     | 25        | 14        | $1.63 \times 10^{-9}$  | 3.6                                                                | 30.6                             |

N/T - タンパク質は精製又は試験されなかった。

## 【0142】

X02.1配列中に他の軽鎖可変領域置換を含む抗体も生成した。これらのバリエーション軽鎖を、S228P置換を含有するIgG4定常領域上で形式化されたX02.1重鎖と組み合わせて、実施例5に記載のようにCHO細胞中で発現させた。これらの抗体バリエーションを生成するために用いられた重鎖と軽鎖の概要を、Table 7(表9)に記載する。抗体X02.83、X02.85、X02.91、X02.82は、CD38陽性細胞株ARP-1に強く結合した。

## 【0143】

【表 9】

Table 7

| 抗体名     | 可変軽鎖アミノ酸置換<br>(A02.1 と比較)                                    | 可変重鎖の配列番号 | 可変軽鎖の配列番号 | SPR による<br>CD38 結合        | ARP-1 フロー結合<br>アッセイ<br>( $\mu\text{g/mL}$ での $\text{EC}_{50}$ ) | プロテイン A<br>HPLC<br>$\text{mg/L}$ |
|---------|--------------------------------------------------------------|-----------|-----------|---------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| X02.83  | E17A                                                         | 13        | 41        | $2.69 \times 10^{-9}$     | 8.2                                                             | 32.8                             |
| X02.86  | D(27A)G                                                      | 13        | 44        | $4.28 \times 10^{-9}$     | 120.4                                                           | 30.0                             |
| X02.85  | $\Delta\text{D(L66A)}^{***}$<br>$\Delta\text{V(L66B)}^{***}$ | 13        | 43        | $2.70 \times 10^{-10}$    | 6.3                                                             | 17.6                             |
| X02.107 | E83I, D85T                                                   | 13        | 65        | $2.47 \times 10^{-8\#\#}$ | N/T                                                             | 10.0*                            |
| X02.91  | P26R                                                         | 13        | 49        | $7.07 \times 10^{-10}$    | 17.6                                                            | 21.1                             |
| X02.88  | N32R                                                         | 13        | 46        | 低結合                       | 低結合                                                             | 33.5                             |
| X02.82  | Y49R                                                         | 13        | 40        | N/T                       | 3.8                                                             | 27.9                             |
| X02.89  | Y51R                                                         | 13        | 47        | 低結合                       | 結合なし                                                            | 25.7                             |
| X02.84  | Y49R, Y51R                                                   | 13        | 42        | 低結合                       | 結合なし                                                            | 35.0                             |

N/T - タンパク質は精製又は試験されなかった。

低結合 - 最小の結合が観察され、 $\text{EC}_{50}$  値にとって十分ではなかった。

\*\*\* $\Delta$  は、A02.1 軽鎖中に存在するこのアミノ酸がこの配列から除去されたことを示す。

\*SPR によるプロテイン A 捕捉レベルに基づくタンパク質見積もり値

## X02.107 の SPR 結合を、親抗体 X02.1 の KD が  $2.7 \times 10^{-8}$  である別の実験において評価した。親抗体 X02.1 の KD は、試験した他の全ての抗体に関する SPR 結合実験においては  $3.78 \times 10^{-10}$  である。

## 【0144】

続いて、CD38結合活性及びX02バリエーション抗体の精製にほとんど影響しない置換をA145D弱毒化IFN- $\alpha$ 2bへの融合により武装抗体として生成した。X02.1軽鎖置換を組み合わせ、得られたバリエーションを、Table 8(表10)に列挙されるように、HEK293E細胞中でX02.1重鎖の点バリエーション及び組合せバリエーションと同時発現させた。これらの抗体は主に、潜在的なX02.1軽鎖脱アミド化部位、X02.1重鎖のCDR3に由来する酸化部位及びin silico分析(Epipbase、Lonza社、UK)により予測されたX02.1重鎖のフレームワーク領域3に由来する推定強力MHCクラスII結合ペプチドを除去することに焦点を当てたものであった。図4。

## 【0145】

【表 10】

Table 8

| 抗 CD38 抗体-<br>弱毒化 IFN 融合<br>タンパク質 | 可変重鎖アミノ<br>酸置換(A02.1 と<br>比較)             | 可変重鎖の配<br>列番号 | 可変軽鎖アミノ<br>酸置換(A02.1<br>と比較) | 可変軽鎖の配<br>列番号 |
|-----------------------------------|-------------------------------------------|---------------|------------------------------|---------------|
| A02.2                             | None                                      | 13            | E83I, D85T                   | 65            |
| A02.3                             | L74S                                      | 17            | E83I, D85T                   | 65            |
| A02.4                             | H40P                                      | 18            | E83I, D85T                   | 65            |
| A02.5                             | T(82A)S                                   | 19            | E83I, D85T                   | 65            |
| A02.6                             | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S              | 20            | E83I, D85T                   | 65            |
| A02.12                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T                   | 65            |
| A02.13                            | H40P, L74S,<br>I78F, R81K,<br>T(82A)S     | 35            | E83I, D85T                   | 65            |
| A02.37                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>M89L          | 66            |
| A02.46                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>N69Q          | 67            |
| A02.47                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>N69T          | 68            |
| A02.48                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>N69G          | 69            |
| A02.49                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>N69H          | 70            |
| A02.50                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>N69K          | 71            |
| A02.51                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>N69P          | 72            |

【0146】

Table 8(表10)に列挙された抗体を、表面プラズモン共鳴(SPR)によりタンパク質発現及びCD38への結合について分析した。また、効力アッセイを、トランスフェクトされた細胞から取得された細胞培養上清を用いて実施して、実施例5に概略されるように、これらの抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質のそれぞれの相対活性を評価した。得られたデータ

を、Table 9(表11)に記載する。

【0147】

【表11】

Table 9

| 抗 CD38 抗体-弱毒化 IFN 融合タンパク質 | プロテイン A HPLC (mg/L) | 350sec での SPR による CD38 結合 (RU)* | アネキシン V アッセイ (未処理の細胞と比較した倍数変化) | カスパーゼ アッセイ (未処理の細胞と比較した倍数変化) | 細胞増殖アッセイ IC <sub>50</sub> (pM) |
|---------------------------|---------------------|---------------------------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| A02.2                     | 30.2                | 756                             | N/T                            | N/T                          | N/T                            |
| A02.3                     | 21.6                | 835                             | N/T                            | N/T                          | N/T                            |
| A02.4                     | 27.3                | 809                             | N/T                            | N/T                          | N/T                            |
| A02.5                     | 22.0                | 788                             | N/T                            | N/T                          | N/T                            |
| A02.6                     | 33.7                | 895                             | N/T                            | N/T                          | N/T                            |
| A02.12                    | 25.3                | N/A                             | 2.7                            | 7.0                          | 236                            |
| A02.46                    | 3.1                 | 914                             | 2.2                            | 5.8                          | 1190                           |
| A02.47                    | 26.5                | 1455                            | 3.10                           | 4.44                         | N/T                            |
| A02.48                    | 3.4                 | 921                             | 2.0                            | 5.6                          | 562                            |
| A02.49                    | 3.0                 | 946                             | 2.1                            | 5.5                          | 875                            |
| A02.50                    | 3.1                 | 809                             | 1.9                            | 6.1                          | 1681                           |
| A02.51                    | 1.8                 | 368                             | 2.0                            | 5.8                          | 3741                           |

SPR による CD38 結合は、解離フェーズの 350 秒後に表面に結合したままである CD38 の量を指す。アネキシン V アッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後にアネキシン V-FITC により陽性に染色される細胞を指す。カスパーゼアッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。N/A - 利用可能でない;N/T - 試験せず。

【0148】

試験したタンパク質のうち、A02.12は良好に発現され、アネキシンV、カスパーゼ及び細胞増殖アッセイにおいて効力を示した。抗体A02.47中でのN69Tの置換は、アネキシンV又はカスパーゼアッセイにおいて発現レベル又は効力に影響しなかったが、これは、この脱アミド化部位の除去が可能であることを示している。N69T置換を本明細書に記載の他の構築物に組み込んで、得られる抗体の機能的活性の喪失を最小にしながら、この推定脱アミド化部位を除去することができた。

【実施例2】

【0149】

A02.1軽鎖アミノ酸配列のin silico免疫原性分析

推定免疫原性エピトープを、Epibase分析ソフトウェア(Lonza社、UK)を用いてA02.1の軽鎖可変領域アミノ酸配列中で同定した。推定免疫原性エピトープを除去するために、A02.1可変軽鎖中に置換を導入した(図4)。より低い推定免疫原性を有する軽鎖を、A145D-弱毒化IFNに融合したS228P置換を含有するIgG4定常領域上で形式化されたA02.12重鎖可変領域(配列番号34)と共にHEK293E細胞中で同時発現させた。生成された抗体バリエーションを、Table 10(表12)に詳述する。

【0150】

【表 1 2 A】

Table 10

| 抗 CD38 抗体-<br>弱毒化 IFN 融合<br>タンパク質 | 可変重鎖アミノ<br>酸置換(A02.1 と<br>比較)             | 可変重鎖の配<br>列番号 | 可変軽鎖アミノ<br>酸置換(A02.1 と<br>比較) | 可変軽鎖の配<br>列番号 |
|-----------------------------------|-------------------------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|
| A02.18                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>L47E           | 73            |
| A02.19                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>L47G           | 74            |
| A02.20                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>L47N           | 75            |
| A02.21                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>L47P           | 76            |
| A02.22                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>L47S           | 77            |
| A02.23                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>L48E           | 78            |
| A02.24                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>L48P           | 79            |
| A02.25                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>Y49E           | 80            |
| A02.26                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>Y49Q           | 81            |
| A02.27                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>Y50P           | 82            |
| A02.28                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>Y50N           | 83            |
| A02.29                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>Y50T           | 84            |

【0 1 5 1】

【表 1 2 B】

| 抗 CD38 抗体-<br>弱毒化 IFN 融合<br>タンパク質 | 可変重鎖アミノ<br>酸置換(A02.1<br>と比較)              | 可変重鎖の配列<br>番号 | 可変軽鎖アミノ<br>酸置換(A02.1<br>と比較) | 可変軽鎖の配列<br>番号 |
|-----------------------------------|-------------------------------------------|---------------|------------------------------|---------------|
| A02.30                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>Y51D          | 85            |
| A02.31                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>S52E          | 86            |
| A02.32                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>S52H          | 87            |
| A02.33                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>S52Q          | 88            |
| A02.34                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>H(54A)N       | 89            |
| A02.35                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>H(54A)P       | 90            |
| A02.36                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | E83I, D85T,<br>K(54B)D       | 91            |

10

20

30

## 【0 1 5 2】

上記抗体を、SPRによりタンパク質発現、CD38への結合について分析し、実施例5に記載のように細胞培養上清スクリーニングを用いて効力について分析した。これらのアッセイの結果を、Table 11(表13)に詳述する。これらのデータは、抗体の予測される免疫原性を低下させるためのいくつかの残基の置換により、アネキシンV、カスパーゼ及び細胞増殖アッセイにおいて発現し、機能的効力を有する抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質が得られることを示している。

## 【0 1 5 3】

【表 13】

Table 11

| 抗 CD38 抗体-弱毒化 IFN 融合タンパク質 | プロテイン A HPLC (mg/L) | 350sec での SPR による CD38 結合(RU)* | アネキシン V アッセイ (未処理の細胞と比較した倍数変化) | カスパーゼ アッセイ(未処理の細胞と比較した倍数変化) | 細胞増殖アッセイ IC <sub>50</sub> (pM) |
|---------------------------|---------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| A02.18                    | 9.3                 | 745                            | N/T                            | N/T                         | N/T                            |
| A02.19                    | 8.0                 | 741                            | N/T                            | N/T                         | N/T                            |
| A02.20                    | 9.1                 | N/T                            | 2.2                            | 5.6                         | 37                             |
| A02.21                    | 3.3                 | DNB                            | N/T                            | N/T                         | N/T                            |
| A02.22                    | 10.4                | 738                            | N/T                            | N/T                         | N/T                            |
| A02.23                    | 15.9                | 192                            | 2.7                            | 6.9                         | N/T                            |
| A02.24                    | 23.5                | 87                             | 1.4                            | 2.3                         | N/T                            |
| A02.25                    | 25.7                | 80                             | 3.0                            | 4.3                         | 2477                           |
| A02.26                    | 35.0                | 383                            | 3.2                            | 6.0                         | 66                             |
| A02.27                    | 12.3                | DNB                            | 1.3                            | 2.5                         | 29910                          |
| A02.28                    | 16.1                | 422                            | 2.7                            | 6.3                         | N/T                            |
| A02.29                    | 19.7                | 150                            | 2.7                            | 5.8                         | 133                            |
| A02.30                    | 25.2                | 122                            | 1.9                            | 2.5                         | N/T                            |
| A02.31                    | 28.4                | 359                            | 3.0                            | 7.1                         | 514                            |
| A02.32                    | 13.5                | 663                            | 2.7                            | 7.7                         | 60                             |
| A02.33                    | 11.2                | 107                            | N/T                            | N/T                         | N/T                            |
| A02.34                    | 16.6                | 407                            | 4.8                            | 5.1                         | 503                            |
| A02.35                    | 11.2                | 738                            | 2.4                            | 4.8                         | 3050                           |
| A02.36                    | 16.7                | 192                            | 2.8                            | 8.0                         | N/T                            |

SPR による CD38 結合は、解離フェーズの 350 秒後に表面に結合したままである CD38 の量を指す。アネキシン V アッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後にアネキシン V-FITC により陽性に染色される細胞を指す。カスパーゼアッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。DNB - 結合しなかった;N/T - 試験せず。

## 【実施例 3】

## 【0154】

複数のアミノ酸置換はA02.1バリエーションの最適化をもたらす

単一の遺伝子構築物中で上記の抗CD38抗体の免疫原性、製造性又は効力を改善する置換を組み合わせることにより、高度に最適化された抗CD38抗体及び抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質を取得した。Table 12(表14)は、そのような組合せ置換をまとめたものであり、HEK293E細胞中で同時発現された後、試験された重鎖と軽鎖との組合せを詳述するものである。

## 【0155】

10

20

30

40

50

【表 1 4 A】

Table 12

| 抗 CD38 抗体-<br>弱毒化 IFN 融合<br>タンパク質 | 可変重鎖アミノ<br>酸置換(A02.1 と<br>比較)             | 可変重鎖の配<br>列番号 | 可変軽鎖アミノ<br>酸置換(A02.1<br>と比較)                            | 可変軽鎖の配列<br>番号 |
|-----------------------------------|-------------------------------------------|---------------|---------------------------------------------------------|---------------|
| A02.16                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | R29G, Y30S<br>E83I, D85T,<br>M89L, N94Q                 | 92            |
| A02.17                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | R29G, Y30S<br>E83I, D85T,<br>M89L, N94E                 | 93            |
| A02.52                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | R29G, Y30S,<br>S52Q, E83I,<br>D85T, M89L,<br>N94E       | 94            |
| A02.53                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | Y30S, S52Q,<br>E83I, D85T,<br>M89L, N94E                | 95            |
| A02.54                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | R29G, Y30S,<br>S52Q, E83I,<br>D85T, M89L,<br>N94Q       | 96            |
| A02.55                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | Y30S, S52Q,<br>E83I, D85T,<br>M89L, N94Q                | 97            |
| A02.56                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | R29G, Y30S,<br>S52E, M89L,<br>E83I, D85T,<br>N94E       | 98            |
| A02.57                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | Y30S, S52E,<br>E83I, D85T,<br>M89L, N94E                | 99            |
| A02.58                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | R29G, Y30S,<br>S52E, E83I,<br>D85T, M89L,<br>N94Q       | 100           |
| A02.59                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | Y30S, S52E,<br>E83I, D85T,<br>M89L, N94Q                | 101           |
| A02.60                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | R29G, Y30S,<br>S52Q, N69Q,<br>E83I, D85T,<br>M89L, N94E | 102           |

【表 1 4 B】

| 抗 CD38 抗体-<br>弱毒化 IFN 融合<br>タンパク質 | 可変重鎖アミノ<br>酸置換(A02.1<br>と比較)              | 可変重鎖の配列<br>番号 | 可変軽鎖アミノ<br>酸置換(A02.1<br>と比較)                            | 可変軽鎖の配列<br>番号 |
|-----------------------------------|-------------------------------------------|---------------|---------------------------------------------------------|---------------|
| A02.61                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | Y30S, S52Q,<br>N69Q, E83I,<br>D85T, M89L,<br>N94E       | 103           |
| A02.62                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | R29G, Y30S,<br>S52Q, N69Q,<br>E83I, D85T,<br>M89L, N94Q | 104           |
| A02.63                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | Y30S, S52Q,<br>N69Q, E83I,<br>D85T, M89L,<br>N94Q       | 105           |
| A02.64                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | R29G, Y30S,<br>S52E, N69Q,<br>E83I, D85T,<br>M89L, N94E | 106           |
| A02.65                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | Y30S, S52E,<br>N69Q, E83I,<br>D85T, M89L,<br>N94E       | 107           |
| A02.66                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | R29G, Y30S,<br>S52E, N69Q,<br>E83I, D85T,<br>M89L, N94Q | 108           |
| A02.67                            | L74S, I78F,<br>R81K, T(82A)S,<br>M(100C)L | 34            | Y30S, S52E,<br>N69Q, E83I,<br>D85T, M89L,<br>N94Q       | 109           |

## 【 0 1 5 7 】

Table 12(表14)に記載されたそれぞれの抗体を、SPRによりタンパク質発現、CD38への結合について分析し、細胞培養上清を用いて効力について分析した。得られたデータを、Table 13(表15)に記載する。これらの結果は、in silicoで有益であると予測される置換を組み合わせることにより、アネキシンV、カスパーゼ及び細胞増殖アッセイにおいて発現し、機能的効力を有するいくつかの抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質が得られたことを示している。

## 【 0 1 5 8 】

10

20

30

40

【表 15】

Table 13

| 抗 CD38 抗体-弱毒化 IFN 融合タンパク質 | プロテイン A HPLC (mg/L) | 350sec での SPR による CD38 結合 (RU)* | アネキシン V アッセイ (未処理の細胞と比較した倍数変化) | カスパーゼ アッセイ (未処理の細胞と比較した倍数変化) | 細胞増殖アッセイ IC <sub>50</sub> (pM) |
|---------------------------|---------------------|---------------------------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| A02.14                    | 8.1                 | 1247                            | 2.18                           | 5.47                         | 398                            |
| A02.15                    | 29.6                | 1409                            | 3.92                           | 5.62                         | 491                            |
| A02.16                    | 5.7                 | 1050                            | 2.4                            | 7.9                          | 636                            |
| A02.17                    | 10.0                | 1103                            | 3.7                            | 5.7                          | 467                            |
| A02.52                    | 2.8                 | 416                             | 2.0                            | 5.4                          | 2665                           |
| A02.53                    | 3.0                 | 545                             | 2.2                            | 4.7                          | 6338                           |
| A02.54                    | 1.8                 | 250                             | 1.9                            | 5.9                          | 15350                          |
| A02.55                    | 2.1                 | 436                             | 2.2                            | 4.5                          | 12740                          |
| A02.56                    | 2.0                 | 178                             | 1.7                            | 4.3                          | 13860                          |
| A02.57                    | 2.7                 | 345                             | 2.5                            | 6.6                          | 6363                           |
| A02.58                    | 2.3                 | 273                             | 1.9                            | 4.9                          | 9142                           |
| A02.59                    | 1.2                 | 388                             | 2.0                            | 4.7                          | 6176                           |
| A02.60                    | 1.3                 | DNB                             | 1.5                            | 3.3                          | 185600                         |
| A02.61                    | 1.2                 | DNB                             | 1.7                            | 4.1                          | 65160                          |
| A02.62                    | 1.3                 | DNB                             | 1.8                            | 5.0                          | 55590                          |
| A02.63                    | 1.2                 | DNB                             | 1.7                            | 3.4                          | 152100                         |
| A02.64                    | 1.1                 | DNB                             | 1.8                            | 3.2                          | 89120                          |
| A02.65                    | 1.4                 | DNB                             | 1.6                            | 4.1                          | 37240                          |
| A02.66                    | 1.3                 | DNB                             | 1.6                            | 4.0                          | 57540                          |
| A02.67                    | 1.6                 | DNB                             | 2.3                            | 3.9                          | 82760                          |

SPR による CD38 結合は、解離フェーズの 350 秒後に表面に結合したままである CD38 の量を指す。アネキシン V アッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後にアネキシン V-FITC により陽性に染色される細胞を指す。カスパーゼアッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。DNB - 結合しなかった;N/T - 試験せず。

## 【実施例 4】

## 【0159】

異なる重鎖と軽鎖の抗CD38抗体の対形成

機能的な抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質を得ることができるかどうかを決定するために、PCT/AU2012/001323に記載の抗体X910/12-HC-L0-IFN-アルファ(A145D)IgG4に由来する重鎖(配列番号110)及び軽鎖(配列番号112)、並びにPCT/AU2012/001323に記載の抗体X913/15-HC-L0-IFN-アルファ(A145D)IgG4に由来する重鎖(配列番号111)及び軽鎖(配列番号113)を、様々な組合せで互いに、並びに以下の実施例に記載の重鎖及び軽鎖と対形成させた。重鎖と軽鎖との対の概要を、Table 14(表16)に列挙する。

【0160】

【表16】

Table 14

| 抗 CD38 抗体-弱毒化<br>IFN 融合タンパク質             | 可変重鎖の配列番号 | 可変軽鎖の配列番号 |
|------------------------------------------|-----------|-----------|
| A02.38                                   | 34        | 113       |
| A02.39                                   | 34        | 112       |
| A02.40                                   | 111       | 65        |
| A02.41                                   | 110       | 65        |
| X913/15-HC-L0- IFN-ア<br>ルファ (A145D) IgG4 | 111       | 113       |
| A02.43                                   | 110       | 113       |
| A02.44                                   | 111       | 112       |
| X910/12-HC-L0- IFN-ア<br>ルファ (A145D) IgG4 | 110       | 112       |

10

20

【0161】

生成されたそれぞれの抗体を、SPRによりタンパク質発現、CD38への結合について分析し、細胞培養上清効力アッセイを用いて効力について分析した。これらのアッセイの結果を、Table 15a(表17)に提示する。これらのデータは、異なる抗体に由来する異なる重鎖と軽鎖の対形成により、アネキシンV、カスパーゼ及び細胞増殖アッセイにおいて発現し、機能的効力を有するいくつかの抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質が得られたことを示す。

【0162】

30

【表 17】

Table 15a

| 抗 CD38 抗体<br>-弱毒化 IFN<br>融合タンパク<br>質            | プロテイン A<br>HPLC<br>(mg/L) | 350sec での<br>SPR による<br>CD38 結合<br>(RU)* | アネキシン V<br>アッセイ(未処<br>理の細胞と比較<br>した倍数変化) | カスパーゼアッ<br>セイ(未処理の<br>細胞と比較した<br>倍数変化) |
|-------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------|
| A02.38                                          | 2.9                       | DNB                                      | 0.9                                      | 4.3                                    |
| A02.39                                          | 21.3                      | 66                                       | 2.5                                      | 6.6                                    |
| A02.40                                          | 2.1                       | DNB                                      | 1.0                                      | 4.4                                    |
| A02.41                                          | 50.0                      | 165                                      | 2.6                                      | 6.7                                    |
| X913/15-HC-<br>L0- IFN-アル<br>ファ (A145D)<br>IgG4 | 8.2                       | 96                                       | 2.2                                      | 5.4                                    |
| A02.43                                          | 2.5                       | DNB                                      | 0.9                                      | 4.1                                    |
| A02.44                                          | 2.2                       | DNB                                      | 1.0                                      | 4.5                                    |
| X910/12-HC-<br>L0- IFN-アル<br>ファ (A145D)<br>IgG4 | 27.1                      | 125                                      | 2.6                                      | 5.9                                    |

SPR による CD38 結合は、解離フェーズの 350 秒後に表面に結合したままである CD38 の量を指す。アネキシン V アッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後にアネキシン V-FITC により陽性に染色される細胞を指す。カスパーゼアッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。DNB - 結合しなかった。

## 【0163】

上記の抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質の選択物を精製し、細胞に基づくアッセイにおいてCD38陽性細胞への結合について分析した。さらに、効力アッセイを繰り返して、それぞれの抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質の相対的活性のより正確な決定を得た。これらのアッセイの結果を、Table 15b(表18)に記載する。

## 【0164】

【表 18】

Table 15b

| 抗 CD38 抗体-<br>弱毒化 IFN 融<br>合タンパク質 | ARP-1 フロ<br>ー結合<br>( $\mu\text{g/mL}$ での<br>$\text{EC}_{50}$ ) | アネキシン V ア<br>ッセイ(未処理<br>の細胞と比較し<br>た倍数変化) | カスパーゼアッ<br>セイ(未処理の<br>細胞と比較した<br>倍数変化) | 細胞増殖ア<br>ッセイ<br>$\text{IC}_{50}$ (pM) | 図面番号                          |
|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|
| A02.1                             | 1.45                                                           | 1.86                                      | 4.2                                    | 278.2                                 | 13, 14, 15, 16,<br>17, 18, 19 |
| A02.2                             | 2.46                                                           | 1.94                                      | 4.4                                    | 175.7                                 | 13, 19                        |
| A02.3                             | 0.96                                                           | 1.86                                      | 3.5                                    | 254.9                                 | 13, 19                        |
| A02.4                             | 1.50                                                           | 1.88                                      | 3.8                                    | 198.3                                 | 13, 19                        |
| A02.5                             | 1.45                                                           | 1.88                                      | 4.3                                    | 146.3                                 | 13, 19                        |
| A02.6                             | 1.42                                                           | 2.03                                      | 3.5                                    | 102.3                                 | 13, 15, 19, 20                |
| A02.8                             | 1.93                                                           | 1.91                                      | 3.8                                    | 125.5                                 | 13, 19                        |
| A02.9                             | 1.03                                                           | 1.96                                      | 3.6                                    | 107.1                                 | 13, 19                        |
| A02.10                            | 1.48                                                           | 1.95                                      | 3.8                                    | 125.6                                 | 13, 19                        |
| A02.11                            | 3.48                                                           | 1.98                                      | 3.9                                    | 374                                   | 13, 19                        |
| A02.12                            | 3.40*                                                          | 1.40                                      | 3.4                                    | 23.66                                 | 14, 16, 19, 21                |
| A02.14                            | 10.01*                                                         | 1.82                                      | 2.5                                    | 398.20                                | 19                            |
| A02.15                            | 1.97*                                                          | 3.09                                      | 6.8                                    | 491.70                                | 19                            |
| A02.16                            | 3.89*                                                          | 2.66                                      | 5.2                                    | 636.80                                | 14, 19                        |
| A02.17                            | 9.32*                                                          | 2.23                                      | 3.2                                    | 467.1                                 | 14, 19                        |
| A02.18                            | 1.64                                                           | 1.55                                      | 3.7                                    | 78.72                                 | 19                            |
| A02.19                            | 1.07                                                           | 1.63                                      | 3.5                                    | 230.3                                 | 19                            |
| A02.20                            | 15.92*                                                         | 1.61                                      | 2.9                                    | 36                                    | 19                            |
| A02.22                            | 1.58                                                           | 1.91                                      | 3.8                                    | 207                                   | 19                            |
| A02.25                            | 0.37*                                                          | 1.42                                      | 2.4                                    | 2477                                  | 19                            |
| A02.26                            | 37.99*                                                         | 1.56                                      | 2.0                                    | 66                                    | 19                            |
| A02.27                            | LB*                                                            | 1.06                                      | 1.0                                    | 29910                                 | 14, 16, 19                    |
| A02.29                            | 0.48*                                                          | 1.55                                      | 3.0                                    | 133                                   | 19                            |
| A02.31                            | 0.26*                                                          | 1.78                                      | 2.1                                    | 514                                   | 14, 16, 19                    |
| A02.32                            | LB*                                                            | 1.83                                      | 3.3                                    | 605                                   | 19                            |
| A02.33                            | 1.54                                                           | 1.96                                      | 3.7                                    | 741                                   | 16, 19                        |
| A02.34                            | 0.89*                                                          | 3.06                                      | 4.7                                    | 503                                   | 19                            |
| A02.35                            | 3.44*                                                          | 1.71                                      | 1.5                                    | 3050                                  | 19                            |
| A02.37                            | LB*                                                            | 2.05                                      | 4.3                                    | 128                                   | 19                            |
| A02.39                            | LB*                                                            | 1.92                                      | 4.3                                    | 3714                                  | 19                            |
| A02.41                            | 0.78*                                                          | 2.01                                      | 3.4                                    | 554                                   | 14, 19                        |
| A02.42                            | LB*                                                            | 1.52                                      | 3.3                                    | 310                                   | 19                            |
| A02.45                            | 0.71*                                                          | 1.66                                      | 1.6                                    | 1697                                  | 19                            |
| A02.47                            | 16.35*                                                         | 1.53                                      | 4.69                                   | 144.3                                 | 19                            |

フロー結合は、最大平均蛍光強度の 50%を達成するのに必要とされる抗体の濃度を指す。アネキシン V アッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後にアネキシン V-FITC により陽性に染色される細胞を指す。カスパーゼアッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。LB - 低結合、 $\text{EC}_{50}$  値にとって十分ではない。\*抗体を、H929 細胞株に対するフロー結合アッセイにおいて試験した。報告される値は  $\mu\text{g/mL}$  での  $\text{EC}_{50}$  である。

【0165】

図5は機能的活性を有するA02.1の関連構築物のコンセンサス可変重鎖を列挙し、図6はそのコンセンサス可変軽鎖を列挙する。抗CD38抗体X02.114、X02.115、X02.116、X02.117、X02.118、X02.119(図6)、X02.120、X02.121、X02.122、X02.123、X02.124、X02.125、X02.126又はX02.127(図30)について記載されたものなどの、置換の組合せを作製すること

ができることがさらに想定され得る。さらに、上記の抗CD38抗体を、抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質として構築し、本明細書に記載のように機能的活性について試験することもできた。

#### 【0166】

H929多発性骨髄腫異種移植モデル

A02.1のin vivoでの効力を、実施例5に記載されるようなNCI-H929 s.c.多発性骨髄腫モデルにおいて予め試験した。A02.1は、強力な抗腫瘍活性を有することが示された。データは、PCT/AU2012/001323に提示されている。

#### 【0167】

H929多発性骨髄腫異種移植モデルを用いて、上記の抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質のいずれかの抗腫瘍活性を試験することができた。

#### 【0168】

腫瘍細胞株における強力なアポトーシス活性及びカスパーゼ活性化のために弱毒化IFNが必要である

アネキシンVアッセイ及びカスパーゼアッセイを用いて、強力なアポトーシス活性及びカスパーゼ活性化が弱毒化IFNを含有する抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質に依存することが示された(Table 16a(表19)、図18)。アネキシンVアッセイにおいて、弱毒化IFN含有タンパク質(A02.1及びA02.6)は、弱毒化IFNを含有しないタンパク質(X02.1及びX02.6)よりも2倍高い活性を有していた。

#### 【0169】

#### 【表19】

Table 16a

| 抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質 | アネキシンVアッセイ(未処理の細胞と比較した倍数変化) | カスパーゼアッセイ(未処理の細胞と比較した倍数変化) |
|-----------------------|-----------------------------|----------------------------|
| A02.1                 | 3.57                        | 5.60                       |
| X02.1                 | 1.50                        | 2.34                       |
| A02.6                 | 2.03                        | 3.5                        |
| X02.6                 | 1.04                        | 0.40                       |

アネキシンVアッセイは、20nMの抗体構築物を用いる24hの処理後にアネキシンV-FITCにより陽性に染色される細胞を指す。カスパーゼアッセイは、20nMの抗体構築物を用いる24hの処理後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。

#### 【実施例5】

#### 【0170】

一般的方法

HEK-293E細胞中での抗体及び抗体-融合構築物の生成。タンパク質構築物をコードするDNAプラスミド(抗体及び抗体-IFN-アルファ2b関連構築物)を、HiSpeed Plasmid Maxiキット(Qiagen社、Valencia、CA)を用いて調製した後、市販のトランスフェクション試薬及びOptiMEM培地(Invitrogen社、Carlsbad、CA)を用いて、HEK293E細胞(CNRC社、Montreal、Canada)中にトランスフェクトし、0.45%(w/v)のD-(+)-グルコース(Sigma社、Castle Hill、NSW)、25µg/mLのゲネチシン(Invitrogen社、Carlsbad、CA)、及び1x GlutaMAX(Invitrogen社、Carlsbad、CA)を添加したF17合成培地中で増殖させた。5%CO<sub>2</sub>を供給し、120rpmで振とうしながらインキュベータ中で6日間発現させた後、培養培地を単離し、Protein A Mab Select SuRe(商標)アガロースビーズ(GE Healthcare社、Piscataway、NJ)を用いる親和性精製にかけた。精製されたタンパク質構築物を、PD Midi-Trap G-25カラム(GE Hea

lthcare社、Piscataway、NJ)又はHiPrep 26/10脱塩カラム(HiTrap Desalting HiPrep 26/10 Desalting)を用いて、0.2MアルギニンHCl、25mMクエン酸、71.5mM水酸化ナトリウム、pH6.0中でバッファー交換した。次いで、精製されたタンパク質構築物を、50kDa Amicon Ultra遠心分離フィルター装置(Millipore社、Billerica、MA)を用いて濃縮した後、280nmで吸光度を読み取ることによりタンパク質濃度を決定した。

#### 【0171】

CHO細胞中での抗体及び抗体-融合構築物の生成

タンパク質構築物をコードするDNAプラスミド(抗体及び抗体-IFN-アルファ2b関連構築物)を、HiSpeed Plasmid Maxi Kit(Qiagen社、Valencia、CA)を用いて調製した後、市販のトランスフェクション試薬及びOptiPro SFM(商標)培地(Invitrogen社、Carlsbad、CA)を用いて、CHO細胞(Lonza社)中にトランスフェクトし、Freestyle(商標)CHO Expression Medium(Invitrogen社、Carlsbad、CA)中で増殖させた。10%CO<sub>2</sub>を供給し、120rpmで振とうしながらインキュベータ中で6日間発現させた後、培養培地を単離し、Protein A Mab Select SuReアガロースビーズ(GE Healthcare社、Piscataway、NJ)を用いる親和性精製にかけた。精製されたタンパク質構築物を、PD Midi-Trap G-25カラム(GE Healthcare社、Piscataway、NJ)又はHiPrep 26/10脱塩カラム(HiTrap Desalting HiPrep 26/10 Desalting)を用いて、0.2MアルギニンHCl、25mMクエン酸、71.5mM水酸化ナトリウム、pH6.0中でバッファー交換した。次いで、精製されたタンパク質構築物を、50kDa Amicon Ultra遠心分離フィルター装置(Millipore社、Billerica、MA)を用いて濃縮した後、280nmで吸光度を読み取ることによりタンパク質濃度を決定した。

#### 【0172】

表面プラズモン共鳴(SPR)により測定されたCD38への抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質結合。ヒトCD38に結合する抗CD38抗体及び抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質の能力を、非特異的結合還元剤(GE Healthcare社、Piscataway、NJ)と7:1で調製された未精製のトランスフェクトされた細胞の上清を用いて測定した。簡単に述べると、Biacore(商標)3000又はT200を用いて、プロテインAを、アミンカップリングを用いてCM5研究等級のセンサーチップのフローセル(FC)1(FC1)及びFC2(又は或いは、FC3及びFC4)上に固定したところ、約1500RUが得られた。FC2(又はFC4)を、実験を通して参照として用いた。実験を、HBS-P+バッファー(0.01M HEPES、0.15M NaCl、0.005%v/v Surfactant P20、pH7.4)中で37℃で実行した。20 µl/minの流速で、両フローセルを10 µLの50mM水酸化ナトリウムを用いて再生した後、タンパク質を含有する40 µLの上清をFC1(又はFC3)のみの上を通過させた。30 µLのCD38(ランニングバッファー中の10 µg/mL)又は30 µLのランニングバッファーを、5分の解離時間でFC1及びFC2の上に注入した。両表面を、水酸化ナトリウムを用いて2回再生した。結果を、機械と共に提供されたBIAevaluationソフトウェアを用いて生成した。Microsoft Excelを、計算のために用いた。BIAevaluationソフトウェアは、参照センサーグラムを自動的に差し引き、各試料について微量のFC2-1(又はFC4-3)を得た。ブランクランニングバッファー注入を用いるセンサーグラムからCD38注入を用いるセンサーグラムを差し引くことにより試験されたそれぞれの抗体について、二重参照を実施した。プロテインA捕捉は、412.5sの固定された時点でのセンサーグラムから測定された応答単位を指し、これはプロテインA表面上に捕捉されたタンパク質のレベルに対応する。CD38結合は507.5sで測定された応答単位であり、タンパク質を捕捉したセンサーに結合したCD38のレベルを示す。CD38解離は865.5sで測定された応答単位であり、解離フェーズの約300s後にタンパク質を捕捉した表面に結合したCD38のレベルを示す。BIAevaluationを用いて、Langmuir 1:1式を用いてセンサーグラムを適合させて、平衡解離定数(KD)を生成した。

#### 【0173】

プロテインA HPLC

Agilent 1100クロマトグラフィシステムに接続されたPOROS A/20 2.1×30mm Idカラム(Applied Biosystems社)を用いるプロテインA HPLCにより、上清を分析した。カラムをPBS pH7.4で平衡化し、pH2.2に調整されたPBSを用いてタンパク質を溶出させた。PBS中の既知量のモノクローナル抗体を用いて、標準曲線を作成した。215nm又は280nmの波長での

クロマトグラムを、製造業者のソフトウェアを用いて積分し、曲線下面積(AUC)を報告し、作成された標準曲線に対して内挿し、濃度を見積もった。

#### 【0174】

ヒトCD38陽性細胞株ARP-1及びH929への抗体及び抗CD38抗体-IFN融合タンパク質のフローサイトメトリー結合

多発性骨髄腫細胞株ARP-1は、University of Arkansas Medical Center(Little Rock, AK)のMyeloma InstituteのディレクターであるBart Barlogie MD、phDからの贈り物であった。それは、Hardin J.ら(1994) Blood. 84:3063~70頁に記載されている。多発性骨髄腫細胞株NCI-H929(H929)は、ATCC(CRL-9068, Gazdar, Blood 67: 1542~1549頁、1986から購入したものであった。

10

#### 【0175】

フローサイトメトリーに基づくアッセイにおいて抗体又は抗体-インターフェロン構築物がヒトCD38陽性骨髄腫細胞株ARP-1又はH929に結合する能力を試験した。ARP-1細胞又はH929細胞( $5 \times 10^5$ 個、トリパンブルー色素排除試験により判断)を、暗室中、氷上で60分間、96穴プレート中で50  $\mu$ LのFACSバッファー(PBS+1%ウシ胎仔血清、FCS、0.2M HEPES、0.5 M EDTA)中の様々な濃度のそれぞれのタンパク質と共に、又は無関係の特異性のタンパク質構築物を含むヒトIgG4モノクローナル抗体と共にインキュベートした。細胞をFACSバッファーで3回洗浄した後、ヤギ抗ヒトIgG抗体(フルオレセインイソチオシアネートにコンジュゲートされたFc特異的抗体、FITC;Sigma-Aldrich社、St.Louis, MO)を含有する50  $\mu$ LのFACSバッファー中で30分間インキュベートした。FACSバッファーで3回洗浄した後、細胞を4%ホルムアルデヒドv/vを含有する50  $\mu$ LのPBSで固定し、暗室中、4℃で16時間インキュベートした。懸濁液中のインキュベートされた細胞をさらなる150  $\mu$ LのFACSバッファーで希釈し、FITCチャンネル中の前方散乱、側方散乱及び蛍光強度を用いるFACS Canto II(BD Biosciences社、San Diego, CA)上でのフローサイトメトリーにより結合について分析した。報告される値は、平均蛍光強度(MFI)である。

20

#### 【0176】

標的アッセイ

Daudi細胞増殖アッセイ:このアッセイを用いて、CD38を展示する細胞上でのIFN及び抗体-IFN融合タンパク質構築物の抗増殖活性を定量した。Daudi細胞は、細胞表面関連抗原としてCD38を発現する。Promega社(Madison, Wisconsin)からのCellTiter-Glo(登録商標)試薬、カタログ番号G7570を用いて、細胞の生存能力を測定した。これは、ATPの定量化に基づいて培養物中の細胞の生存能力を決定する発光に基づくアッセイである。シグナル強度は、マイクロタイタープレートウェル中の生細胞数に比例する。アッセイの詳細は以下の通りである:Daudi細胞(ATCC、Manassas, VAから得られた)を、T75フラスコ(TPP社、Trasadingen, Switzerland、カタログ番号90076)中で、10%ウシ胎仔血清(FBS;Hyclone社、Logan, UT、カタログ番号SH30070.03)を含むRPMI1640(Mediatech, Inc.社、Manassas, VA、カタログ番号10-040-CV)中に $0.5 \times 10^5 \sim 0.8 \times 10^5$ 個の生細胞/mLの好ましい密度となるまで培養した。細胞を400 $\times$ gで5分間遠心分離し、上清を廃棄し、細胞ペレットをRPMI1640+10%FBS中に再懸濁することにより収獲した。次いで、細胞を計数し、RPMI1640+10%FBS中で密度を $3.0 \times 10^5$ 細胞/mLに調整した。次いで、50  $\mu$ Lの細胞懸濁液を、96穴丸底組織培養プレート(以後、「実験プレート」と呼ぶ)(TPP社、カタログ番号92067)の各ウェルにアリコートした。別の滅菌96穴プレート(以後、「希釈プレート」と呼ぶ;Costar、Corning、NY、カタログ番号3879)上で、被験物質をRPMI1640+10%FBS中で2回、連続希釈した。次いで、50  $\mu$ L/ウェルを希釈プレートから実験プレートに移した。次いで、実験プレートを5%CO<sub>2</sub>と共に37℃で4日間インキュベートした。製造業者により供給されたアッセイバッファーと、アッセイ基質[以後、「CellTiter-Glo(登録商標)試薬」と呼ばれ、製造業者の説明書に従って混合されたもの]との混合物を、100  $\mu$ L/ウェルで実験プレートに添加した。プレートを、2分間振とうした。

30

40

#### 【0177】

次いで、100  $\mu$ L/ウェルを、実験プレートから96穴平底白色不透明プレート(以後、「ア

50

ッセイプレート」と呼ぶ;BD Biosciences社、Franklin 5 Lakes、NJ、カタログ番号35 32 96)に移した。次いで、アッセイプレートの内容物を、室温で15分間、暗室中で安定化させた。発光測定チャンネル上、Victor 3V Multilabel Counter(Perkin Elmer社、Waltham、MA、モデル番号1420-041)上でプレートを読み取り、発光を測定した。結果を、「相対発光単位」(RLU)として提示する。非線形回帰及び3パラメータ曲線適合を用いるPrism 5(Graphpad社、San Diego、CA)を用いてデータを分析して、曲線の中点(EC50)を決定した。

#### 【0178】

ARP-1細胞増殖アッセイ:このアッセイを用いて、CD38抗原陽性細胞に対するIFN及び抗体-IFN融合タンパク質構築物の抗増殖活性を定量した。ARP-1細胞は、細胞表面関連抗原としてCD38を発現する。Promega社(Madison、Wisconsin)からのCellTiter-Glo(登録商標)試薬、カタログ番号G7570を用いて、細胞の生存能力を測定した。これは、ATPの定量化により培養物中の細胞の生存能力を決定する発光に基づくアッセイである。シグナル強度は、マイクロタイタープレートウェル中の生細胞数に比例する。

#### 【0179】

アッセイの詳細は以下の通りである:ARP-1細胞を、T175フラスコ(Costar、Corning、NY Lakes、NJ、カタログ番号CLS431080)中で、10%ウシ胎仔血清(FBS;AusGeneX社、Molendinar、QLD、Australia、カタログ番号FBS500S)を含むRPMI1640(Life Technologies社、Mulgrave、VIC、カタログ番号11875-093)中に $2.0 \times 10^5 \sim 2.0 \times 10^6$ 個の生細胞/mLの好ましい密度となるまで培養した。細胞を $400 \times g$ で5分間遠心分離し、上清を廃棄し、細胞ペレットをRPMI1640+10%FBS中に再懸濁することにより収獲した。次いで、細胞を計数し、RPMI1640+10%FBS中で密度を $2.0 \times 10^5$ 細胞/mLに調整した。次いで、50  $\mu$ Lの細胞懸濁液を、96穴平底白色不透明プレート(以後、「実験プレート」と呼ぶ)(Costar、Corning、NY Lakes、NJ、カタログ番号CLS3917)の各ウェルにアリコートした。別の滅菌96穴プレート(以後、「希釈プレート」と呼ぶ;Costar、Corning、NY、カタログ番号3799)上で、被験物質をRPMI1640+10%FBS中で2回、連続希釈した。次いで、50  $\mu$ L/ウェルを希釈プレートから実験プレートに移した。次いで、実験プレートを5%CO<sub>2</sub>と共に37℃で4日間インキュベートした。それぞれの実験プレートは、相対的対照として親抗体IFN構築物を含んでいた。

#### 【0180】

製造業者により供給されたアッセイバッファート、アッセイ基質[製造業者の説明書に従って混合された、CellTiter-Glo(登録商標)試薬]との混合物を、100  $\mu$ L/ウェルで実験プレートに添加した。プレートを、2分間振とうした。次いで、アッセイプレートの内容物を、室温で15分間、暗室中で安定化させた。発光測定チャンネル上、FLUOstar Galaxyプレートリーダー(BMG Labtech社、Durham、NC)上でプレートを読み取り、発光を測定した。非線形回帰及び3パラメータ曲線適合を用いるPrism 5(Graphpad社、San Diego、CA)を用いてデータを分析して、曲線の中点(EC<sub>50</sub>)を決定した。

#### 【0181】

アネキシンVアッセイ:H929細胞を、 $400 \times g$ で5分間遠心分離し、上清を廃棄し、細胞ペレットをRPMI1640+10%FBS中に再懸濁することにより収獲した。次いで、細胞を計数し、密度をRPMI1640+10%FBS中、 $1.0 \times 10^6$ 細胞/mLに調整した。次いで、50  $\mu$ Lの細胞懸濁液を、96穴丸底透明プレート(以後、「実験プレート」と呼ぶ;Costar、Corning、NY、カタログ番号CL3799)の各ウェルにアリコートした。別の滅菌96穴プレート(以後、「希釈プレート」と呼ぶ;Costar、Corning、NY、カタログ番号CL3799)上で、被験物質をRPMI1640+10%FBS中で4回、40nMに希釈した。次いで、50  $\mu$ L/ウェルを希釈プレートから実験プレートに移した。次いで、実験プレートを5%CO<sub>2</sub>と共に37℃で24時間インキュベートした。次いで、細胞を、 $400 \times g$ で5min遠心分離し、上清を廃棄し、アネキシンV-FITC(1/200)及び7-AAD(1/50)を含有する100  $\mu$ LのHEPESバッファート中に再懸濁した。次いで、細胞を室温で15minインキュベートした後、前方散乱、側方散乱、FITC及びPerCP-Cy5.5チャンネルを用いるFACS Canto II(BD Biosciences社、San Diego、CA)上でのフローサイトメトリーにより、アネキシンV及び7-AAD染色について分析した。アネキシンV陽性細胞とは、20nMの抗体構築物で24h処理した後にアネキシンV-FITCにより陽性に染色される細胞を指し、未処理の

細胞と比較した倍数変化として表される。

#### 【0182】

カスパーゼアッセイ:活性化されたカスパーゼ2、3、6、7、8、9、10を、試験抗体を用いる処理後にRoche社(West Sussex, UK)からのHomogeneous Caspases Assay試薬、蛍光、カタログ番号12236869001を用いて測定した。アッセイの詳細は以下の通りである。

#### 【0183】

高レベルのCD38を発現するARP-1細胞を、T175フラスコ(Costar、Corning、NY、カタログ番号CLS431080)中で、10%FBS(AusGeneX社、Molendinar、QLD、Australia、カタログ番号FBS500S)を含むRPMI1640(Life Technologies社、Mulgrave、VIC、カタログ番号11875-93)中に $2.0 \times 10^5 \sim 2.0 \times 10^6$ 個の生細胞/mLの好ましい密度となるまで培養した。細胞を400×gで5分間遠心分離し、上清を廃棄し、細胞ペレットをRPMI1640フェノールレッドフリー(Life Technologies社、Mulgrave、VIC、カタログ番号11835-030)+10%FBS中に再懸濁することにより収獲した。次いで、細胞を計数し、RPMI1640フェノールレッドフリー+10%FBS中で密度を $2.0 \times 10^5$ 細胞/mLに調整した。次いで、50 µLの細胞懸濁液を、96穴平底黒壁透明底プレート(以後、「実験プレート」と呼ぶ;Costar、Corning、カタログ番号CLS3603)の各ウェルにアリコートした。別の滅菌96穴プレート(以後、「希釈プレート」と呼ぶ;Costar、Corning、NY、カタログ番号3799)上で、被験物質をRPMI1640フェノールレッドフリー+10%FBS中で4回、40nMに希釈した。次いで、50 µL/ウェルを希釈プレートから実験プレートに移した。次いで、実験プレートを5%CO<sub>2</sub>と共に37℃で24時間インキュベートした。製造業者により供給されたアッセイバッファーを、製造業者により供給された基質に添加し、製造業者の説明書に従って混合して、「基質溶液」を作出した。次いで、100 µLの基質溶液を、アッセイプレートの各ウェルに添加した。プレートを2分間振とうした。次いで、プレートを暗室中、室温で15分間インキュベートし、470～500nmの励起フィルター及び500～560nmの放出フィルターでFLUOstar Galaxyプレートリーダー(BMG Labtech社、Durham、NC)上で最終的に読み取り、蛍光を測定し、未処理の細胞と比較した倍数変化として提示する。カスパーゼアッセイは、20nMの抗体構築物を用いる24hの処置後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。

#### 【0184】

オフターゲットアッセイ

iLite遺伝子リポーターアッセイ:「オフターゲット」iLiteアッセイ(PBL Interferon Source社、Piscataway、NJ、カタログ番号51100)を、ヒトIgG遮断工程を加えて、大部分は製造業者により記載されたように実施した。iLite細胞株は、「細胞表面上での、MHCクラスII抗原、特に、ヒトリンパ球抗原(HLADR)の発現を特徴とする市販の前単球性ヒト細胞株から誘導された安定なトランスフェクト細胞株」として製造業者によって記載されている。この細胞株は、安定にトランスフェクトされたルシフェラーゼ遺伝子を含有し、その発現は、発光出力に基づいてインターフェロン活性を定量することができる、インターフェロン応答エレメント(IRE)により誘導される。製造業者により供給されたiLiteプレート(以後、アッセイプレートと呼ぶ)及び希釈剤を-80℃の冷凍庫から取り出し、室温に平衡化させた。次いで、ウェルあたり50 µLの希釈剤をアッセイプレートに添加した。製造業者により供給されたリポーター細胞のバイアルを-80℃の冷凍庫から取り出し、37℃の水浴中で解凍した。次いで、細胞の25 µLアリコートを、アッセイプレートの各ウェルに分注した。次に、RPMI1640+10%FBS(Sigma Chemicals社、St.Louis、MO;カタログ番号I4506)中に希釈された8mg/mLのヒトIgG 12.5 µLを各ウェルに添加した。内容物を混合し、37℃で15分間インキュベートした。別の「希釈プレート」上で、被験物質をRPMI1640+10%FBS中で2回、連続希釈した。次いで、12.5 µLの被験物質を希釈プレートからアッセイプレートに移した。次いで、アッセイプレートを、5%CO<sub>2</sub>と共に37℃で17時間インキュベートした。製造業者により供給されたアッセイバッファーと、基質とを-80℃の冷凍庫から取り出し、2時間、室温に平衡化させた。製造業者により供給されたアッセイバッファーを、製造業者により供給された基質バイアルに添加し、製造業者の説明書に従ってよく混合して、「発光溶液」を作出した。次いで、100 µLの発光溶液を、アッセイプレートの各ウェ

ルに添加した。プレートを2分間振とうした。次いで、プレートを暗室中、室温で5分間インキュベートし、発光測定チャンネル上、Victor 3V Multilabel Counter上で最終的に読み取り、発光を測定し、RLUとして提示した。データを、「オンターゲット(Daudi)アッセイ」について記載されたようにGraphpad Prism 5を用いて分析した。iLiteアッセイにおいて抗CD38抗体-IFN融合タンパク質構築物を試験するために、製造業者により供給された希釈剤に0.25mg/mLの抗CD38抗体を添加した(同じ抗体クローンを、iLite細胞上に発現されるCD38への抗CD38抗体-IFN融合タンパク質構築物の任意の結合を遮断するために、抗体-IFN融合タンパク質構築物として試験する)。

#### 【0185】

HEK-Blue(商標)オフターゲットアッセイ:このアッセイを用いて、HEK-Blue(商標)IFN- $\alpha$ / $\beta$ 細胞株(InvitroGen社、San Diego, CA)を用いてインターフェロン- $\alpha$ / $\beta$ 受容体(IFNAR)に結合する抗体-IFN融合構築物の能力を定量した。「オフターゲット(HB-IFN)アッセイ」を、大部分はHEK-Blue(商標)IFN- $\alpha$ / $\beta$ 細胞株の製造業者によって記載されたように実施した。HEK-Blue(商標)IFN- $\alpha$ / $\beta$ 細胞は、I型IFNにより誘導されるJAK-STAT経路の活性化をモニタリングするために特に設計されている。ヒトSTAT2及びIRF9遺伝子をHEK293細胞中に導入して、完全に活性なI型IFNシグナリング経路を得ることにより、この細胞を作成した。HEK-Blue(商標)IFN- $\alpha$ / $\beta$ 細胞は、ISG54プロモーターの制御下で、リポーター遺伝子である分泌型胚性アルカリホスファターゼ(SEAP)を安定に発現する。ISG54は、I型IFNによるISRE依存的機構を介して活性化される周知のISGである。IFN- $\alpha$ 又はIFN $\beta$ 刺激の際に、HEK-Blue(商標)IFN- $\alpha$ / $\beta$ 細胞はJAK-STAT経路を活性化した後、SEAPリポーター遺伝子の発現を活性化する。SEAPは、培地中に分泌され、比色分析試薬QUANTI-Blue(商標)を用いて定量することができる。簡単に述べると、HEK-Blue IFN- $\alpha$ / $\beta$ 細胞(Invivogen社、San Diego, CA、カタログ番号hkb-ifnab)を解凍し、熱不活化されたDMEM培地(Mediatech社、Manassas VA、カタログ番号10-13-CV)+10%FBS(Hyclone社、Logan UT、カタログ番号SH30070.03)(HI FBS)中で培養した。細胞が60~80%の集密度に達した時、それらをCell Stripper(Mediatech社、カタログ番号25-056-C1)を用いて持ち上げた。細胞をDMEM+HI FBS中で2回洗浄し、計数した。細胞を、DMEM+HI FBS中で $3.3 \times 10^5$ 個の生細胞/mLに調整し、ウェルあたり150  $\mu$ Lを、平底96穴組織培養プレート(以後、「実験プレート」と呼ぶ)中にアリコートした。次いで、DMEM+HI FBS中に希釈された、50  $\mu$ LのIFN- $\alpha$ 2b又は融合タンパク質構築物を、各ウェルに添加した。プレートを37°C、5%CO<sub>2</sub>で16~24時間インキュベートした。QUANTI-Blue(Invivogen社、カタログ番号rep-qbl)を、製造業者の指示に従って調製した。QUANTI-Blue(150  $\mu$ L)を、平底プレート(以後、「アッセイプレート」と呼ばれる)の各ウェルにアリコートした。次いで、実験プレートからのウェルあたり50  $\mu$ Lの上清を、アッセイプレートに移した。次いで、アッセイプレートを37°Cで1~3時間インキュベートした。630nmでのアッセイプレートの吸光度を、Perkin-Elmer社からのモデル1420-41 Victor 3V Multilabel Counter上で読み取った。データを、Graph Pad Prismを用いて分析した。

#### 【0186】

##### H929異種移植モデル

骨髄腫腫瘍増殖に対する、異なる用量のA10.38及びA10.0抗CD38抗体-弱毒化IFN- $\alpha$ 融合タンパク質構築物の効果を、非CD38-標的化融合タンパク質構築物と比較した。これらの比較のために、NCI-H929 s.c.多発性骨髄腫モデルを用いた。

#### 【0187】

多発性骨髄腫細胞株NCI-H929(ATCC CRL-9068, Gazdar, Blood 67: 1542~1549頁、1986)を、免疫不全(SCID)マウス中で皮下的に増殖させる。

#### 【0188】

8~12週齢のCB.17 SCIDマウスの脇腹に、50%Matrigel(商標)中の $1 \times 10^7$ 個のNCI-H929腫瘍細胞を皮下注射した。平均腫瘍サイズが170~350mm<sup>3</sup>に達した時、マウスを、それぞれ7匹のマウスの4つのコホートに群化し、0時間(T0)で処置を開始した。全ての処置を、3週間にわたって週に2回、腹腔内注射(i.p.)により与えた(グラフの下で示される)。

媒体群を除いて、全ての化合物を100 µg/用量(約4.5mg/kg)で投与した。腫瘍体積をカリパス測定により週に2回測定した。終点は2,000mm<sup>3</sup>の腫瘍体積であった。

#### 【0189】

骨髄腫腫瘍増殖に対する、異なる用量のA02.6、A10.0及びA10.38抗CD38抗体-弱毒化IFN-アルファ融合タンパク質構築物の効果を、媒体と比較した。これらの比較のために、NCI-H929 s.c.多発性骨髄腫モデルを用いた。

#### 【0190】

多発性骨髄腫細胞株NCI-H929(ATCC CRL-9068、Gazdar, Blood 67: 1542~1549頁、1986)を、免疫不全(SCID)マウス中で皮下的に増殖させる。

#### 【0191】

8~12週齢のCB.17 SCIDマウスの脇腹に、50%Matrigel中の1×10<sup>7</sup>個のNCI-H929腫瘍細胞を皮下注射した。平均腫瘍サイズが90mm<sup>3</sup>に達した時、マウスを、それぞれ5匹のマウスの4つのコホートに群化し、0時間(T0)で処置を開始する。全ての処置を、3週間にわたって週に2回、腹腔内注射(i.p.)により与える(グラフの下で示される)。媒体群を除いて、全ての化合物を100 µg/用量(約4.5mg/kg)で投与する。腫瘍体積をカリパス測定により週に2回測定する。

#### 【実施例6】

#### 【0192】

代替的定常領域を含む抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質

A02.12は、タンパク質の定常領域がHC-L0-IFN-アルファ(A145D)IgG4(配列番号9)である抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質を含む。この抗体の重鎖可変領域を、A145D弱毒化IFN-アルファ2b(配列番号10)に融合したIgG1定常領域上で再形式化した。HEK293E細胞中でのこの重鎖と、X02.107(配列番号65)の軽鎖との同時発現により、抗体A02.112が得られた。フローサイトメトリーに基づくCD38結合アッセイ及び効力アッセイを用いる抗体A02.12及びA02.112の比較により、ヒトIgG4定常領域を用いて作成されたものと同等の強力な生物活性を有する抗体-弱毒化IFN融合タンパク質をもたらす、ヒトIgG1などの他の抗体定常領域を用いることもできることが示される(Table 16b(表20))。

#### 【0193】

#### 【表20】

Table 16b

| 抗 CD38 抗体-弱毒化 IFN 融合タンパク質 | フロー結合 (µg/mL での EC <sub>50</sub> ) | アネキシン V アッセイ (未処理の細胞と比較した倍数変化) | カスパーゼ アッセイ(未処理の細胞と比較した倍数変化) | 細胞増殖アッセイ IC <sub>50</sub> (pM) | 図面番号 |
|---------------------------|------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|------|
| A02.12                    | 3.40*                              | 1.40                           | 2.70                        | 23.66                          | 図 21 |
| A02.112                   | <0.3*                              | 3.14                           | 3.74                        | N/T                            | 図 21 |

\*抗体を、H929 細胞株に対するフロー結合アッセイにおいて試験した。報告される値は µg/mL での EC<sub>50</sub> である。アネキシン V アッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後にアネキシン V-FITC により陽性に染色される細胞を指す。カスパーゼアッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。N/T - 試験せず。

#### 【実施例7】

#### 【0194】

R5D1、R5E8及びR10A2可変領域のヒト化

ラット由来抗CD38抗体R5D1、R5E8及びR10A2は、PCT/AU2012/001323に記載されており、ヒト化のためにこれらを選択した。これらの抗体の可変領域を、米国特許出願公開第2003

10

20

30

40

50

/0039649号に記載のようにスーパーヒト化した。簡単に述べると、標準構造を、そのそれぞれのアミノ酸配列の検査により各げっ歯類重鎖及び軽鎖に割り当てた。R10A2は標準構造2-1-1/1-2( $V_L/V_H$ )を割り当てられ、R5E8は標準構造4-1-1/1-2を割り当てられ、R5D1は標準構造2-1-1/1-2を割り当てられた。同じ標準構造のヒト生殖系列配列を、ドナーCDRの移植のためのアクセプターフレームワークとして用いた。結合活性の維持にとって重要である可能性が高いと見なされるその配列内の位置にアミノ酸置換を含有する、得られるスーパーヒト化抗体遺伝子のバリエーションも設計した。様々な重鎖スーパーヒト化可変領域を、図7に示す。様々な軽鎖スーパーヒト化可変領域を、図8に示す。

#### 【0195】

重鎖可変領域配列を、A145D弱毒化IFN-アルファ2b(配列番号9)に融合したS228P置換を有するヒトIgG4定常領域を含有するベクターpEE6.4中にサブクローニングした。軽鎖可変領域を、ヒトカッパ定常領域(配列番号5)を含有するベクターpEE12.4中にサブクローニングした。以前に記載のようにCHO細胞中で、pEE6.4中の重鎖とpEE12.4中の軽鎖との同時発現により抗体を生成した。Table 17(表21)は、それぞれスーパーヒト化された5D1に基づくタンパク質を生成するために用いられた重鎖と軽鎖との対をまとめたものである。Table 18(表22)は、作成されたスーパーヒト化された5E8に基づくタンパク質に関する重鎖と軽鎖との対を詳述するものであるが、スーパーヒト化された10A2に基づくタンパク質を作成するために用いられた重鎖と軽鎖との対を、Table 19(表23)に記載する。スーパーヒト化抗体の1ショット平衡解離定数( $K_D$ )ランキングを、得られるCHOトランスフェクション上清のBIAcore(商標)分析により実施した。この方法を用いて、抗体が発現し(プロテインA

10

20

#### 【0196】

【表 2 1 A】

Table 17

| 抗 CD38 抗体-弱<br>毒化 IFN 融合タ<br>ンパク質 | 可変重鎖の配列<br>番号 | 可変軽鎖の配列<br>番号 | K <sub>D</sub><br>(M)   | プロテイン A<br>捕捉<br>(RU) |
|-----------------------------------|---------------|---------------|-------------------------|-----------------------|
| A5D1.0 (キメラ)                      | 114           | 125           | 2.28 x 10 <sup>-9</sup> | N/A                   |
| A5D1.1                            | 115           | 126           | 2.95 x 10 <sup>-8</sup> | 175                   |
| A5D1.2                            | 115           | 127           | 2.95 x 10 <sup>-8</sup> | 289                   |
| A5D1.3                            | 115           | 128           | 2.35 x 10 <sup>-8</sup> | 248                   |
| A5D1.4                            | 115           | 129           | 2.85 x 10 <sup>-8</sup> | 427                   |
| A5D1.5                            | 115           | 130           | 1.84 x 10 <sup>-7</sup> | 269                   |
| A5D1.6                            | 115           | 131           | 2.32 x 10 <sup>-8</sup> | 338                   |
| A5D1.7                            | 116           | 126           | 1.05 x 10 <sup>-8</sup> | 132                   |
| A5D1.8                            | 116           | 127           | 6.80 x 10 <sup>-9</sup> | 263                   |
| A5D1.9                            | 116           | 128           | 9.93 x 10 <sup>-8</sup> | 128                   |
| A5D1.10                           | 116           | 129           | 5.69 x 10 <sup>-9</sup> | 358                   |
| A5D1.11                           | 116           | 130           | 1.64 x 10 <sup>-8</sup> | 250                   |
| A5D1.12                           | 116           | 131           | 5.61 x 10 <sup>-9</sup> | 345                   |
| A5D1.13                           | 117           | 126           | 1.44 x 10 <sup>-8</sup> | 213                   |
| A5D1.14                           | 117           | 127           | 1.52 x 10 <sup>-8</sup> | 344                   |
| A5D1.15                           | 117           | 128           | 1.46 x 10 <sup>-8</sup> | 167                   |
| A5D1.16                           | 117           | 129           | 1.37 x 10 <sup>-8</sup> | 524                   |
| A5D1.17                           | 117           | 130           | 3.28 x 10 <sup>-8</sup> | 410                   |
| A5D1.18                           | 117           | 131           | 1.01 x 10 <sup>-8</sup> | 396                   |
| A5D1.19                           | 118           | 126           | 1.01 x 10 <sup>-8</sup> | 245                   |
| A5D1.20                           | 118           | 127           | 1.07 x 10 <sup>-8</sup> | 282                   |
| A5D1.21                           | 118           | 128           | 7.94 x 10 <sup>-9</sup> | 351                   |
| A5D1.22                           | 118           | 129           | 8.97 x 10 <sup>-9</sup> | 566                   |
| A5D1.23                           | 118           | 130           | 2.14 x 10 <sup>-8</sup> | 336                   |
| A5D1.24                           | 118           | 131           | 8.01 x 10 <sup>-9</sup> | 319                   |
| A5D1.25                           | 119           | 126           | DNB                     | 165                   |
| A5D1.26                           | 119           | 127           | DNB                     | 286                   |
| A5D1.27                           | 119           | 128           | DNB                     | 265                   |
| A5D1.28                           | 119           | 129           | DNB                     | 493                   |
| A5D1.29                           | 119           | 130           | DNB                     | 275                   |
| A5D1.30                           | 119           | 131           | DNB                     | 263                   |
| A5D1.31                           | 120           | 126           | 1.05 x 10 <sup>-7</sup> | 206                   |
| A5D1.32                           | 120           | 127           | 1.20 x 10 <sup>-7</sup> | 318                   |
| A5D1.33                           | 120           | 128           | 9.83 x 10 <sup>-8</sup> | 176                   |

【 0 1 9 7 】

【表 2 1 B】

| 抗 CD38 抗体-弱<br>毒化 IFN 融合タ<br>ンパク質 | 可変重鎖の配列<br>番号 | 可変軽鎖の配列<br>番号 | K <sub>D</sub><br>(M) | プロテイン A<br>捕捉<br>(RU) |
|-----------------------------------|---------------|---------------|-----------------------|-----------------------|
| A5D1.34                           | 120           | 129           | $1.06 \times 10^{-7}$ | 497                   |
| A5D1.35                           | 120           | 130           | $6.07 \times 10^{-7}$ | 211                   |
| A5D1.36                           | 120           | 131           | $8.58 \times 10^{-8}$ | 331                   |
| A5D1.37                           | 121           | 126           | $1.01 \times 10^{-7}$ | 184                   |
| A5D1.38                           | 121           | 127           | $1.21 \times 10^{-7}$ | 315                   |
| A5D1.39                           | 121           | 128           | $9.55 \times 10^{-8}$ | 191                   |
| A5D1.40                           | 121           | 129           | $1.22 \times 10^{-7}$ | 460                   |
| A5D1.41                           | 121           | 130           | $5.60 \times 10^{-7}$ | 409                   |
| A5D1.42                           | 121           | 131           | $8.54 \times 10^{-8}$ | 301                   |
| A5D1.43                           | 122           | 126           | $1.78 \times 10^{-8}$ | 150                   |
| A5D1.44                           | 122           | 127           | $1.76 \times 10^{-8}$ | 226                   |
| A5D1.45                           | 122           | 128           | $1.42 \times 10^{-8}$ | 177                   |
| A5D1.46                           | 122           | 129           | $1.51 \times 10^{-8}$ | 401                   |
| A5D1.47                           | 122           | 130           | $1.89 \times 10^{-8}$ | 364                   |
| A5D1.48                           | 122           | 131           | $1.20 \times 10^{-8}$ | 273                   |
| A5D1.49                           | 123           | 126           | $6.32 \times 10^{-9}$ | 141                   |
| A5D1.50                           | 123           | 127           | $5.64 \times 10^{-9}$ | 212                   |
| A5D1.51                           | 123           | 128           | $4.97 \times 10^{-9}$ | 188                   |
| A5D1.52                           | 123           | 129           | $4.07 \times 10^{-9}$ | 493                   |
| A5D1.53                           | 123           | 130           | $6.98 \times 10^{-9}$ | 561                   |
| A5D1.54                           | 123           | 131           | $4.49 \times 10^{-9}$ | 253                   |
| A5D1.55                           | 124           | 126           | $6.48 \times 10^{-9}$ | 203                   |
| A5D1.56                           | 124           | 127           | $8.44 \times 10^{-9}$ | 144                   |
| A5D1.57                           | 124           | 128           | $5.59 \times 10^{-9}$ | 233                   |
| A5D1.58                           | 124           | 129           | $5.37 \times 10^{-9}$ | 376                   |
| A5D1.59                           | 124           | 130           | $1.05 \times 10^{-8}$ | 313                   |
| A5D1.60                           | 124           | 131           | $4.57 \times 10^{-9}$ | 429                   |

DNB - 結合しなかった。N/A - 利用可能でない。

【表 2 2】

Table 18

| 抗 CD38 抗体-弱毒化<br>IFN 融合タンパク質 | 可変重鎖の配<br>列番号 | 可変軽鎖の配<br>列番号 | K <sub>D</sub><br>(M)   | プロテイン A<br>捕捉(RU) |
|------------------------------|---------------|---------------|-------------------------|-------------------|
| A5E8.0 (キメラ)                 | 132           | 143           | 5.50 x 10 <sup>-9</sup> | N/A               |
| A5E8.1                       | 133           | 144           | 2.31 x 10 <sup>-7</sup> | 267               |
| A5E8.2                       | 133           | 145           | 2.37 x 10 <sup>-7</sup> | 459               |
| A5E8.3                       | 133           | 146           | 3.59 x 10 <sup>-7</sup> | 281               |
| A5E8.4                       | 133           | 147           | DNB                     | 420               |
| A5E8.5                       | 134           | 144           | 1.75 x 10 <sup>-7</sup> | 172               |
| A5E8.6                       | 134           | 145           | 1.57 x 10 <sup>-7</sup> | 611               |
| A5E8.7                       | 134           | 146           | 2.58 x 10 <sup>-7</sup> | 201               |
| A5E8.8                       | 134           | 147           | 8.09 x 10 <sup>-7</sup> | 308               |
| A5E8.9                       | 135           | 144           | 1.05 x 10 <sup>-8</sup> | 153               |
| A5E8.10                      | 135           | 145           | 2.13 x 10 <sup>-8</sup> | 503               |
| A5E8.11                      | 135           | 146           | 2.69 x 10 <sup>-8</sup> | 372               |
| A5E8.12                      | 135           | 147           | DNB                     | 212               |
| A5E8.13                      | 136           | 144           | 3.98 x 10 <sup>-8</sup> | 301               |
| A5E8.14                      | 136           | 145           | 1.26 x 10 <sup>-7</sup> | 543               |
| A5E8.15                      | 136           | 146           | 1.39 x 10 <sup>-7</sup> | 504               |
| A5E8.16                      | 136           | 147           | DNB                     | 284               |
| A5E8.17                      | 137           | 144           | 2.76 x 10 <sup>-8</sup> | 397               |
| A5E8.18                      | 137           | 145           | 8.81 x 10 <sup>-8</sup> | 430               |
| A5E8.19                      | 137           | 146           | 1.09 x 10 <sup>-7</sup> | 220               |
| A5E8.20                      | 137           | 147           | DNB                     | 397               |
| A5E8.21                      | 138           | 144           | DNB                     | 277               |
| A5E8.22                      | 138           | 145           | DNB                     | 409               |
| A5E8.23                      | 138           | 146           | DNB                     | 339               |
| A5E8.24                      | 138           | 147           | DNB                     | 266               |
| A5E8.25                      | 139           | 144           | DNB                     | 283               |
| A5E8.26                      | 139           | 145           | DNB                     | 395               |
| A5E8.27                      | 139           | 146           | DNB                     | 277               |
| A5E8.28                      | 139           | 147           | DNB                     | 290               |
| A5E8.29                      | 140           | 144           | 3.91 x 10 <sup>-8</sup> | 207               |
| A5E8.30                      | 140           | 145           | 5.00 x 10 <sup>-8</sup> | 255               |
| A5E8.31                      | 140           | 146           | 6.61 x 10 <sup>-8</sup> | 267               |
| A5E8.32                      | 140           | 147           | DNB                     | 42                |
| A5E8.33                      | 141           | 144           | 1.12 x 10 <sup>-8</sup> | 134               |
| A5E8.34                      | 141           | 145           | 1.63 x 10 <sup>-8</sup> | 301               |
| A5E8.35                      | 141           | 146           | 1.85 x 10 <sup>-8</sup> | 177               |
| A5E8.36                      | 141           | 147           | DNB                     | 10                |
| A5E8.37                      | 142           | 144           | 8.19 x 10 <sup>-8</sup> | 200               |
| A5E8.38                      | 142           | 145           | 1.55 x 10 <sup>-8</sup> | 328               |
| A5E8.39                      | 142           | 146           | 1.74 x 10 <sup>-8</sup> | 232               |
| A5E8.40                      | 142           | 147           | DNB                     | 126               |

DNB - 結合しなかった。N/A - 利用可能でない。

【表 2 3 A】

Table 19

| 抗 CD38 抗体-弱<br>毒化 IFN 融合タン<br>パク質 | 可変重鎖の配<br>列番号 | 可変軽鎖の配列<br>番号 | K <sub>D</sub><br>(M)  | プロテイン A<br>捕捉<br>(RU) |
|-----------------------------------|---------------|---------------|------------------------|-----------------------|
| A10A2.0 (キメラ)                     | 148           | 157           | $5.98 \times 10^{-10}$ | N/A                   |
| A10A2.1                           | 149           | 158           | DNB                    | 728                   |
| A10A2.2                           | 149           | 159           | DNB                    | 689                   |
| A10A2.3                           | 149           | 160           | DNB                    | 850                   |
| A10A2.4                           | 149           | 161           | DNB                    | 996                   |
| A10A2.5                           | 149           | 162           | DNB                    | 761                   |
| A10A2.6                           | 149           | 163           | DNB                    | 890                   |
| A10A2.7                           | 149           | 164           | DNB                    | 725                   |
| A10A2.8                           | 150           | 158           | $7.18 \times 10^{-7}$  | 718                   |
| A10A2.9                           | 150           | 159           | $6.62 \times 10^{-7}$  | 627                   |
| A10A2.10                          | 150           | 160           | $9.13 \times 10^{-7}$  | 850                   |
| A10A2.11                          | 150           | 161           | $2.37 \times 10^{-7}$  | 956                   |
| A10A2.12                          | 150           | 162           | $1.18 \times 10^{-6}$  | 864                   |
| A10A2.13                          | 150           | 163           | $6.80 \times 10^{-7}$  | 765                   |
| A10A2.14                          | 150           | 164           | DNB                    | 645                   |
| A10A2.15                          | 151           | 158           | $1.15 \times 10^{-7}$  | 488                   |
| A10A2.16                          | 151           | 159           | $8.11 \times 10^{-8}$  | 759                   |
| A10A2.17                          | 151           | 160           | $1.84 \times 10^{-7}$  | 684                   |
| A10A2.18                          | 151           | 161           | $3.39 \times 10^{-8/}$ | 907                   |
| A10A2.19                          | 151           | 162           | $1.84 \times 10^{-7}$  | 831                   |
| A10A2.20                          | 151           | 163           | $1.23 \times 10^{-7}$  | 560                   |
| A10A2.21                          | 151           | 164           | DNB                    | 337                   |
| A10A2.22                          | 152           | 158           | $2.70 \times 10^{-9}$  | 890                   |
| A10A2.23                          | 152           | 159           | $2.17 \times 10^{-9}$  | 828                   |
| A10A2.24                          | 152           | 160           | $3.04 \times 10^{-9}$  | 803                   |
| A10A2.25                          | 152           | 161           | $1.51 \times 10^{-9}$  | 1054                  |
| A10A2.26                          | 152           | 162           | $3.51 \times 10^{-9}$  | 741                   |
| A10A2.27                          | 152           | 163           | $2.42 \times 10^{-9}$  | 603                   |
| A10A2.28                          | 152           | 164           | $3.69 \times 10^{-8}$  | 384                   |

【 0 2 0 0 】

【表 2 3 B】

| 抗 CD38 抗体-弱<br>毒化 IFN 融合タン<br>パク質 | 可変重鎖の配<br>列番号 | 可変軽鎖の配列<br>番号 | K <sub>D</sub><br>(M) | プロテイン A<br>捕捉<br>(RU) |
|-----------------------------------|---------------|---------------|-----------------------|-----------------------|
| A10A2.29                          | 153           | 158           | $2.77 \times 10^{-8}$ | 93                    |
| A10A2.30                          | 153           | 159           | $2.15 \times 10^{-8}$ | 86                    |
| A10A2.31                          | 153           | 160           | $5.82 \times 10^{-8}$ | 33                    |
| A10A2.32                          | 153           | 161           | $8.49 \times 10^{-9}$ | 169                   |
| A10A2.33                          | 153           | 162           | $5.66 \times 10^{-8}$ | 62                    |
| A10A2.34                          | 153           | 163           | $3.88 \times 10^{-8}$ | 56                    |
| A10A2.35                          | 153           | 164           | DNB                   | DNE                   |
| A10A2.36                          | 154           | 158           | $8.38 \times 10^{-9}$ | 221                   |
| A10A2.37                          | 154           | 159           | $1.39 \times 10^{-9}$ | 858                   |
| A10A2.38                          | 154           | 160           | $1.08 \times 10^{-8}$ | 178                   |
| A10A2.39                          | 154           | 161           | $3.80 \times 10^{-9}$ | 357                   |
| A10A2.40                          | 154           | 162           | $1.34 \times 10^{-8}$ | 217                   |
| A10A2.41                          | 154           | 163           | $8.73 \times 10^{-9}$ | 202                   |
| A10A2.42                          | 154           | 164           | $2.09 \times 10^{-7}$ | 175                   |
| A10A2.43                          | 154           | 158           | $2.45 \times 10^{-7}$ | 621                   |
| A10A2.44                          | 155           | 159           | $6.23 \times 10^{-9}$ | 220                   |
| A10A2.45                          | 155           | 160           | $2.84 \times 10^{-7}$ | 881                   |
| A10A2.46                          | 155           | 161           | $1.39 \times 10^{-7}$ | 1000                  |
| A10A2.47                          | 155           | 162           | $3.28 \times 10^{-7}$ | 9                     |
| A10A2.48                          | 155           | 163           | $2.52 \times 10^{-7}$ | 565                   |
| A10A2.49                          | 155           | 164           | DNB                   | 499                   |
| A10A2.50                          | 156           | 158           | $1.61 \times 10^{-9}$ | 567                   |
| A10A2.51                          | 156           | 159           | $2.00 \times 10^{-7}$ | 603                   |
| A10A2.52                          | 156           | 160           | $1.69 \times 10^{-9}$ | 723                   |
| A10A2.53                          | 156           | 161           | $1.20 \times 10^{-9}$ | 729                   |
| A10A2.54                          | 156           | 162           | $1.92 \times 10^{-9}$ | 639                   |
| A10A2.55                          | 156           | 163           | $1.47 \times 10^{-9}$ | 692                   |
| A10A2.56                          | 156           | 164           | $1.97 \times 10^{-7}$ | 383                   |

DNB - 結合しなかった。

DNE - 発現しなかった。

## 【0 2 0 1】

それぞれのファミリーのヒト化抗体-5D1、5E8及び10A2について、いくつかのヒト化された重鎖と軽鎖との組合せは、タンパク質を発現することができないか、又はヒトCD38に結合することができなかった。ヒト化抗体の3つ全部のファミリーにわたってかなりの数の抗体が発現され、ナノモル濃度(nM)範囲の平衡解離定数でヒトCD38に結合した。共通の

10

20

30

40

50

軽鎖を共有するA10A2.53及びA10A2.25を、さらなる最適化のために選択した。A10A2.53をA10.0と改名し、A10A2.25をA10.38と改名した。

【実施例8】

【0202】

A10.0の改良されたバリエーション

A10.0抗体を、抗体の機能的活性に対する影響を最小にしながら、抗体の生物物理的及びin silicoでの免疫原性に対して正の効果をもたらすために、可変重鎖及び/又は軽鎖配列に対する変化により最適化した。

【0203】

A10.0重鎖及び軽鎖のin silicoでの免疫原性の分析

10

A10.0重鎖及び軽鎖可変領域のin silicoでの免疫原性の分析を、Epibaseソフトウェアパッケージを用いて作製した。A10.0の重鎖及び軽鎖可変領域中にいくつかのアミノ酸置換を導入して、潜在的な免疫原性エピトープを除去した。ヒト化重鎖(配列番号156)と整列させた、生成された重鎖可変領域バリエーションのアミノ酸配列アラインメントを、図9に示す。ヒト化軽鎖(配列番号161)と整列させた、軽鎖可変領域バリエーションのアミノ酸配列アラインメントを、図10に示す。タンパク質を生成させるためにHEK293E細胞中で同時発現された重鎖及び軽鎖バリエーションの詳細を、Table 20(表24)にまとめる。

【0204】

【表 2 4】

Table 20

| 抗 CD38 抗体-弱<br>毒化 IFN 融合タ<br>ンパク質 | VH アミノ酸置<br>換(A10.0 と比<br>較) | 可変重鎖の配列<br>番号 | VK アミノ酸置<br>換(A10.0 と比<br>較) | 可変軽鎖の配列<br>番号 |
|-----------------------------------|------------------------------|---------------|------------------------------|---------------|
| A10.1                             | A40E                         | 165           | N/A                          | 161           |
| A10.2                             | A40G                         | 166           | N/A                          | 161           |
| A10.3                             | A40H                         | 167           | N/A                          | 161           |
| A10.4                             | A40Q                         | 168           | N/A                          | 161           |
| A10.5                             | A40S                         | 169           | N/A                          | 161           |
| A10.6                             | A40V                         | 170           | N/A                          | 161           |
| A10.7                             | N35E                         | 171           | N/A                          | 161           |
| A10.8                             | N35P                         | 172           | N/A                          | 161           |
| A10.9                             | N35Q                         | 173           | N/A                          | 161           |
| A10.10                            | N35S                         | 174           | N/A                          | 161           |
| A10.11                            | R94E                         | 175           | N/A                          | 161           |
| A10.12                            | R94G                         | 176           | N/A                          | 161           |
| A10.13                            | R94P                         | 177           | N/A                          | 161           |
| A10.14                            | R94T                         | 178           | N/A                          | 161           |
| A10.15                            | K96G                         | 179           | N/A                          | 161           |
| A10.16                            | K96T                         | 180           | N/A                          | 161           |
| A10.17                            | N/A                          | 156           | K24E                         | 181           |
| A10.18                            | N/A                          | 156           | K24G                         | 182           |
| A10.19                            | N/A                          | 156           | K24P                         | 183           |
| A10.20                            | N/A                          | 156           | K24Q                         | 184           |
| A10.21                            | N/A                          | 156           | R54D                         | 185           |
| A10.22                            | N/A                          | 156           | I48D                         | 186           |
| A10.23                            | N/A                          | 156           | Y49E                         | 187           |
| A10.24                            | N/A                          | 156           | M89A                         | 188           |
| A10.25                            | N/A                          | 156           | M89E                         | 189           |
| A10.26                            | N/A                          | 156           | M89H                         | 190           |
| A10.27                            | N/A                          | 156           | M89K                         | 191           |
| A10.28                            | N/A                          | 156           | M89P                         | 192           |
| A10.29                            | N/A                          | 156           | M89Q                         | 193           |
| A10.30                            | N/A                          | 156           | M89S                         | 194           |
| A10.31                            | N/A                          | 156           | M89V                         | 195           |
| A10.32                            | N/A                          | 156           | Q90D                         | 196           |

## 【0 2 0 5】

Table 20(表24)に概略された重鎖と軽鎖の対を用いて作成されたそれぞれの抗体を、SP Rによりタンパク質発現レベル及びCD38への結合について評価した。さらに、細胞培養上清を用いて効力アッセイを実施して、これらの抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質のそれぞれの相対機能的活性を評価した。Table 21(表25)。

## 【0 2 0 6】

10

20

30

40

50

【表 2 5】

Table 21

| 抗 CD38 抗体-弱毒化 IFN 融合タンパク質 | プロテイン A HPLC (mg/L) | 350sec での SPR による CD38 結合(RU)* | アネキシン V アッセイ(未処理の細胞と比較した倍数変化) | カスパーゼアッセイ(未処理の細胞と比較した倍数変化) | 細胞増殖アッセイ (IC <sub>50</sub> pM) |
|---------------------------|---------------------|--------------------------------|-------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| A10.1                     | 16.9                | 1824                           | 1.66                          | 3.41                       | 4078                           |
| A10.2                     | 16.7                | 1821                           | 1.66                          | 5.19                       | 7622                           |
| A10.3                     | 25.0                | 2166                           | 1.63                          | 5.46                       | 2148                           |
| A10.4                     | 23.7                | 2169                           | 1.63                          | 5.78                       | 4108                           |
| A10.5                     | 28.0                | 2240                           | 1.64                          | 5.80                       | 3046                           |
| A10.6                     | 31.0                | 2097                           | 1.57                          | 5.76                       | 2283                           |
| A10.7                     | 26.5                | DNB                            | 1.18                          | 1.09                       | IC <sub>50</sub> なし            |
| A10.8                     | 2.4                 | DNB                            | N/T                           | N/T                        | N/T                            |
| A10.9                     | 18.3                | 176                            | 1.48                          | 2.07                       | IC <sub>50</sub> なし            |
| A10.10                    | 32.2                | 1072                           | 1.57                          | 4.97                       | 18870                          |
| A10.11                    | 28.3                | 98                             | 1.57                          | 3.64                       | IC <sub>50</sub> なし            |
| A10.12                    | 30.7                | DNB                            | 1.22                          | 1.99                       | IC <sub>50</sub> なし            |
| A10.13                    | 30.6                | 123                            | 1.31                          | 2.67                       | IC <sub>50</sub> なし            |
| A10.14                    | 30.5                | 247                            | 1.19                          | 5.11                       | 68270                          |
| A10.15                    | 41.8                | 1254                           | 1.52                          | 5.44                       | 5169                           |
| A10.16                    | 24.2                | 1210                           | 1.70                          | 4.57                       | 5224                           |
| A10.17                    | 18.2                | 1686                           | 1.79                          | 6.11                       | 3054                           |
| A10.18                    | 32.5                | 2457                           | 1.89                          | 6.16                       | 2178                           |
| A10.19                    | 1.6                 | DNB                            | 1.73                          | 2.39                       | IC <sub>50</sub> なし            |
| A10.20                    | 12.2                | 1355                           | 4.65                          | 7.72                       | 564                            |
| A10.21                    | 19.9                | 1837                           | 1.84                          | 5.56                       | 5330                           |
| A10.22                    | 5.5                 | 480                            | N/T                           | N/T                        | N/T                            |
| A10.23                    | 20.6                | 255                            | 1.71                          | 3.85                       | 59720                          |
| A10.24                    | 34.6                | 1943                           | 4.14                          | 6.75                       | 399                            |
| A10.25                    | 28.3                | 1778                           | 1.87                          | 6.09                       | 4910                           |
| A10.26                    | 5.7                 | 706                            | N/T                           | N/T                        | N/T                            |
| A10.27                    | 7.4                 | 136                            | N/T                           | N/T                        | N/T                            |
| A10.28                    | 2.2                 | 48                             | N/T                           | N/T                        | N/T                            |
| A10.29                    | 10.9                | 1443                           | N/T                           | N/T                        | IC <sub>50</sub> なし            |
| A10.30                    | 25.4                | 1865                           | 1.98                          | 6.21                       | 1438                           |
| A10.31                    | 5.8                 | 469                            | N/T                           | N/T                        | N/T                            |
| A10.32                    | 34.5                | 615                            | 3.80                          | 6.97                       | 3628                           |

SPR による CD38 結合は、解離フェーズの 350 秒後に表面に結合したままである CD38 の量を指す。アネキシン V アッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後にアネキシン V-FITC により陽性に染色される細胞を指す。カスパーゼアッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。DNB - 結合しなかった;N/T - 試験せず;IC<sub>50</sub> なし - IC<sub>50</sub> 値にとって十分な効力ではない。

## 【0 2 0 7】

A10.0 の可変重鎖及び軽鎖配列のアミノ酸配列の分析により、いくつかの潜在的な脱アミド化部位及び1つの潜在的な酸化部位が同定された。可変重鎖置換N98Qを調製して、重鎖のCDR3に由来する脱アミド化部位を除去した。配列番号197。CDR2置換N53Q(配列番号198)を含有するA10.0可変軽鎖のさらなるバリエーションを作成して、この推定脱アミド化部位

を除去した。また、軽鎖のCDR3内のM89を、この潜在的な酸化部位を除去し、軽鎖のこの領域の予測される免疫原性を低下させる組み合わせた目的で、この位置でのアミノ酸置換により変化させた。これらの置換を、それぞれの抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質を生成させるために同時発現される重鎖と軽鎖の対と共に、Table 22(表26)に概略する。

【0208】

【表26】

Table 22

| 抗 CD38 抗体-弱毒化 IFN 融合タンパク質 | アミノ酸置換<br>(A10.0 と比較) | 可変重鎖の配列<br>番号 | 可変軽鎖の配列<br>番号 |
|---------------------------|-----------------------|---------------|---------------|
| A10.35                    | 重鎖<br>N(98)Q          | 197           | 161           |
| A10.36                    | 軽鎖<br>N(53)Q          | 156           | 198           |

10

【0209】

Table 22(表26)に概略された重鎖と軽鎖の対を用いて作成されたそれぞれの抗体を、SPRによりタンパク質発現レベル及びCD38への結合について評価した。さらに、細胞培養上清を用いて効力アッセイを実施して、これらの抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質のそれぞれの相対機能的活性を評価した。Table 23(表27)。

【0210】

【表27】

Table 23

| 抗 CD38 抗体-弱毒化 IFN 融合タンパク質 | プロテイン<br>A HPLC<br>(mg/L) | 350sec<br>での SPR<br>による<br>CD38 結<br>合(RU)* | アネキシン V<br>アッセイ(未処<br>理の細胞と比較<br>した倍数変化) | カスパーゼアッ<br>セイ(未処理の<br>細胞と比較した<br>倍数変化) | 細胞増殖アッ<br>セイ<br>IC <sub>50</sub> (pM) |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|
| A10.35                    | 34.5                      | 1889                                        | 1.83                                     | 6.16                                   | 6241                                  |
| A10.36                    | 52.4                      | 1895                                        | 3.95                                     | 5.90                                   | 534.9                                 |

30

SPR による CD38 結合は、解離フェーズの 350 秒後に表面に結合したままである CD38 の量を指す。アネキシン V アッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後にアネキシン V-FITC により陽性に染色される細胞を指す。カスパーゼアッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。

40

【実施例 9】

【0211】

A10.38の改良されたバリエーションの作成

A10.0とA10.38は、共通の軽鎖を共有する。機能的活性に対する影響を最小にしながら、抗体の生物物理的特性及びin silicoでの免疫原性特性に対する正の効果を得るために、A10.0の最適化された軽鎖配列を、A10.38抗体の重鎖と対形成させた。重鎖及び軽鎖の変化及び対の概要を、Table 24(表28)に記載する。

【0212】

50

【表 2 8】

Table 24

| 抗 CD38 抗体-<br>弱毒化 IFN 融<br>合タンパク質 | 可変重鎖の<br>配列番号 | VK アミノ酸置換<br>(A10.38 と比較) | 可変軽鎖の配<br>列番号 |
|-----------------------------------|---------------|---------------------------|---------------|
| A10.38                            | 152           | N/A                       | 161           |
| A10.39                            | 152           | K24E                      | 181           |
| A10.40                            | 152           | K24G                      | 182           |
| A10.41                            | 152           | K24P                      | 183           |
| A10.42                            | 152           | K24Q                      | 184           |
| A10.43                            | 152           | R54D                      | 185           |
| A10.44                            | 152           | I48D                      | 186           |
| A10.45                            | 152           | Y49E                      | 187           |
| A10.46                            | 152           | M89A                      | 188           |
| A10.47                            | 152           | M89E                      | 189           |
| A10.48                            | 152           | M89H                      | 190           |
| A10.49                            | 152           | M89K                      | 191           |
| A10.50                            | 152           | M89P                      | 192           |
| A10.51                            | 152           | M89Q                      | 193           |
| A10.52                            | 152           | M89S                      | 194           |
| A10.53                            | 152           | M89V                      | 195           |
| A10.54                            | 152           | Q90D                      | 196           |
| A10.57                            | 152           | N53Q                      | 198           |

## 【0 2 1 3】

上記抗体のそれぞれを、SPRによりタンパク質発現レベル及びCD38への結合について評価した。細胞培養上清を用いて効力アッセイを実施して、これらの抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質のそれぞれの相対機能的活性を評価した。Table 25(表29)。

## 【0 2 1 4】

【表 29】

Table 25

| 抗 CD38 抗体-弱毒化 IFN 融合タンパク質 | プロテイン A HPLC (mg/L) | 350sec での SPR による CD38 結合(RU)* | アネキシン V アッセイ(未処理の細胞と比較した倍数変化) | カスパーゼ アッセイ(未処理の細胞と比較した倍数変化) |
|---------------------------|---------------------|--------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| A10.38                    | 119.7               | 1540                           | 3.22                          | 5.17                        |
| A10.39                    | 113.4               | 1444                           | 3.39                          | 4.79                        |
| A10.40                    | 117.8               | 1562                           | 3.28                          | 5.12                        |
| A10.41                    | 89.7                | 1459                           | 3.27                          | 5.12                        |
| A10.42                    | 111.7               | 1443                           | 3.32                          | 5.60                        |
| A10.43                    | 94.1                | 1426                           | 3.21                          | 6.15                        |
| A10.44                    | 51.9                | 969                            | 3.08                          | 5.66                        |
| A10.45                    | 111.7               | 333                            | 2.76                          | 5.01                        |
| A10.46                    | 120.0               | 1547                           | 3.24                          | 4.80                        |
| A10.47                    | 107.3               | 1337                           | 3.45                          | 4.25                        |
| A10.48                    | 45.5                | 865                            | 3.06                          | 5.48                        |
| A10.49                    | 55.8                | 213                            | 3.46                          | 7.63                        |
| A10.50                    | 11.3                | 172                            | 2.96                          | 5.61                        |
| A10.51                    | 51.6                | 1320                           | 2.34                          | 6.16                        |
| A10.52                    | 70.0                | 1512                           | 3.21                          | 5.62                        |
| A10.53                    | 40.0                | 536                            | 3.46                          | 4.68                        |
| A10.54                    | 61.3                | 583                            | 3.10                          | 6.20                        |
| A10.57                    | 67.1                | 1431                           | 3.06                          | 6.04                        |

SPR による CD38 結合は、解離フェーズの 350 秒後に表面に結合したままである CD38 の量を指す。アネキシン V アッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後にアネキシン V-FITC により陽性に染色される細胞を指す。カスパーゼアッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。N/T - 試験せず。

## 【0215】

腫瘍細胞株における強力なアポトーシス活性及びカスパーゼ活性化のために弱毒化IFNが必要である

抗CD38抗体A10.0(弱毒化IFN融合物)とX10.0(融合なし)との相対的効力を、実施例5に概略されたアネキシンV、カスパーゼ及び細胞増殖アッセイを用いて比較した。A10.38及びX10.38の相対的効力も比較した。Table 26(表30)。

## 【0216】

【表 3 0】

Table 26

| 抗 CD38 抗体-弱毒化 IFN 融合タンパク質 | アネキシン V アッセイ(未処理の細胞と比較した倍数変化) | カスパーゼアッセイ(未処理の細胞と比較した倍数変化) | 細胞増殖アッセイ IC <sub>50</sub> (pM) | 図面番号 |
|---------------------------|-------------------------------|----------------------------|--------------------------------|------|
| A10.0                     | 2.10                          | 4.23                       | 2081                           | 図 18 |
| X10.0                     | 1.27                          | 1.70                       | No IC50                        | 図 18 |
| A10.38                    | 3.22                          | 5.17                       | 1118                           | 図 25 |
| X10.38                    | 1.46                          | 2.09                       | No IC50                        | 図 25 |

アネキシン V アッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後にアネキシン V-FITC により陽性に染色される細胞を指す。カスパーゼアッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。

【0 2 1 7】

これらのデータは、それぞれX10.0及びX10.38と比較して抗体A10.0及びA10.38により示される強力なアポトーシス活性が、弱毒化IFN融合物の存在を必要とすることを示す。弱毒化IFNを含まない抗体に関しては抗増殖活性は観察されなかった。

【0 2 1 8】

機能的活性を有するタンパク質に由来する重鎖可変領域のコンセンサス配列アラインメントを、図11に示す。機能的活性を有するタンパク質に由来する軽鎖可変領域のコンセンサス配列アラインメントを、図12に示す。抗CD38抗体X10.60、X10.61、X10.62、X10.63、X10.64、X10.65、X10.66、X10.67、X10.68、X10.69、X10.70、X10.71、X10.72、X10.73、X10.74、X10.75、X10.76、X10.77、X10.78、X10.79、X10.80、X10.81、X10.82、X10.83、X10.84、X10.85、X10.86、X10.87、X10.88、X10.89、X10.90、X10.91、X10.92、X10.93、X10.94、X10.95、X10.96、X10.97、X10.98、X10.99、X10.100、X10.101、X10.102、X10.103、X10.104、X10.105、X10.106、X10.107、X10.108、X10.109、X10.110、X10.111、X10.112、X10.113、X10.114、X10.115、X10.116、X10.117、X10.118、X10.119、X10.120、X10.121、X10.122、X10.123、X10.124、X10.125、X10.126、X10.127、X10.128、X10.129、X10.130、X10.131、X10.132、X10.133、X10.134、X10.135、X10.136、X10.137、X10.138、X10.139、X10.140、X10.141、X10.142、X10.143、X10.144、X10.145、X10.146、X10.147について記載されたものなどの置換の組合せを作製することができることがさらに想定され得る(図11、図12)。さらに、上記の抗CD38抗体を、抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質として構築し、本明細書に記載の機能的活性について試験することができた。

【0 2 1 9】

H929多発性骨髄腫異種移植片モデル

10A2バリエーションA10.0及びA10A2.0のin vivoでの効力をNCI-H929 s.c.マウス多発性骨髄腫モデルにおいて評価した。図27。両方ともこのモデルにおいて強力な抗腫瘍活性を有することが示された。そのようなモデルを用いて、本明細書に記載の他のタンパク質構築物の抗腫瘍活性について試験することができた。

【0 2 2 0】

10A2バリエーションに関するオフターゲット活性

野生型及び弱毒化インターフェロン145Dに融合した親A10A2.0キメラ抗体と比較した10A2バリエーションA10.0、A10.38、A10A2.37及びA10A2.39のオフターゲット活性を、iLiteリポーター遺伝子アッセイ及び/又はHEK Blueアッセイにおいて評価し、図28及び図29に示す。EC<sub>50</sub>値を図28及び図29に提供する。オフターゲット活性は、インターフェロンの弱毒化及び機能を回復するためにCD38に標的化される抗体の必要性を確認する。

【0221】

A10.0及び関連構築物に関するさらなるin vitro効力データ

上記の抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質の選択物を精製し、細胞に基づくアッセイにおいてCD38陽性細胞への結合について分析した。さらに、効力アッセイを繰り返して、これらの抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質のそれぞれの相対的活性をより正確に決定した。これらの様々なアッセイのための方法は、実施例5に記載されている。これらのアッセイのそれぞれの結果を、Table 27(表31)に記載する。

【0222】

【表 3 1】

Table 27

| 抗 CD38 抗体-弱毒化 IFN 融合タンパク質 | H929 フロー結合 (μg/mL での EC <sub>50</sub> ) | アネキシン V アッセイ(未処理の細胞と比較した倍数変化) | カスパーゼ アッセイ(未処理の細胞と比較した倍数変化) | 細胞増殖アッセイ IC <sub>50</sub> (pM) | 図面番号                              |
|---------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| A10.0                     | 1.49                                    | 3.05                          | 1.38                        | 120.8                          | 17,18,21,22,23, 24,25,26,27 28,29 |
| A10.1                     | 1.03                                    | 1.34                          | 4.63                        | 63.6                           | 24, 25                            |
| A10.2                     | 0.57                                    | 1.37                          | 4.37                        | 45.6                           | 24, 25                            |
| A10.3                     | 0.55                                    | 1.43                          | 5.52                        | 65.8                           | 24, 25                            |
| A10.5                     | 0.48                                    | 3.27                          | 1.61                        | 53.79                          | 24, 25                            |
| A10.6                     | 0.35                                    | 3.16                          | 1.66                        | 98.85                          | 24, 25                            |
| A10.10                    | 6.84                                    | 3.02                          | 1.64                        | 1967.00                        | 24, 25                            |
| A10.14                    | 2.26                                    | 2.46                          | 1.56                        | 2207                           | 22, 24, 25                        |
| A10.15                    | 2.06                                    | 3.06                          | 2.55                        | 174.4                          | 22, 24, 25                        |
| A10.16                    | 1.17                                    | 1.35                          | 5.18                        | 49.5                           | 24, 25                            |
| A10.18                    | 1.03                                    | 2.95                          | 1.70                        | 124.2                          | 22, 24, 25                        |
| A10.20                    | 2.11                                    | 2.84                          | 1.26                        | 656                            | 24, 25                            |
| A10.21                    | 0.78                                    | 3.0                           | 1.39                        | 147.3                          | 22, 24, 25                        |
| A10.24                    | 0.81                                    | 2.95                          | 7.47                        | 87.99                          | 22, 24, 25                        |
| A10.25                    | 1.37                                    | 2.75                          | 1.38                        | 27.69                          | 24, 25                            |
| A10.30                    | 0.88                                    | 3.22                          | 1.60                        | 18.73                          | 24, 25                            |
| A10.32                    | 51.69                                   | 1.93                          | 1.19                        | 381.4                          | 24, 25                            |
| A10.35                    | 1.10                                    | 2.97                          | 2.05                        | 93.96                          | 22, 24, 25                        |
| A10.36                    | 1.53                                    | 3.21                          | 3.61                        | 57.83                          | 22, 24, 25                        |
| A10.37                    | 18.57                                   | 2.53                          | 1.40                        | 163.5                          | 24, 25                            |
| A10.38                    | 1.13                                    | 3.27                          | 1.53                        | 36.79                          | 23, 24, 25, 26, 29                |
| A10.40                    | 0.99                                    | 1.44                          | 5.16                        | 3.02                           | 24, 25                            |
| A10.42                    | 1.61                                    | 1.58                          | 1.78                        | 155.3                          | 24, 25                            |
| A10.43                    | 1.20                                    | 1.64                          | 1.79                        | 120.9                          | 24, 25                            |
| A10.44                    | 1.65                                    | 1.58                          | 1.91                        | 308.6                          | 24, 25                            |
| A10.46                    | 0.73                                    | 1.84                          | 5.99                        | 2.63                           | 24, 25                            |
| A10.47                    | 0.79                                    | 1.70                          | 1.53                        | 5.707                          | 24, 25                            |
| A10.48                    | 1.72                                    | 1.58                          | 1.60                        | 22.33                          | 24, 25                            |
| A10.53                    | 1.32                                    | 1.56                          | 1.67                        | 56.01                          | 24, 25                            |
| A10.54                    | 5.90                                    | 1.52                          | 1.43                        | 2008                           | 24, 25                            |
| A10.56                    | 2.43                                    | 1.84                          | 1.95                        | 141.7                          | 24, 25                            |
| A10.57                    | 1.54                                    | 1.49                          | 4.71                        | 126.1                          | 24, 25                            |
| A10.59                    | 0.89                                    | 2.48                          | 2.38                        | 45.75                          | 21, 24, 25                        |

フロー結合を、H929 細胞株において決定した。アネキシン V アッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後にアネキシン V-FITC により陽性に染色される細胞を指す。カスパーゼアッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。

## 【0 2 2 3】

代替的定常領域を有する抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質

A10.0は、タンパク質の定常領域がHC-L0-IFN-アルファ(A145D)IgG4(配列番号9)である抗CD38抗体-弱毒化IFN融合タンパク質を含む。遺伝子合成を用いて、このタンパク質の定常領域をHC-L0-IFN-アルファ(A145D)IgG1(配列番号10)と置き換え、A10.0軽鎖(配列番号1

10

20

30

40

50

61)と対形成させ、A10.59と命名した。タンパク質は発現され、機能的アッセイにおいて強力であることがわかった(Table 28(表32))。前記実施例において試験したタンパク質の大部分をヒトIgG4定常領域上で構築したが、これらのデータは、ヒトIgG1などの他の抗体定常領域を用いることもでき、得られる抗体-弱毒化IFN融合構築物がヒトIgG4定常領域を用いる構築物と同等の強力な生物活性を有することを示している。

【0224】

【表32】

Table 28

| 抗 CD38 抗体-弱毒化 IFN 融合タンパク質 | H929 フロ一結合 (μg/mL での EC <sub>50</sub> ) | アネキシン V アッセイ (未処理の細胞と比較した倍数変化) | カスパーゼアッセイ(未処理の細胞と比較した倍数変化) | 細胞増殖アッセイ IC <sub>50</sub> (pM)* | 図面番号       |
|---------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------|----------------------------|---------------------------------|------------|
| A10.0                     | 1.50                                    | 3.05                           | 1.89                       | 2081                            | 21, 24, 25 |
| A10.59                    | 0.89                                    | 2.48                           | 2.38                       | 328.6                           | 21, 24, 25 |

アネキシン V アッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後にアネキシン V-FITC により陽性に染色される細胞を指す。カスパーゼアッセイは、20nM の抗体構築物を用いる 24h の処理後の細胞のカスパーゼ活性化を指す。N/T は試験せず、\*細胞培養上清を用いて評価された細胞増殖アッセイから得られたデータである。

【0225】

Table 29(表33)は、本明細書に記載の各抗体に関する可変重鎖、可変軽鎖及び定常領域の対を列挙するものである。Table 30(表34)は、本開示で用いられる配列を列挙し、AAはアミノ酸(配列型)を指し、DNAはポリヌクレオチド(配列型)を指す。

【0226】

【表 3 3 A】

Table 29

| 抗体名     | 可変重鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 重鎖定常領域の配<br>列番号(アミノ酸) |
|---------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| A02.10  | 19                  | 14                  | 9                     |
| A02.11  | 20                  | 14                  | 9                     |
| A02.112 | 34                  | 65                  | 10                    |
| A02.12  | 34                  | 65                  | 9                     |
| A02.13  | 35                  | 65                  | 9                     |
| A02.16  | 34                  | 92                  | 9                     |
| A02.17  | 34                  | 93                  | 9                     |
| A02.18  | 34                  | 73                  | 9                     |
| A02.19  | 34                  | 74                  | 9                     |
| A02.2   | 13                  | 65                  | 9                     |
| A02.20  | 34                  | 75                  | 9                     |
| A02.21  | 34                  | 76                  | 9                     |
| A02.22  | 34                  | 77                  | 9                     |
| A02.23  | 34                  | 78                  | 9                     |
| A02.24  | 34                  | 79                  | 9                     |
| A02.25  | 34                  | 80                  | 9                     |
| A02.26  | 34                  | 81                  | 9                     |
| A02.27  | 34                  | 82                  | 9                     |
| A02.28  | 34                  | 83                  | 9                     |
| A02.29  | 34                  | 84                  | 9                     |
| A02.3   | 17                  | 65                  | 9                     |
| A02.30  | 34                  | 85                  | 9                     |
| A02.31  | 34                  | 86                  | 9                     |
| A02.32  | 34                  | 87                  | 9                     |
| A02.33  | 34                  | 88                  | 9                     |
| A02.34  | 34                  | 89                  | 9                     |
| A02.35  | 34                  | 90                  | 9                     |
| A02.36  | 34                  | 91                  | 9                     |
| A02.37  | 34                  | 66                  | 9                     |
| A02.38  | 34                  | 113                 | 9                     |
| A02.39  | 34                  | 112                 | 9                     |
| A02.4   | 18                  | 65                  | 9                     |
| A02.40  | 111                 | 65                  | 9                     |
| A02.41  | 110                 | 65                  | 9                     |
| A02.43  | 110                 | 113                 | 9                     |
| A02.44  | 111                 | 112                 | 9                     |
| A02.46  | 34                  | 67                  | 9                     |
| A02.47  | 34                  | 68                  | 9                     |

【0 2 2 7】

【表 3 3 B】

| 抗体名    | 可変重鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 重鎖定常領域の配<br>列番号(アミノ酸) |
|--------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| A02.48 | 34                  | 69                  | 9                     |
| A02.49 | 34                  | 70                  | 9                     |
| A02.5  | 19                  | 65                  | 9                     |
| A02.50 | 34                  | 71                  | 9                     |
| A02.51 | 34                  | 72                  | 9                     |
| A02.52 | 34                  | 94                  | 9                     |
| A02.53 | 34                  | 95                  | 9                     |
| A02.54 | 34                  | 96                  | 9                     |
| A02.55 | 34                  | 97                  | 9                     |
| A02.56 | 34                  | 98                  | 9                     |
| A02.57 | 34                  | 99                  | 9                     |
| A02.58 | 34                  | 100                 | 9                     |
| A02.59 | 34                  | 101                 | 9                     |
| A02.6  | 20                  | 65                  | 9                     |
| A02.60 | 34                  | 102                 | 9                     |
| A02.61 | 34                  | 103                 | 9                     |
| A02.62 | 34                  | 104                 | 9                     |
| A02.63 | 34                  | 105                 | 9                     |
| A02.64 | 34                  | 106                 | 9                     |
| A02.65 | 34                  | 107                 | 9                     |
| A02.66 | 34                  | 108                 | 9                     |
| A02.67 | 34                  | 109                 | 9                     |
| A02.8  | 17                  | 14                  | 9                     |
| A02.9  | 18                  | 14                  | 9                     |
| A10.1  | 165                 | 161                 | 9                     |
| A10.10 | 174                 | 161                 | 9                     |
| A10.11 | 175                 | 161                 | 9                     |
| A10.12 | 176                 | 161                 | 9                     |
| A10.13 | 177                 | 161                 | 9                     |
| A10.14 | 178                 | 161                 | 9                     |
| A10.15 | 179                 | 161                 | 9                     |
| A10.16 | 180                 | 161                 | 9                     |
| A10.17 | 156                 | 181                 | 9                     |
| A10.18 | 156                 | 182                 | 9                     |
| A10.19 | 156                 | 183                 | 9                     |
| A10.2  | 166                 | 161                 | 9                     |
| A10.20 | 156                 | 184                 | 9                     |
| A10.21 | 156                 | 185                 | 9                     |
| A10.22 | 156                 | 186                 | 9                     |
| A10.23 | 156                 | 187                 | 9                     |

【0 2 2 8】

【表 3 3 C】

| 抗体名           | 可変重鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 重鎖定常領域の配<br>列番号(アミノ酸) |
|---------------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| A10.24        | 156                 | 188                 | 9                     |
| A10.25        | 156                 | 189                 | 9                     |
| A10.26        | 156                 | 190                 | 9                     |
| A10.27        | 156                 | 191                 | 9                     |
| A10.28        | 156                 | 192                 | 9                     |
| A10.29        | 156                 | 193                 | 9                     |
| A10.3         | 167                 | 161                 | 9                     |
| A10.30        | 156                 | 194                 | 9                     |
| A10.31        | 156                 | 195                 | 9                     |
| A10.32        | 156                 | 196                 | 9                     |
| A10.35        | 197                 | 161                 | 9                     |
| A10.36        | 156                 | 198                 | 9                     |
| A10.38        | 152                 | 161                 | 9                     |
| A10.39        | 152                 | 181                 | 9                     |
| A10.4         | 168                 | 161                 | 9                     |
| A10.40        | 152                 | 182                 | 9                     |
| A10.41        | 152                 | 183                 | 9                     |
| A10.42        | 152                 | 184                 | 9                     |
| A10.43        | 152                 | 185                 | 9                     |
| A10.44        | 152                 | 186                 | 9                     |
| A10.45        | 152                 | 187                 | 9                     |
| A10.46        | 152                 | 188                 | 9                     |
| A10.47        | 152                 | 189                 | 9                     |
| A10.48        | 152                 | 190                 | 9                     |
| A10.49        | 152                 | 191                 | 9                     |
| A10.5         | 169                 | 161                 | 9                     |
| A10.50        | 152                 | 192                 | 9                     |
| A10.51        | 152                 | 193                 | 9                     |
| A10.52        | 152                 | 194                 | 9                     |
| A10.53        | 152                 | 195                 | 9                     |
| A10.54        | 152                 | 196                 | 9                     |
| A10.57        | 152                 | 198                 | 9                     |
| A10.59        | 156                 | 161                 | 10                    |
| A10.6         | 170                 | 161                 | 9                     |
| A10.7         | 171                 | 161                 | 9                     |
| A10.8         | 172                 | 161                 | 9                     |
| A10.9         | 173                 | 161                 | 9                     |
| A10A2.0 (キメラ) | 148                 | 157                 | 9                     |
| A10A2.1       | 149                 | 158                 | 9                     |
| A10A2.10      | 150                 | 160                 | 9                     |

【0 2 2 9】

【表 3 3 D】

| 抗体名      | 可変重鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 重鎖定常領域の配<br>列番号(アミノ酸) |
|----------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| A10A2.11 | 150                 | 161                 | 9                     |
| A10A2.12 | 150                 | 162                 | 9                     |
| A10A2.13 | 150                 | 163                 | 9                     |
| A10A2.14 | 150                 | 164                 | 9                     |
| A10A2.15 | 151                 | 158                 | 9                     |
| A10A2.16 | 151                 | 159                 | 9                     |
| A10A2.17 | 151                 | 160                 | 9                     |
| A10A2.18 | 151                 | 161                 | 9                     |
| A10A2.19 | 151                 | 162                 | 9                     |
| A10A2.2  | 149                 | 159                 | 9                     |
| A10A2.20 | 151                 | 163                 | 9                     |
| A10A2.21 | 151                 | 164                 | 9                     |
| A10A2.22 | 152                 | 158                 | 9                     |
| A10A2.23 | 152                 | 159                 | 9                     |
| A10A2.24 | 152                 | 160                 | 9                     |
| A10A2.25 | 152                 | 161                 | 9                     |
| A10A2.26 | 152                 | 162                 | 9                     |
| A10A2.27 | 152                 | 163                 | 9                     |
| A10A2.28 | 152                 | 164                 | 9                     |
| A10A2.29 | 153                 | 158                 | 9                     |
| A10A2.3  | 149                 | 160                 | 9                     |
| A10A2.30 | 153                 | 159                 | 9                     |
| A10A2.31 | 153                 | 160                 | 9                     |
| A10A2.32 | 153                 | 161                 | 9                     |
| A10A2.33 | 153                 | 162                 | 9                     |
| A10A2.34 | 153                 | 163                 | 9                     |
| A10A2.35 | 153                 | 164                 | 9                     |
| A10A2.36 | 154                 | 158                 | 9                     |
| A10A2.37 | 154                 | 159                 | 9                     |
| A10A2.38 | 154                 | 160                 | 9                     |
| A10A2.39 | 154                 | 161                 | 9                     |
| A10A2.4  | 149                 | 161                 | 9                     |
| A10A2.40 | 154                 | 162                 | 9                     |
| A10A2.41 | 154                 | 163                 | 9                     |
| A10A2.42 | 154                 | 164                 | 9                     |
| A10A2.43 | 154                 | 158                 | 9                     |
| A10A2.44 | 155                 | 159                 | 9                     |
| A10A2.45 | 155                 | 160                 | 9                     |
| A10A2.46 | 155                 | 161                 | 9                     |
| A10A2.47 | 155                 | 162                 | 9                     |

【 0 2 3 0 】

【表 3 3 E】

| 抗体名          | 可変重鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 重鎖定常領域の配<br>列番号(アミノ酸) |
|--------------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| A10A2.48     | 155                 | 163                 | 9                     |
| A10A2.49     | 155                 | 164                 | 9                     |
| A10A2.5      | 149                 | 162                 | 9                     |
| A10A2.50     | 156                 | 158                 | 9                     |
| A10A2.51     | 156                 | 159                 | 9                     |
| A10A2.52     | 156                 | 160                 | 9                     |
| A10A2.53     | 156                 | 161                 | 9                     |
| A10A2.54     | 156                 | 162                 | 9                     |
| A10A2.55     | 156                 | 163                 | 9                     |
| A10A2.56     | 156                 | 164                 | 9                     |
| A10A2.6      | 149                 | 163                 | 9                     |
| A10A2.7      | 149                 | 164                 | 9                     |
| A10A2.8      | 150                 | 158                 | 9                     |
| A10A2.9      | 150                 | 159                 | 9                     |
| A5D1.0 (キメラ) | 114                 | 125                 | 9                     |
| A5D1.1       | 115                 | 126                 | 9                     |
| A5D1.10      | 116                 | 129                 | 9                     |
| A5D1.11      | 116                 | 130                 | 9                     |
| A5D1.12      | 116                 | 131                 | 9                     |
| A5D1.13      | 117                 | 126                 | 9                     |
| A5D1.14      | 117                 | 127                 | 9                     |
| A5D1.15      | 117                 | 128                 | 9                     |
| A5D1.16      | 117                 | 129                 | 9                     |
| A5D1.17      | 117                 | 130                 | 9                     |
| A5D1.18      | 117                 | 131                 | 9                     |
| A5D1.19      | 118                 | 126                 | 9                     |
| A5D1.2       | 115                 | 127                 | 9                     |
| A5D1.20      | 118                 | 127                 | 9                     |
| A5D1.21      | 118                 | 128                 | 9                     |
| A5D1.22      | 118                 | 129                 | 9                     |
| A5D1.23      | 118                 | 130                 | 9                     |
| A5D1.24      | 118                 | 131                 | 9                     |
| A5D1.25      | 119                 | 126                 | 9                     |
| A5D1.26      | 119                 | 127                 | 9                     |
| A5D1.27      | 119                 | 128                 | 9                     |
| A5D1.28      | 119                 | 129                 | 9                     |
| A5D1.29      | 119                 | 130                 | 9                     |
| A5D1.3       | 115                 | 128                 | 9                     |
| A5D1.30      | 119                 | 131                 | 9                     |
| A5D1.31      | 120                 | 126                 | 9                     |

【0 2 3 1】

【表 3 3 F】

| 抗体名          | 可変重鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 重鎖定常領域の配<br>列番号(アミノ酸) |
|--------------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| A5D1.32      | 120                 | 127                 | 9                     |
| A5D1.33      | 120                 | 128                 | 9                     |
| A5D1.34      | 120                 | 129                 | 9                     |
| A5D1.35      | 120                 | 130                 | 9                     |
| A5D1.36      | 120                 | 131                 | 9                     |
| A5D1.37      | 121                 | 126                 | 9                     |
| A5D1.38      | 121                 | 127                 | 9                     |
| A5D1.39      | 121                 | 128                 | 9                     |
| A5D1.4       | 115                 | 129                 | 9                     |
| A5D1.40      | 121                 | 129                 | 9                     |
| A5D1.41      | 121                 | 130                 | 9                     |
| A5D1.42      | 121                 | 131                 | 9                     |
| A5D1.43      | 122                 | 126                 | 9                     |
| A5D1.44      | 122                 | 127                 | 9                     |
| A5D1.45      | 122                 | 128                 | 9                     |
| A5D1.46      | 122                 | 129                 | 9                     |
| A5D1.47      | 122                 | 130                 | 9                     |
| A5D1.48      | 122                 | 131                 | 9                     |
| A5D1.49      | 123                 | 126                 | 9                     |
| A5D1.5       | 115                 | 130                 | 9                     |
| A5D1.50      | 123                 | 127                 | 9                     |
| A5D1.51      | 123                 | 128                 | 9                     |
| A5D1.52      | 123                 | 129                 | 9                     |
| A5D1.53      | 123                 | 130                 | 9                     |
| A5D1.54      | 123                 | 131                 | 9                     |
| A5D1.55      | 124                 | 126                 | 9                     |
| A5D1.56      | 124                 | 127                 | 9                     |
| A5D1.57      | 124                 | 128                 | 9                     |
| A5D1.58      | 124                 | 129                 | 9                     |
| A5D1.59      | 124                 | 130                 | 9                     |
| A5D1.6       | 115                 | 131                 | 9                     |
| A5D1.60      | 124                 | 131                 | 9                     |
| A5D1.7       | 116                 | 126                 | 9                     |
| A5D1.8       | 116                 | 127                 | 9                     |
| A5D1.9       | 116                 | 128                 | 9                     |
| A5E8.0 (キメラ) | 132                 | 143                 | 9                     |
| A5E8.1       | 133                 | 144                 | 9                     |
| A5E8.10      | 135                 | 145                 | 9                     |
| A5E8.11      | 135                 | 146                 | 9                     |
| A5E8.12      | 135                 | 147                 | 9                     |

【 0 2 3 2 】

【表 3 3 G】

| 抗体名     | 可変重鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 重鎖定常領域の配<br>列番号(アミノ酸) |
|---------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| A5E8.13 | 136                 | 144                 | 9                     |
| A5E8.14 | 136                 | 145                 | 9                     |
| A5E8.15 | 136                 | 146                 | 9                     |
| A5E8.16 | 136                 | 147                 | 9                     |
| A5E8.17 | 137                 | 144                 | 9                     |
| A5E8.18 | 137                 | 145                 | 9                     |
| A5E8.19 | 137                 | 146                 | 9                     |
| A5E8.2  | 133                 | 145                 | 9                     |
| A5E8.20 | 137                 | 147                 | 9                     |
| A5E8.21 | 138                 | 144                 | 9                     |
| A5E8.22 | 138                 | 145                 | 9                     |
| A5E8.23 | 138                 | 146                 | 9                     |
| A5E8.24 | 138                 | 147                 | 9                     |
| A5E8.25 | 139                 | 144                 | 9                     |
| A5E8.26 | 139                 | 145                 | 9                     |
| A5E8.27 | 139                 | 146                 | 9                     |
| A5E8.28 | 139                 | 147                 | 9                     |
| A5E8.29 | 140                 | 144                 | 9                     |
| A5E8.3  | 133                 | 146                 | 9                     |
| A5E8.30 | 140                 | 145                 | 9                     |
| A5E8.31 | 140                 | 146                 | 9                     |
| A5E8.32 | 140                 | 147                 | 9                     |
| A5E8.33 | 141                 | 144                 | 9                     |
| A5E8.34 | 141                 | 145                 | 9                     |
| A5E8.35 | 141                 | 146                 | 9                     |
| A5E8.36 | 141                 | 147                 | 9                     |
| A5E8.37 | 142                 | 144                 | 9                     |
| A5E8.38 | 142                 | 145                 | 9                     |
| A5E8.39 | 142                 | 146                 | 9                     |
| A5E8.4  | 133                 | 147                 | 9                     |
| A5E8.40 | 142                 | 147                 | 9                     |
| A5E8.5  | 134                 | 144                 | 9                     |
| A5E8.6  | 134                 | 145                 | 9                     |
| A5E8.7  | 134                 | 146                 | 9                     |
| A5E8.8  | 134                 | 147                 | 9                     |
| A5E8.9  | 135                 | 144                 | 9                     |
| X02.10  | 19                  | 14                  | 3                     |
| X02.100 | 13                  | 58                  | 3                     |
| X02.101 | 13                  | 59                  | 3                     |
| X02.102 | 13                  | 60                  | 3                     |

【 0 2 3 3 】

【表 3 3 H】

| 抗体名     | 可変重鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 重鎖定常領域の配<br>列番号(アミノ酸) |
|---------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| X02.103 | 13                  | 61                  | 3                     |
| X02.104 | 13                  | 62                  | 3                     |
| X02.105 | 13                  | 63                  | 3                     |
| X02.106 | 13                  | 64                  | 3                     |
| X02.107 | 13                  | 65                  | 3                     |
| X02.108 | 32                  | 14                  | 3                     |
| X02.11  | 20                  | 14                  | 3                     |
| X02.110 | 33                  | 14                  | 3                     |
| X02.114 | 13                  | 660                 | 3                     |
| X02.115 | 13                  | 661                 | 3                     |
| X02.116 | 13                  | 662                 | 3                     |
| X02.117 | 13                  | 663                 | 3                     |
| X02.118 | 34                  | 700                 | 3                     |
| X02.119 | 34                  | 701                 | 3                     |
| X02.120 | 728                 | 700                 | 3                     |
| X02.121 | 729                 | 700                 | 3                     |
| X02.122 | 730                 | 700                 | 3                     |
| X02.123 | 731                 | 700                 | 3                     |
| X02.124 | 728                 | 701                 | 3                     |
| X02.125 | 729                 | 701                 | 3                     |
| X02.126 | 730                 | 701                 | 3                     |
| X02.127 | 731                 | 701                 | 3                     |
| X02.68  | 21                  | 14                  | 3                     |
| X02.69  | 22                  | 14                  | 3                     |
| X02.70  | 23                  | 14                  | 3                     |
| X02.71  | 24                  | 14                  | 3                     |
| X02.72  | 25                  | 14                  | 3                     |
| X02.73  | 26                  | 14                  | 3                     |
| X02.74  | 27                  | 14                  | 3                     |
| X02.75  | 28                  | 14                  | 3                     |
| X02.76  | 29                  | 14                  | 3                     |
| X02.77  | 30                  | 14                  | 3                     |
| X02.78  | 31                  | 14                  | 3                     |
| X02.8   | 17                  | 14                  | 3                     |
| X02.80  | 13                  | 38                  | 3                     |
| X02.81  | 13                  | 39                  | 3                     |
| X02.82  | 13                  | 40                  | 3                     |
| X02.83  | 13                  | 41                  | 3                     |
| X02.84  | 13                  | 42                  | 3                     |
| X02.85  | 13                  | 43                  | 3                     |

【 0 2 3 4 】

【表 3 3 I】

| 抗体名     | 可変重鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 重鎖定常領域の配<br>列番号(アミノ酸) |
|---------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| X02.86  | 13                  | 44                  | 3                     |
| X02.87  | 13                  | 45                  | 3                     |
| X02.88  | 13                  | 46                  | 3                     |
| X02.89  | 13                  | 47                  | 3                     |
| X02.9   | 18                  | 14                  | 3                     |
| X02.90  | 13                  | 48                  | 3                     |
| X02.91  | 13                  | 49                  | 3                     |
| X02.92  | 13                  | 50                  | 3                     |
| X02.93  | 13                  | 51                  | 3                     |
| X02.94  | 13                  | 52                  | 3                     |
| X02.95  | 13                  | 53                  | 3                     |
| X02.96  | 13                  | 54                  | 3                     |
| X02.97  | 13                  | 55                  | 3                     |
| X02.98  | 13                  | 56                  | 3                     |
| X02.99  | 13                  | 57                  | 3                     |
| X10.100 | 720                 | 706                 | 3                     |
| X10.101 | 721                 | 706                 | 3                     |
| X10.102 | 722                 | 706                 | 3                     |
| X10.103 | 723                 | 706                 | 3                     |
| X10.104 | 739                 | 706                 | 3                     |
| X10.105 | 740                 | 706                 | 3                     |
| X10.106 | 741                 | 706                 | 3                     |
| X10.107 | 742                 | 706                 | 3                     |
| X10.108 | 720                 | 707                 | 3                     |
| X10.109 | 721                 | 707                 | 3                     |
| X10.110 | 722                 | 707                 | 3                     |
| X10.111 | 723                 | 707                 | 3                     |
| X10.112 | 739                 | 707                 | 3                     |
| X10.113 | 740                 | 707                 | 3                     |
| X10.114 | 741                 | 707                 | 3                     |
| X10.115 | 742                 | 707                 | 3                     |
| X10.116 | 720                 | 708                 | 3                     |
| X10.117 | 721                 | 708                 | 3                     |
| X10.118 | 722                 | 708                 | 3                     |
| X10.119 | 723                 | 708                 | 3                     |
| X10.120 | 739                 | 708                 | 3                     |
| X10.121 | 740                 | 708                 | 3                     |
| X10.122 | 741                 | 708                 | 3                     |
| X10.123 | 742                 | 708                 | 3                     |
| X10.124 | 720                 | 709                 | 3                     |

【0 2 3 5】

【表 3 3 J】

| 抗体名     | 可変重鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 重鎖定常領域の配<br>列番号(アミノ酸) |
|---------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| X10.125 | 721                 | 709                 | 3                     |
| X10.126 | 722                 | 709                 | 3                     |
| X10.127 | 723                 | 709                 | 3                     |
| X10.128 | 739                 | 709                 | 3                     |
| X10.129 | 740                 | 709                 | 3                     |
| X10.130 | 741                 | 709                 | 3                     |
| X10.131 | 742                 | 709                 | 3                     |
| X10.132 | 720                 | 710                 | 3                     |
| X10.133 | 721                 | 710                 | 3                     |
| X10.134 | 722                 | 710                 | 3                     |
| X10.135 | 723                 | 710                 | 3                     |
| X10.136 | 739                 | 710                 | 3                     |
| X10.137 | 740                 | 710                 | 3                     |
| X10.138 | 741                 | 710                 | 3                     |
| X10.139 | 742                 | 710                 | 3                     |
| X10.140 | 720                 | 711                 | 3                     |
| X10.141 | 721                 | 711                 | 3                     |
| X10.142 | 722                 | 711                 | 3                     |
| X10.143 | 723                 | 711                 | 3                     |
| X10.144 | 739                 | 711                 | 3                     |
| X10.145 | 740                 | 711                 | 3                     |
| X10.146 | 741                 | 711                 | 3                     |
| X10.147 | 742                 | 711                 | 3                     |
| X10.60  | 156                 | 704                 | 3                     |
| X10.61  | 156                 | 705                 | 3                     |
| X10.62  | 156                 | 706                 | 3                     |
| X10.63  | 156                 | 707                 | 3                     |
| X10.64  | 156                 | 708                 | 3                     |
| X10.65  | 156                 | 709                 | 3                     |
| X10.66  | 156                 | 710                 | 3                     |
| X10.67  | 156                 | 711                 | 3                     |
| X10.68  | 720                 | 161                 | 3                     |
| X10.69  | 721                 | 161                 | 3                     |
| X10.70  | 722                 | 161                 | 3                     |
| X10.71  | 723                 | 161                 | 3                     |
| X10.72  | 739                 | 161                 | 3                     |
| X10.73  | 740                 | 161                 | 3                     |
| X10.74  | 741                 | 161                 | 3                     |
| X10.75  | 742                 | 161                 | 3                     |
| X10.76  | 152                 | 704                 | 3                     |

【0 2 3 6】

【表 3 3 K】

| 抗体名                                      | 可変重鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 可変軽鎖の配列<br>番号(アミノ酸) | 重鎖定常領域の配<br>列番号(アミノ酸) |
|------------------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| X10.77                                   | 152                 | 705                 | 3                     |
| X10.78                                   | 152                 | 706                 | 3                     |
| X10.79                                   | 152                 | 707                 | 3                     |
| X10.80                                   | 152                 | 708                 | 3                     |
| X10.81                                   | 152                 | 709                 | 3                     |
| X10.82                                   | 152                 | 710                 | 3                     |
| X10.83                                   | 152                 | 711                 | 3                     |
| X10.84                                   | 720                 | 704                 | 3                     |
| X10.85                                   | 721                 | 704                 | 3                     |
| X10.86                                   | 722                 | 704                 | 3                     |
| X10.87                                   | 723                 | 704                 | 3                     |
| X10.88                                   | 739                 | 704                 | 3                     |
| X10.89                                   | 740                 | 704                 | 3                     |
| X10.90                                   | 741                 | 704                 | 3                     |
| X10.91                                   | 742                 | 704                 | 3                     |
| X10.92                                   | 720                 | 705                 | 3                     |
| X10.93                                   | 721                 | 705                 | 3                     |
| X10.94                                   | 722                 | 705                 | 3                     |
| X10.95                                   | 723                 | 705                 | 3                     |
| X10.96                                   | 739                 | 705                 | 3                     |
| X10.97                                   | 740                 | 705                 | 3                     |
| X10.98                                   | 741                 | 705                 | 3                     |
| X10.99                                   | 742                 | 705                 | 3                     |
| X910/12-HC-L0- IFN-<br>アルファ (A145D) IgG4 | 110                 | 112                 | 9                     |
| X913/15-HC-L0- IFN-<br>アルファ (A145D) IgG4 | 111                 | 113                 | 9                     |

【 0 2 3 7 】

【表 3 4 A】

Table 30

| 配列番号 | 型  | 説明                          |
|------|----|-----------------------------|
| 1    | AA | ヒト CD38                     |
| 2    | AA | カニクイザル CD38                 |
| 3    | AA | ヒト IgG4 定常重鎖                |
| 4    | AA | ヒト IgG1 定常重鎖                |
| 5    | AA | ヒトカップバ定常領域                  |
| 6    | AA | ヒトラムダ定常領域                   |
| 7    | AA | IFN-アルファ 2b                 |
| 8    | AA | イントロン A                     |
| 9    | AA | HC-L0-IFN-アルファ (A145D) IgG4 |
| 10   | AA | HC-L0-IFN-アルファ (A145D) IgG1 |
| 11   | AA | A02.1 重鎖                    |
| 12   | AA | A02.1 軽鎖                    |
| 13   | AA | A02.1 可変重鎖                  |
| 14   | AA | A02.1 可変軽鎖                  |
| 15   | AA | X02.1VH 可変重鎖                |
| 16   | AA | IGHV4-61*01 生殖系列配列          |
| 17   | AA | X02.8VH 可変重鎖                |
| 18   | AA | X02.9VH 可変重鎖                |
| 19   | AA | X02.10VH 可変重鎖               |
| 20   | AA | X02.11VH 可変重鎖               |
| 21   | AA | X02.68VH 可変重鎖               |
| 22   | AA | X02.69VH 可変重鎖               |
| 23   | AA | X02.70VH 可変重鎖               |
| 24   | AA | X02.71VH 可変重鎖               |
| 25   | AA | X02.72VH 可変重鎖               |
| 26   | AA | X02.73VH 可変重鎖               |
| 27   | AA | X02.74VH 可変重鎖               |
| 28   | AA | X02.75VH 可変重鎖               |
| 29   | AA | X02.76VH 可変重鎖               |
| 30   | AA | X02.77VH 可変重鎖               |
| 31   | AA | X02.78VH 可変重鎖               |
| 32   | AA | X02.108VH 可変重鎖              |
| 33   | AA | X02.110VH 可変重鎖              |
| 34   | AA | A02.12VH 可変重鎖               |
| 35   | AA | A02.13VH 可変重鎖               |
| 36   | AA | A02.1VL 可変軽鎖                |
| 37   | AA | IGLV5-37*01 生殖系列配列          |
| 38   | AA | X02.80VL 可変軽鎖               |
| 39   | AA | X02.81VL 可変軽鎖               |
| 40   | AA | X02.82VL 可変軽鎖               |

10

20

30

40

【0 2 3 8】

【表 3 4 B】

| 配列番号 | 型  | 説明             |
|------|----|----------------|
| 41   | AA | X02.83VL 可変軽鎖  |
| 42   | AA | X02.84VL 可変軽鎖  |
| 43   | AA | X02.85VL 可変軽鎖  |
| 44   | AA | X02.86VL 可変軽鎖  |
| 45   | AA | X02.87VL 可変軽鎖  |
| 46   | AA | X02.88VL 可変軽鎖  |
| 47   | AA | X02.89VL 可変軽鎖  |
| 48   | AA | X02.90VL 可変軽鎖  |
| 49   | AA | X02.91VL 可変軽鎖  |
| 50   | AA | X02.92VL 可変軽鎖  |
| 51   | AA | X02.93VL 可変軽鎖  |
| 52   | AA | X02.94VL 可変軽鎖  |
| 53   | AA | X02.95VL 可変軽鎖  |
| 54   | AA | X02.96VL 可変軽鎖  |
| 55   | AA | X02.97VL 可変軽鎖  |
| 56   | AA | X02.98VL 可変軽鎖  |
| 57   | AA | X02.99VL 可変軽鎖  |
| 58   | AA | X02.100VL 可変軽鎖 |
| 59   | AA | X02.101VL 可変軽鎖 |
| 60   | AA | X02.102VL 可変軽鎖 |
| 61   | AA | X02.103VL 可変軽鎖 |
| 62   | AA | X02.104VL 可変軽鎖 |
| 63   | AA | X02.105VL 可変軽鎖 |
| 64   | AA | X02.106VL 可変軽鎖 |
| 65   | AA | X02.107VL 可変軽鎖 |
| 66   | AA | A02.37VL 可変軽鎖  |
| 67   | AA | A02.46VL 可変軽鎖  |
| 68   | AA | A02.47VL 可変軽鎖  |
| 69   | AA | A02.48VL 可変軽鎖  |
| 70   | AA | A02.49VL 可変軽鎖  |
| 71   | AA | A02.50VL 可変軽鎖  |
| 72   | AA | A02.51VL 可変軽鎖  |
| 73   | AA | A02.18VL 可変軽鎖  |
| 74   | AA | A02.19VL 可変軽鎖  |
| 75   | AA | A02.20VL 可変軽鎖  |
| 76   | AA | A02.21VL 可変軽鎖  |
| 77   | AA | A02.22VL 可変軽鎖  |
| 78   | AA | A02.23VL 可変軽鎖  |
| 79   | AA | A02.24VL 可変軽鎖  |
| 80   | AA | A02.25VL 可変軽鎖  |
| 81   | AA | A02.26VL 可変軽鎖  |

10

20

30

40

【表 3 4 C】

| 配列番号 | 型  | 説明               |
|------|----|------------------|
| 82   | AA | A02.27VL 可変軽鎖    |
| 83   | AA | A02.28VL 可変軽鎖    |
| 84   | AA | A02.29VL 可変軽鎖    |
| 85   | AA | A02.30VL 可変軽鎖    |
| 86   | AA | A02.31VL 可変軽鎖    |
| 87   | AA | A02.32VL 可変軽鎖    |
| 88   | AA | A02.33VL 可変軽鎖    |
| 89   | AA | A02.34VL 可変軽鎖    |
| 90   | AA | A02.35VL 可変軽鎖    |
| 91   | AA | A02.36VL 可変軽鎖    |
| 92   | AA | X02.16VL 可変軽鎖    |
| 93   | AA | X02.17VL 可変軽鎖    |
| 94   | AA | A02.52VL 可変軽鎖    |
| 95   | AA | A02.53VL 可変軽鎖    |
| 96   | AA | A02.54VL 可変軽鎖    |
| 97   | AA | A02.55VL 可変軽鎖    |
| 98   | AA | A02.56VL 可変軽鎖    |
| 99   | AA | A02.57VL 可変軽鎖    |
| 100  | AA | A02.58VL 可変軽鎖    |
| 101  | AA | A02.59VL 可変軽鎖    |
| 102  | AA | A02.60VL 可変軽鎖    |
| 103  | AA | A02.61VL 可変軽鎖    |
| 104  | AA | A02.62VL 可変軽鎖    |
| 105  | AA | A02.63VL 可変軽鎖    |
| 106  | AA | A02.64VL 可変軽鎖    |
| 107  | AA | A02.65VL 可変軽鎖    |
| 108  | AA | A02.66VL 可変軽鎖    |
| 109  | AA | A02.67VL 可変軽鎖    |
| 110  | AA | 910VH 可変重鎖       |
| 111  | AA | 915 VH 可変重鎖      |
| 112  | AA | 912VL 可変軽鎖       |
| 113  | AA | 913VL 可変軽鎖       |
| 114  | AA | キメラ 5D1-E2-VH    |
| 115  | AA | 5d1_1-f*01VH     |
| 116  | AA | 5d1_1-f*01VH94R  |
| 117  | AA | 5d1_1-18*01VH    |
| 118  | AA | 5d1_1-18*01VH71A |
| 119  | AA | 5d1_1-24*01VH    |
| 120  | AA | 5d1_1-24*01VH71A |
| 121  | AA | 5d1_1-24*01VH29F |
| 122  | AA | 5d1_1-24*01VH94R |

【0 2 4 0】

10

20

30

40

【表 3 4 D】

| 配列番号 | 型  | 説明                 |
|------|----|--------------------|
| 123  | AA | 5d1_1-45*01VH      |
| 124  | AA | 5d1_1-45*01VH71A   |
| 125  | AA | キメラ 5D1VK          |
| 126  | AA | 5d1_1-5*01VK       |
| 127  | AA | 5d1_1-9*01VK       |
| 128  | AA | 5d1_1-12*01VK      |
| 129  | AA | 5d1_1D-13*01VK     |
| 130  | AA | 5d1_1D-16*01VK     |
| 131  | AA | 5d1_3-15*01VK      |
| 132  | AA | キメラ 5E8            |
| 133  | AA | 5E8-1-f*01VH       |
| 134  | AA | 5E8-1-f*01VH30I    |
| 135  | AA | 5E8-1-f*01VH94R    |
| 136  | AA | 5E8-1-18*01VH      |
| 137  | AA | 5E8-1-18*01VH71A   |
| 138  | AA | 5E8-1-24*01VH      |
| 139  | AA | 5E8-1-24*01VH71A   |
| 140  | AA | 5E8-1-24*01VH94R   |
| 141  | AA | 5E8-1-45*01VH      |
| 142  | AA | 5E8-1-45*01VH71A   |
| 143  | AA | キメラ 5E8VK          |
| 144  | AA | 5E8-2-24*01VK      |
| 145  | AA | 5E8-2D-28*01VK     |
| 146  | AA | 5E8-2D-29*01VK     |
| 147  | AA | 5E8-2-30*01VK      |
| 148  | AA | 10A2 キメラ VH        |
| 149  | AA | 10A2_1-24*01VH     |
| 150  | AA | 10A2_1-24*01VH71A  |
| 151  | AA | 10A2_1-24*01VH94R  |
| 152  | AA | 10A2_1-24*0171A94R |
| 153  | AA | 10A2_1-45*01VH     |
| 154  | AA | 10A2_1-45*01VH71A  |
| 155  | AA | 10A2_1-f*01VH      |
| 156  | AA | 10A2_1-f*01VH94R   |
| 157  | AA | 10A2 キメラ VK        |
| 158  | AA | 10A2_1-9*01Vk      |
| 159  | AA | 10A2_1-12*01Vk     |
| 160  | AA | 10A2_1D-13*01Vk    |
| 161  | AA | 10A2_1-33*01Vk     |
| 162  | AA | 10A2_3-11*02Vk     |
| 163  | AA | 10A2_3-15*01Vk     |

10

20

30

40

【表 3 4 E】

| 配列番号 | 型  | 説明                 |
|------|----|--------------------|
| 164  | AA | 10A2_6-21*01Vk     |
| 165  | AA | 10A2VH + A40E      |
| 166  | AA | 10A2VH + A40G      |
| 167  | AA | 10A2VH + A40H      |
| 168  | AA | 10A2VH + A40Q      |
| 169  | AA | 10A2VH + A40S      |
| 170  | AA | 10A2VH + A40V      |
| 171  | AA | 10A2VH + N35E      |
| 172  | AA | 10A2VH + N35P      |
| 173  | AA | 10A2VH + N35Q      |
| 174  | AA | 10A2VH + N35S      |
| 175  | AA | 10A2VH + R94E      |
| 176  | AA | 10A2VH + R94G      |
| 177  | AA | 10A2VH + R94P      |
| 178  | AA | 10A2VH + R94T      |
| 179  | AA | 10A2VH + K96G      |
| 180  | AA | 10A2VH + K96T      |
| 181  | AA | 10A2VK + K24E      |
| 182  | AA | 10A2VK + K24G      |
| 183  | AA | 10A2VK + K24P      |
| 184  | AA | 10A2VK + K24Q      |
| 185  | AA | 10A2VK + R54D      |
| 186  | AA | 10A2VK + I48D      |
| 187  | AA | 10A2VK + Y49E      |
| 188  | AA | 10A2VK + M89A      |
| 189  | AA | 10A2VK + M89E      |
| 190  | AA | 10A2VK + M89H      |
| 191  | AA | 10A2VK + M89K      |
| 192  | AA | 10A2VK + M89P      |
| 193  | AA | 10A2VK + M89Q      |
| 194  | AA | 10A2VK + M89S      |
| 195  | AA | 10A2VK + M89V      |
| 196  | AA | 10A2VK + Q90D      |
| 197  | AA | 10A2VH (AQ) + N98Q |
| 198  | AA | 10A2VK (AV) + N53Q |
| 199  | AA | X02.1VH FWR1       |
| 200  | AA | X02.1VH CDR1       |
| 201  | AA | X02.1VH FWR2       |
| 202  | AA | X02.1VH CDR2       |
| 203  | AA | X02.1VH FWR3       |
| 204  | AA | X02.1VH CDR3       |

10

20

30

40

【0 2 4 2】

【表 3 4 F】

| 配列番号 | 型  | 説明               |
|------|----|------------------|
| 205  | AA | X02.1VH FWR4     |
| 206  | AA | IGHV4-61*01 FWR1 |
| 207  | AA | IGHV4-61*01 CDR1 |
| 208  | AA | IGHV4-61*01 FWR2 |
| 209  | AA | IGHV4-61*01 FWR3 |
| 210  | AA | X02.8VH FWR3     |
| 211  | AA | X02.9VH FWR2     |
| 212  | AA | X02.10VH FWR3    |
| 213  | AA | X02.11VH FWR3    |
| 214  | AA | X02.68VH FWR1    |
| 215  | AA | X02.69VH FWR1    |
| 216  | AA | X02.70VH FWR3    |
| 217  | AA | X02.71VH FWR1    |
| 218  | AA | X02.72VH FWR3    |
| 219  | AA | X02.73VH FWR1    |
| 220  | AA | X02.74VH CDR3    |
| 221  | AA | X02.75VH FWR3    |
| 222  | AA | X02.76VH CDR3    |
| 223  | AA | X02.77VH CDR3    |
| 224  | AA | X02.78VH CDR1    |
| 225  | AA | X02.108 FWR3     |
| 226  | AA | X02.110VH FWR3   |
| 227  | AA | A02.12VH FWR3    |
| 228  | AA | A02.12VH CDR3    |
| 229  | AA | A02.13VH FWR2    |
| 230  | AA | A02.13VH FWR3    |
| 231  | AA | A02.13VH CDR3    |
| 232  | AA | A02.1VL FWR1     |
| 233  | AA | A02.1VL CDR1     |
| 234  | AA | A02.1VL FWR2     |
| 235  | AA | A02.1VL CDR2     |
| 236  | AA | A02.1VL FWR3     |
| 237  | AA | A02.1VL CDR3     |
| 238  | AA | A02.1VL FWR4     |
| 239  | AA | IGLV5-37*01 FWR1 |
| 240  | AA | IGLV5-37*01 CDR1 |
| 241  | AA | IGLV5-37*01 CDR2 |
| 242  | AA | IGLV5-37*01 FWR3 |
| 243  | AA | IGLV5-37*01 CDR3 |
| 244  | AA | X02.80VL CDR3    |
| 245  | AA | X02.81VL FWR3    |

10

20

30

40

【0 2 4 3】

【表 3 4 G】

| 配列番号 | 型  | 説明             |
|------|----|----------------|
| 246  | AA | X02.82VL FWR2  |
| 247  | AA | X02.83VL FWR1  |
| 248  | AA | X02.84VL FWR2  |
| 249  | AA | X02.84VL CDR2  |
| 250  | AA | X02.86VL CDR1  |
| 251  | AA | X02.87VL CDR3  |
| 252  | AA | X02.88VL CDR1  |
| 253  | AA | X02.89VL CDR2  |
| 254  | AA | X02.90VL CDR3  |
| 255  | AA | X02.91VL CDR1  |
| 256  | AA | X02.92VL CDR3  |
| 257  | AA | X02.93VL CDR3  |
| 258  | AA | X02.94VL CDR3  |
| 259  | AA | X02.95VL FWR1  |
| 260  | AA | X02.96VL FWR1  |
| 261  | AA | X02.97VL FWR1  |
| 262  | AA | X02.98VL CDR1  |
| 263  | AA | X02.99VL CDR1  |
| 264  | AA | X02.100VL CDR2 |
| 265  | AA | X02.101VL FWR3 |
| 266  | AA | X02.102VL FWR3 |
| 267  | AA | X02.103VL FWR3 |
| 268  | AA | X02.104VL CDR3 |
| 269  | AA | X02.105VL CDR3 |
| 270  | AA | X02.106VL CDR3 |
| 271  | AA | X02.107VL FWR3 |
| 272  | AA | A02.37VL FWR3  |
| 273  | AA | A02.37VL CDR3  |
| 274  | AA | A02.46VL FWR3  |
| 275  | AA | A02.46VL CDR3  |
| 276  | AA | A02.47VL FWR3  |
| 277  | AA | A02.48VL FWR3  |
| 278  | AA | A02.49VL FWR3  |
| 279  | AA | A02.50VL FWR3  |
| 280  | AA | A02.51VL FWR3  |
| 281  | AA | A02.18VL FWR2  |
| 282  | AA | A02.18VL FWR3  |
| 283  | AA | A02.19VL FWR2  |
| 284  | AA | A02.19VL FWR3  |
| 285  | AA | A02.20VL FWR2  |
| 286  | AA | A02.20VL FWR3  |

10

20

30

40

【表 3 4 H】

| 配列番号 | 型  | 説明            |
|------|----|---------------|
| 287  | AA | A02.21VL FWR2 |
| 288  | AA | A02.21VL FWR3 |
| 289  | AA | A02.22VL FWR2 |
| 290  | AA | A02.22VL FWR3 |
| 291  | AA | A02.23VL FWR2 |
| 292  | AA | A02.23VL FWR3 |
| 293  | AA | A02.24VL FWR2 |
| 294  | AA | A02.24VL FWR3 |
| 295  | AA | A02.25VL FWR2 |
| 296  | AA | A02.25VL FWR3 |
| 297  | AA | A02.26VL FWR2 |
| 298  | AA | A02.26VL FWR3 |
| 299  | AA | A02.27VL CDR2 |
| 300  | AA | A02.27VL FWR3 |
| 301  | AA | A02.28VL CDR2 |
| 302  | AA | A02.28VL FWR3 |
| 303  | AA | A02.29VL CDR2 |
| 304  | AA | A02.29VL FWR3 |
| 305  | AA | A02.30VL CDR2 |
| 306  | AA | A02.30VL FWR3 |
| 307  | AA | A02.31VL CDR2 |
| 308  | AA | A02.31VL FWR3 |
| 309  | AA | A02.32VL CDR2 |
| 310  | AA | A02.32VL FWR3 |
| 311  | AA | A02.33VL CDR2 |
| 312  | AA | A02.33VL FWR3 |
| 313  | AA | A02.34VL CDR2 |
| 314  | AA | A02.34VL FWR3 |
| 315  | AA | A02.35VL CDR2 |
| 316  | AA | A02.35VL FWR3 |
| 317  | AA | A02.36VL CDR2 |
| 318  | AA | A02.36VL FWR3 |
| 319  | AA | X02.16VL CDR1 |
| 320  | AA | X02.16VL FWR3 |
| 321  | AA | X02.16VL CDR3 |
| 322  | AA | X02.17VL CDR1 |
| 323  | AA | X02.17VL FWR3 |
| 324  | AA | X02.17VL CDR3 |
| 325  | AA | A02.52VL CDR1 |
| 326  | AA | A02.52VL CDR2 |
| 327  | AA | A02.52VL FWR3 |

【 0 2 4 5 】

10

20

30

40

【表 3 4 I】

| 配列番号 | 型  | 説明            |
|------|----|---------------|
| 328  | AA | A02.52VL CDR3 |
| 329  | AA | A02.53VL CDR1 |
| 330  | AA | A02.53VL CDR2 |
| 331  | AA | A02.53VL FWR3 |
| 332  | AA | A02.53VL CDR3 |
| 333  | AA | A02.54VL CDR1 |
| 334  | AA | A02.54VL CDR2 |
| 335  | AA | A02.54VL FWR3 |
| 336  | AA | A02.54VL CDR3 |
| 337  | AA | A02.55VL CDR1 |
| 338  | AA | A02.55VL CDR2 |
| 339  | AA | A02.55VL FWR3 |
| 340  | AA | A02.55VL CDR3 |
| 341  | AA | A02.56VL CDR1 |
| 342  | AA | A02.56VL CDR2 |
| 343  | AA | A02.56VL FWR3 |
| 344  | AA | A02.56VL CDR3 |
| 345  | AA | A02.57VL CDR1 |
| 346  | AA | A02.57VL CDR2 |
| 347  | AA | A02.57VL FWR3 |
| 348  | AA | A02.57VL CDR3 |
| 349  | AA | A02.58VL CDR1 |
| 350  | AA | A02.58VL CDR2 |
| 351  | AA | A02.58VL FWR3 |
| 352  | AA | A02.58VL CDR3 |
| 353  | AA | A02.59VL CDR1 |
| 354  | AA | A02.59VL CDR2 |
| 355  | AA | A02.59VL FWR3 |
| 356  | AA | A02.59VL CDR3 |
| 357  | AA | A02.60VL CDR1 |
| 358  | AA | A02.60VL CDR2 |
| 359  | AA | A02.60VL FWR3 |
| 360  | AA | A02.60VL CDR3 |
| 361  | AA | A02.61VL CDR1 |
| 362  | AA | A02.61VL CDR2 |
| 363  | AA | A02.61VL FWR3 |
| 364  | AA | A02.61VL CDR3 |
| 365  | AA | A02.62VL CDR1 |
| 366  | AA | A02.62VL CDR2 |
| 367  | AA | A02.62VL FWR3 |
| 368  | AA | A02.62VL CDR3 |

10

20

30

40

【0 2 4 6】

【表 3 4 J】

| 配列番号 | 型  | 説明            |
|------|----|---------------|
| 369  | AA | A02.63VL CDR1 |
| 370  | AA | A02.63VL CDR2 |
| 371  | AA | A02.63VL FWR3 |
| 372  | AA | A02.63VL CDR3 |
| 373  | AA | A02.64VL CDR1 |
| 374  | AA | A02.64VL CDR2 |
| 375  | AA | A02.64VL FWR3 |
| 376  | AA | A02.64VL CDR3 |
| 377  | AA | A02.65VL CDR1 |
| 378  | AA | A02.65VL CDR2 |
| 379  | AA | A02.65VL FWR3 |
| 380  | AA | A02.65VL CDR3 |
| 381  | AA | A02.66VL CDR1 |
| 382  | AA | A02.66VL CDR2 |
| 383  | AA | A02.66VL FWR3 |
| 384  | AA | A02.66VL CDR3 |
| 385  | AA | A02.67VL CDR1 |
| 386  | AA | A02.67VL CDR2 |
| 387  | AA | A02.67VL FWR3 |
| 388  | AA | A02.67VL CDR3 |
| 389  | AA | 5D1.1VH FWR1  |
| 390  | AA | 5D1.1VH CDR1  |
| 391  | AA | 5D1.1VH FWR2  |
| 392  | AA | 5D1.1VH CDR2  |
| 393  | AA | 5D1.1VH FWR3  |
| 394  | AA | 5D1.1VH CDR3  |
| 395  | AA | 5D1.1VH FWR4  |
| 396  | AA | 5D1.2VH FWR1  |
| 397  | AA | 5D1.2VH FWR2  |
| 398  | AA | 5D1.2VH CDR2  |
| 399  | AA | 5D1.2VH FWR3  |
| 400  | AA | 5D1.3VH FWR1  |
| 401  | AA | 5D1.3VH FWR2  |
| 402  | AA | 5D1.3VH CDR2  |
| 403  | AA | 5D1.3VH FWR3  |
| 404  | AA | 5D1.4VH FWR1  |
| 405  | AA | 5D1.4VH FWR2  |
| 406  | AA | 5D1.4VH CDR2  |
| 407  | AA | 5D1.4VH FWR3  |
| 408  | AA | 5D1.5VH FWR1  |
| 409  | AA | 5D1.5VH FWR2  |

10

20

30

40

【0 2 4 7】

【表 3 4 K】

| 配列番号 | 型  | 説明            |
|------|----|---------------|
| 410  | AA | 5D1.5VH CDR2  |
| 411  | AA | 5D1.5VH FWR3  |
| 412  | AA | 5D1.6VH FWR1  |
| 413  | AA | 5D1.6VH FWR2  |
| 414  | AA | 5D1.6VH CDR2  |
| 415  | AA | 5D1.6VH FWR3  |
| 416  | AA | 5D1.7VH FWR1  |
| 417  | AA | 5D1.7VH FWR2  |
| 418  | AA | 5D1.7VH CDR2  |
| 419  | AA | 5D1.7VH FWR3  |
| 420  | AA | 5D1.8VH FWR1  |
| 421  | AA | 5D1.8VH FWR2  |
| 422  | AA | 5D1.8VH CDR2  |
| 423  | AA | 5D1.8VH FWR3  |
| 424  | AA | 5D1.9VH FWR1  |
| 425  | AA | 5D1.9VH FWR2  |
| 426  | AA | 5D1.9VH CDR2  |
| 427  | AA | 5D1.9VH FWR3  |
| 428  | AA | 5D1.10VH FWR1 |
| 429  | AA | 5D1.10VH FWR2 |
| 430  | AA | 5D1.10VH CDR2 |
| 431  | AA | 5D1.10VH FWR3 |
| 432  | AA | 5D1.11VH FWR1 |
| 433  | AA | 5D1.11VH FWR2 |
| 434  | AA | 5D1.11VH CDR2 |
| 435  | AA | 5D1.11VH FWR3 |
| 436  | AA | 5D1.1VL FWR1  |
| 437  | AA | 5D1.1VL CDR1  |
| 438  | AA | 5D1.1VL FWR2  |
| 439  | AA | 5D1.1VL CDR2  |
| 440  | AA | 5D1.1VL FWR3  |
| 441  | AA | 5D1.1VL CDR3  |
| 442  | AA | 5D1.1VL FWR4  |
| 443  | AA | 5D1.2VL FWR1  |
| 444  | AA | 5D1.2VL FWR2  |
| 445  | AA | 5D1.2VL FWR3  |
| 446  | AA | 5D1.2VL FWR4  |
| 447  | AA | 5D1.3VL FWR1  |
| 448  | AA | 5D1.3VL FWR2  |
| 449  | AA | 5D1.3VL FWR3  |
| 450  | AA | 5D1.3VL FWR4  |

10

20

30

40

【表 3 4 L】

| 配列番号 | 型  | 説明            |
|------|----|---------------|
| 451  | AA | 5D1.4VL FWR1  |
| 452  | AA | 5D1.4VL FWR2  |
| 453  | AA | 5D1.4VL FWR3  |
| 454  | AA | 5D1.4VL FWR4  |
| 455  | AA | 5D1.5VL FWR1  |
| 456  | AA | 5D1.5VL FWR2  |
| 457  | AA | 5D1.5VL FWR3  |
| 458  | AA | 5D1.5VL FWR4  |
| 459  | AA | 5D1.6VL FWR1  |
| 460  | AA | 5D1.6VL FWR2  |
| 461  | AA | 5D1.6VL FWR3  |
| 462  | AA | 5D1.6VL FWR4  |
| 463  | AA | 5D1.7VL FWR1  |
| 464  | AA | 5D1.7VL FWR2  |
| 465  | AA | 5D1.7VL FWR3  |
| 466  | AA | 5E8.1VH FWR1  |
| 467  | AA | 5E8.1VH CDR2  |
| 468  | AA | 5E8.1VH FWR3  |
| 469  | AA | 5E8.1VH CDR3  |
| 470  | AA | 5E8.2VH FWR1  |
| 471  | AA | 5E8.2VH CDR2  |
| 472  | AA | 5E8.3VH FWR1  |
| 473  | AA | 5E8.3VH CDR2  |
| 474  | AA | 5E8.4VH FWR1  |
| 475  | AA | 5E8.4VH CDR2  |
| 476  | AA | 5E8.5VH FWR1  |
| 477  | AA | 5E8.5VH CDR2  |
| 478  | AA | 5E8.6VH FWR1  |
| 479  | AA | 5E8.6VH CDR2  |
| 480  | AA | 5E8.7VH FWR1  |
| 481  | AA | 5E8.7VH CDR2  |
| 482  | AA | 5E8.8VH FWR1  |
| 483  | AA | 5E8.8VH CDR2  |
| 484  | AA | 5E8.9VH FWR1  |
| 485  | AA | 5E8.9VH CDR2  |
| 486  | AA | 5E8.10VH FWR1 |
| 487  | AA | 5E8.10VH CDR2 |
| 488  | AA | 5E8.11VH FWR1 |
| 489  | AA | 5E8.11VH CDR2 |
| 490  | AA | 5E8.1VL FWR1  |
| 491  | AA | 5E8.1VL CDR1  |

10

20

30

40

【表 3 4 M】

| 配列番号 | 型  | 説明             |
|------|----|----------------|
| 492  | AA | 5E8.1VL FWR2   |
| 493  | AA | 5E8.1VL CDR2   |
| 494  | AA | 5E8.1VL FWR3   |
| 495  | AA | 5E8.1VL CDR3   |
| 496  | AA | 5E8.1VL FWR4   |
| 497  | AA | 5E8.2VL FWR1   |
| 498  | AA | 5E8.2VL FWR2   |
| 499  | AA | 5E8.2VL FWR3   |
| 500  | AA | 5E8.2VL FWR4   |
| 501  | AA | 5E8.3VL FWR1   |
| 502  | AA | 5E8.3VL FWR2   |
| 503  | AA | 5E8.3VL FWR3   |
| 504  | AA | 5E8.3VL FWR4   |
| 505  | AA | 5E8.4VL FWR1   |
| 506  | AA | 5E8.4VL FWR2   |
| 507  | AA | 5E8.4VL FWR3   |
| 508  | AA | 5E8.4VL FWR4   |
| 509  | AA | 5E8.5VL FWR1   |
| 510  | AA | 5E8.5VL FWR2   |
| 511  | AA | 5E8.5VL FWR3   |
| 512  | AA | 5E8.5VL FWR4   |
| 513  | AA | 10A2.1VH FWR1  |
| 514  | AA | 10A2.1VH CDR1  |
| 515  | AA | 10A2.1VH FWR2  |
| 516  | AA | 10A2.1VH CDR2  |
| 517  | AA | 10A2.1VH FWR3  |
| 518  | AA | 10A2.1VH CDR3  |
| 519  | AA | 10A2.1VH FWR4  |
| 520  | AA | 10A2.2VH FWR2  |
| 521  | AA | 10A2.3VH FWR2  |
| 522  | AA | 10A2.4VH FWR2  |
| 523  | AA | 10A2.5VH FWR2  |
| 524  | AA | 10A2.6VH FWR2  |
| 525  | AA | 10A2.7VH FWR2  |
| 526  | AA | 10A2.8VH CDR1  |
| 527  | AA | 10A2.9VH CDR1  |
| 528  | AA | 10A2.10VH CDR1 |
| 529  | AA | 10A2.11VH CDR1 |
| 530  | AA | 10A2.12VH FWR3 |
| 531  | AA | 10A2.13VH FWR3 |
| 532  | AA | 10A2.14VH FWR3 |

10

20

30

40

【表 3 4 N】

| 配列番号 | 型  | 説明             |
|------|----|----------------|
| 533  | AA | 10A2.15VH FWR3 |
| 534  | AA | 10A2.16VH CDR3 |
| 535  | AA | 10A2.17VH CDR3 |
| 536  | AA | 10A2.18VH CDR3 |
| 537  | AA | 10A2.19VH FWR1 |
| 538  | AA | 10A2.19VH FWR2 |
| 539  | AA | 10A2.19VH CDR2 |
| 540  | AA | 10A2.19VH FWR3 |
| 541  | AA | 10A2.19VH FWR4 |
| 542  | AA | 10A2.20VH FWR1 |
| 543  | AA | 10A2.20VH FWR2 |
| 544  | AA | 10A2.20VH CDR2 |
| 545  | AA | 10A2.20VH FWR3 |
| 546  | AA | 10A2.20VH FWR4 |
| 547  | AA | 10A2.21VH FWR1 |
| 548  | AA | 10A2.21VH FWR2 |
| 549  | AA | 10A2.21VH CDR2 |
| 550  | AA | 10A2.21VH FWR3 |
| 551  | AA | 10A2.21VH FWR4 |
| 552  | AA | 10A2.22VH FWR1 |
| 553  | AA | 10A2.22VH FWR2 |
| 554  | AA | 10A2.22VH CDR2 |
| 555  | AA | 10A2.22VH FWR3 |
| 556  | AA | 10A2.22VH FWR4 |
| 557  | AA | 10A2.23VH FWR1 |
| 558  | AA | 10A2.23VH FWR2 |
| 559  | AA | 10A2.23VH CDR2 |
| 560  | AA | 10A2.23VH FWR3 |
| 561  | AA | 10A2.23VH FWR4 |
| 562  | AA | 10A2.24VH FWR1 |
| 563  | AA | 10A2.24VH FWR2 |
| 564  | AA | 10A2.24VH CDR2 |
| 565  | AA | 10A2.24VH FWR3 |
| 566  | AA | 10A2.24VH FWR4 |
| 567  | AA | 10A2.25VH FWR1 |
| 568  | AA | 10A2.25VH FWR2 |
| 569  | AA | 10A2.25VH CDR2 |
| 570  | AA | 10A2.25VH FWR3 |
| 571  | AA | 10A2.25VH FWR4 |
| 572  | AA | 10A2.26VH FWR1 |
| 573  | AA | 10A2.26VH FWR2 |

10

20

30

40

【表 3 4 〇】

| 配列番号 | 型  | 説明             |
|------|----|----------------|
| 574  | AA | 10A2.26VH CDR2 |
| 575  | AA | 10A2.26VH FWR3 |
| 576  | AA | 10A2.26VH FWR4 |
| 577  | AA | 10A2.27VH FWR1 |
| 578  | AA | 10A2.27VH FWR2 |
| 579  | AA | 10A2.27VH CDR2 |
| 580  | AA | 10A2.27VH FWR3 |
| 581  | AA | 10A2.27VH FWR4 |
| 582  | AA | 10A2.1VL FWR1  |
| 583  | AA | 10A2.1VL CDR1  |
| 584  | AA | 10A2.1VL FWR2  |
| 585  | AA | 10A2.1VL CDR2  |
| 586  | AA | 10A2.1VL FWR3  |
| 587  | AA | 10A2.1VL CDR3  |
| 588  | AA | 10A2.1VL FWR4  |
| 589  | AA | 10A2.2VL CDR1  |
| 590  | AA | 10A2.3VL CDR1  |
| 591  | AA | 10A2.4VL CDR2  |
| 592  | AA | 10A2.5VL FWR2  |
| 593  | AA | 10A2.6VL FWR2  |
| 594  | AA | 10A2.7VL CDR3  |
| 595  | AA | 10A2.8VL CDR3  |
| 596  | AA | 10A2.9VL CDR3  |
| 597  | AA | 10A2.10VL CDR3 |
| 598  | AA | 10A2.11VL CDR3 |
| 599  | AA | 10A2.12VL CDR3 |
| 600  | AA | 10A2.13VL CDR3 |
| 601  | AA | 10A2.14VL CDR3 |
| 602  | AA | 10A2.15VL CDR3 |
| 603  | AA | 10A2.16VL CDR3 |
| 604  | AA | 10A2.17VL CDR3 |
| 605  | AA | 10A2.18VL CDR2 |
| 606  | AA | 10A2.19VL CDR3 |
| 607  | AA | 10A2.20VL FWR1 |
| 608  | AA | 10A2.20VL CDR1 |
| 609  | AA | 10A2.20VL FWR2 |
| 610  | AA | 10A2.20VL CDR2 |
| 611  | AA | 10A2.20VL FWR3 |
| 612  | AA | 10A2.20VL CDR3 |
| 613  | AA | 10A2.20VL FWR4 |
| 614  | AA | 10A2.21VL FWR1 |

10

20

30

40

【 〇 2 5 2 】

【表 3 4 P】

| 配列番号 | 型  | 説明                           |
|------|----|------------------------------|
| 615  | AA | 10A2.21VL FWR2               |
| 616  | AA | 10A2.21VL FWR3               |
| 617  | AA | 10A2.21VL FWR4               |
| 618  | AA | 10A2.22VL FWR1               |
| 619  | AA | 10A2.22VL FWR2               |
| 620  | AA | 10A2.22VL FWR3               |
| 621  | AA | 10A2.22VL FWR4               |
| 622  | AA | 10A2.23VL FWR1               |
| 623  | AA | 10A2.23VL FWR2               |
| 624  | AA | 10A2.23VL FWR3               |
| 625  | AA | 10A2.23VL FWR4               |
| 626  | AA | 10A2.24VL FWR1               |
| 627  | AA | 10A2.24VL FWR2               |
| 628  | AA | 10A2.24VL FWR3               |
| 629  | AA | 10A2.24VL FWR4               |
| 630  | AA | 10A2.25VL FWR1               |
| 631  | AA | 10A2.25VL FWR2               |
| 632  | AA | 10A2.25VL FWR3               |
| 633  | AA | 10A2.25VL FWR4               |
| 634  | AA | 10A2.26VL FWR1               |
| 635  | AA | 10A2.26VL FWR2               |
| 636  | AA | 10A2.26VL FWR3               |
| 637  | AA | 10A2.26VL FWR4               |
| 638  | AA | 10A2.27VL FWR1               |
| 639  | AA | 10A2.27 VL FWR2              |
| 640  | AA | 10A2.27VL FWR3               |
| 641  | AA | 10A2.27VL FWR4               |
| 642  | AA | Gly4Ser1                     |
| 643  | AA | Gly4Ser1 x 2                 |
| 644  | AA | Gly4Ser1 x 3                 |
| 645  | AA | Gly4Ser1 x 4                 |
| 646  | AA | Gly4Ser1 x 5                 |
| 647  | AA | IFN-アルファ 2b A145D            |
| 648  | AA | Trunc IFN-アルファ 2b            |
| 649  | AA | Trunc IFN-アルファ 2b A145D      |
| 650  | AA | IFN-アルファ 2b A145G            |
| 651  | AA | Trunc IFN-アルファ 2b A145G      |
| 652  | AA | IgG4 IFN-アルファ 2b A145D       |
| 653  | AA | IgG4 IFN-アルファ 2b A145G       |
| 654  | AA | IgG4 S228P IFN-アルファ 2b A145G |
| 655  | AA | IgG1 IFN-アルファ 2b A145G       |

10

20

30

40

【表 3 4 Q】

| 配列番号 | 型   | 説明                         |
|------|-----|----------------------------|
| 656  | AA  | IgG1 YTE IFN-アルファ 2b A145D |
| 657  | AA  | IgG1 YTE IFN-アルファ 2b A145G |
| 658  | AA  | IgG4 YTE IFN-アルファ 2b A145D |
| 659  | AA  | A02 コンセンサス可変重鎖             |
| 660  | AA  | X02.114VL                  |
| 661  | AA  | X02.115VL                  |
| 662  | AA  | X02.116VL                  |
| 663  | AA  | X02.117VL                  |
| 664  | AA  | A02 コンセンサス可変軽鎖             |
| 665  | AA  | A10 コンセンサス可変重鎖             |
| 666  | AA  | A10 コンセンサス可変軽鎖             |
| 667  | DNA | A02.12VH                   |
| 668  | DNA | X02.9VH                    |
| 669  | DNA | X02.107VL                  |
| 670  | DNA | A02.47VL                   |
| 671  | DNA | A02.31VL                   |
| 672  | DNA | A02.33VL                   |
| 673  | DNA | X02.16VL                   |
| 674  | DNA | X02.17VL                   |
| 675  | DNA | X02.114VL                  |
| 676  | DNA | X02.115VL                  |
| 677  | DNA | X02.116VL                  |
| 678  | DNA | X02.117VL                  |
| 679  | DNA | 10A2VH + A40E              |
| 680  | DNA | 10A2VH + A40G              |
| 681  | DNA | 10A2VH + A40H              |
| 682  | DNA | 10A2VH + A40Q              |
| 683  | DNA | 10A2VH + K96G              |
| 684  | DNA | 10A2VH + K96T              |
| 685  | DNA | 10A2_1-f*01VH94R           |
| 686  | DNA | 10A2VH (AQ) + N98Q         |
| 687  | DNA | 10A2-1-24*0171A94R         |
| 688  | DNA | 10A2_1-33*01Vk             |
| 689  | DNA | 10A2VK + K24G              |
| 690  | DNA | 10A2VK + K24Q              |
| 691  | DNA | 10A2VK + R54D              |
| 692  | DNA | 10A2VK + M89A              |
| 693  | DNA | 10A2VK (AV) + N53Q         |
| 694  | AA  | IgG4 YTE IFN-アルファ 2b A145G |
| 695  | DNA | 910VH 可変重鎖                 |
| 696  | AA  | 10A2VK + K24G CDR1         |

10

20

30

40

【表 3 4 R】

| 配列番号 | 型   | 説明             |
|------|-----|----------------|
| 697  | AA  | 910VH CDR1     |
| 698  | AA  | 910VH CDR2     |
| 699  | AA  | 910VH CDR3     |
| 700  | AA  | X02.118 可変軽鎖   |
| 701  | AA  | X02.119 可変軽鎖   |
| 702  | DNA | X02.118 可変軽鎖   |
| 703  | DNA | X02.119 可変軽鎖   |
| 704  | AA  | X10.60 可変軽鎖    |
| 705  | AA  | X10.61 可変軽鎖    |
| 706  | AA  | X10.62 可変軽鎖    |
| 707  | AA  | X10.63 可変軽鎖    |
| 708  | AA  | X10.64 可変軽鎖    |
| 709  | AA  | X10.65 可変軽鎖    |
| 710  | AA  | X10.66 可変軽鎖    |
| 711  | AA  | X10.67 可変軽鎖    |
| 712  | DNA | X10.60 可変軽鎖    |
| 713  | DNA | X10.61 可変軽鎖    |
| 714  | DNA | X10.62 可変軽鎖    |
| 715  | DNA | X10.63 可変軽鎖    |
| 716  | DNA | X10.64 可変軽鎖    |
| 717  | DNA | X10.65 可変軽鎖    |
| 718  | DNA | X10.66 可変軽鎖    |
| 719  | DNA | X10.67 可変軽鎖    |
| 720  | AA  | X10.68 可変重鎖    |
| 721  | AA  | X10.69 可変重鎖    |
| 722  | AA  | X10.70 可変重鎖    |
| 723  | AA  | X10.71 可変重鎖    |
| 724  | DNA | X10.68 可変重鎖    |
| 725  | DNA | X10.69 可変重鎖    |
| 726  | DNA | X10.70 可変重鎖    |
| 727  | DNA | X10.71 可変重鎖    |
| 728  | AA  | X02.120 可変重鎖   |
| 729  | AA  | X02.121 可変重鎖   |
| 730  | AA  | X02.122 可変重鎖   |
| 731  | AA  | X02.123 可変重鎖   |
| 732  | DNA | X02.120 可変重鎖   |
| 733  | DNA | X02.121 可変重鎖   |
| 734  | DNA | X02.122 可変重鎖   |
| 735  | DNA | X02.123 可変重鎖   |
| 736  | AA  | 910 可変重鎖コンセンサス |
| 737  | AA  | X02.122VH CDR2 |

10

20

30

40

【0 2 5 5】

【表 3 4 S】

| 配列番号 | 型   | 説明             |
|------|-----|----------------|
| 738  | AA  | X02.123VH CDR2 |
| 739  | AA  | X10.72 可変重鎖    |
| 740  | AA  | X10.73 可変重鎖    |
| 741  | AA  | X10.74 可変重鎖    |
| 742  | AA  | X10.75 可変重鎖    |
| 743  | DNA | X10.72 可変重鎖    |
| 744  | DNA | X10.73 可変重鎖    |
| 745  | DNA | X10.74 可変重鎖    |
| 746  | DNA | X10.75 可変重鎖    |
| 747  | AA  | X10.64VL CDR2  |
| 748  | AA  | 910 VH FRW1    |
| 749  | AA  | 910 VH FRW2    |
| 750  | AA  | X10.120VH FRW2 |
| 751  | AA  | 910 VH FRW3    |
| 752  | AA  | X10.121VH FRW3 |
| 753  | AA  | 910VH FRW4     |

10

20

【0 2 5 6】

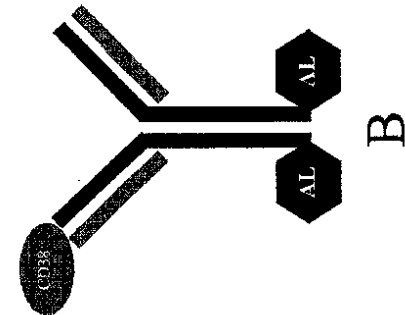
本開示は、上記に記載及び例示された実施形態に限定されないが、添付の特許請求の範囲内にある変更及び改変を行うことができる。

FIG. 2B

【図 2 B】

|               |                                                    |
|---------------|----------------------------------------------------|
| SEQ ID NO: 13 | RVTISYDLRNQISLSTVTAQTPAVYICARVGGAGGFMNDVWGQSTTVTSS |
| SEQ ID NO: 16 | .....S...F...K.S.....                              |
| SEQ ID NO: 17 | .....S.....                                        |
| SEQ ID NO: 18 | .....S.....                                        |
| SEQ ID NO: 19 | .....S.....                                        |
| SEQ ID NO: 20 | .....S...F...K.S.....                              |
| SEQ ID NO: 21 | .....S.....                                        |
| SEQ ID NO: 22 | .....R.....                                        |
| SEQ ID NO: 23 | .....R.....                                        |
| SEQ ID NO: 24 | .....R.....                                        |
| SEQ ID NO: 25 | .....R.....                                        |
| SEQ ID NO: 26 | .....R.....                                        |
| SEQ ID NO: 27 | .....R.....                                        |
| SEQ ID NO: 28 | .....K.....                                        |
| SEQ ID NO: 29 | .....L.....                                        |
| SEQ ID NO: 30 | .....L.....                                        |
| SEQ ID NO: 31 | .....E.....                                        |
| SEQ ID NO: 32 | .....F.....                                        |
| SEQ ID NO: 33 | .....K.....                                        |
| SEQ ID NO: 34 | .....S...F...K.S.....                              |
| SEQ ID NO: 35 | .....S...F...K.S.....                              |

【図 1 B】



【図 1 A】

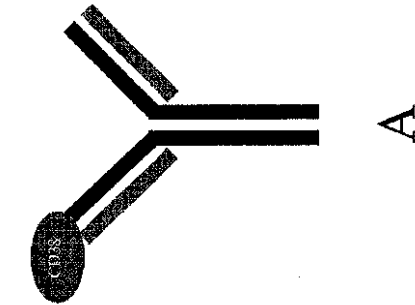


FIG. 3A

【図 3 A】

|               |                                                             |
|---------------|-------------------------------------------------------------|
| SEQ ID NO: 14 | QAVLTQPASISAGSGESARLTCTLESIDINVIYNIWYQKSGSPFRILLYISDSHKGGGS |
| SEQ ID NO: 37 | .....P.....P.S.....GS.....                                  |
| SEQ ID NO: 38 | .....D.....                                                 |
| SEQ ID NO: 39 | .....R.....                                                 |
| SEQ ID NO: 40 | .....A.....                                                 |
| SEQ ID NO: 41 | .....R.....                                                 |
| SEQ ID NO: 42 | .....R.R.....                                               |
| SEQ ID NO: 43 | .....G.....                                                 |
| SEQ ID NO: 44 | .....R.....                                                 |
| SEQ ID NO: 45 | .....R.....                                                 |
| SEQ ID NO: 46 | .....R.....                                                 |
| SEQ ID NO: 47 | .....R.....                                                 |
| SEQ ID NO: 48 | .....R.....                                                 |
| SEQ ID NO: 49 | .....R.....                                                 |
| SEQ ID NO: 50 | .....R.....                                                 |
| SEQ ID NO: 51 | .....P.....                                                 |
| SEQ ID NO: 52 | .....P.....                                                 |
| SEQ ID NO: 53 | .....P.....                                                 |
| SEQ ID NO: 54 | .....S.....                                                 |
| SEQ ID NO: 55 | .....G.....                                                 |
| SEQ ID NO: 56 | .....S.....                                                 |
| SEQ ID NO: 57 | .....D.....                                                 |
| SEQ ID NO: 58 | .....S.....                                                 |
| SEQ ID NO: 59 | .....D.....                                                 |
| SEQ ID NO: 60 | .....D.....                                                 |
| SEQ ID NO: 61 | .....D.....                                                 |
| SEQ ID NO: 62 | .....D.....                                                 |
| SEQ ID NO: 63 | .....D.....                                                 |
| SEQ ID NO: 64 | .....D.....                                                 |
| SEQ ID NO: 65 | .....D.....                                                 |

FIG. 2A

|               |                                                               |
|---------------|---------------------------------------------------------------|
| SEQ ID NO: 13 | QIQLQESGFLVKPSETLSLCTVSGSGSISSSSYWMIHQHPKGLGWIGYIYSGSTWNPGLKS |
| SEQ ID NO: 16 | .....V.....V.G.....P.....                                     |
| SEQ ID NO: 17 | .....V.....                                                   |
| SEQ ID NO: 18 | .....P.....                                                   |
| SEQ ID NO: 19 | .....P.....                                                   |
| SEQ ID NO: 20 | .....K.....                                                   |
| SEQ ID NO: 21 | .....V.....                                                   |
| SEQ ID NO: 22 | .....V.....                                                   |
| SEQ ID NO: 23 | .....V.....                                                   |
| SEQ ID NO: 24 | .....K.....                                                   |
| SEQ ID NO: 25 | .....G.....                                                   |
| SEQ ID NO: 26 | .....G.....                                                   |
| SEQ ID NO: 27 | .....G.....                                                   |
| SEQ ID NO: 28 | .....G.....                                                   |
| SEQ ID NO: 29 | .....G.....                                                   |
| SEQ ID NO: 30 | .....G.....                                                   |
| SEQ ID NO: 31 | .....G.....                                                   |
| SEQ ID NO: 32 | .....G.....                                                   |
| SEQ ID NO: 33 | .....G.....                                                   |
| SEQ ID NO: 34 | .....P.....                                                   |
| SEQ ID NO: 35 | .....P.....                                                   |

【図 3 B】

FIG. 3B

|                                                   |               |
|---------------------------------------------------|---------------|
| GVPSRFGSKDVSTNSGILLISGLQSEADYCYMTWSNGSGVFGGTLTVLG | SEQ ID NO: 14 |
| .....A.A.T.....I.P.A.....                         | SEQ ID NO: 37 |
| .....A.....Q.....                                 | SEQ ID NO: 38 |
| .....A.....                                       | SEQ ID NO: 39 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 40 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 41 |
| .....—.....                                       | SEQ ID NO: 42 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 43 |
| .....A.....                                       | SEQ ID NO: 44 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 45 |
| .....T.....                                       | SEQ ID NO: 46 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 47 |
| .....P.....                                       | SEQ ID NO: 48 |
| .....I.....                                       | SEQ ID NO: 49 |
| .....L.....                                       | SEQ ID NO: 50 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 51 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 52 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 53 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 54 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 55 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 56 |
| .....A.....                                       | SEQ ID NO: 57 |
| .....T.....                                       | SEQ ID NO: 58 |
| .....P.....                                       | SEQ ID NO: 59 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 60 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 61 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 62 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 63 |
| .....                                             | SEQ ID NO: 64 |
| .....I.T.....                                     | SEQ ID NO: 65 |

【図 4 B】

FIG. 4B

|                    |                |
|--------------------|----------------|
| .....GS.....Q..... | SEQ ID NO: 96  |
| .....              | SEQ ID NO: 97  |
| .....GS.....E..... | SEQ ID NO: 98  |
| .....S.....E.....  | SEQ ID NO: 99  |
| .....S.....E.....  | SEQ ID NO: 100 |
| .....S.....E.....  | SEQ ID NO: 101 |
| .....GS.....Q..... | SEQ ID NO: 102 |
| .....S.....Q.....  | SEQ ID NO: 103 |
| .....GS.....Q..... | SEQ ID NO: 104 |
| .....S.....Q.....  | SEQ ID NO: 105 |
| .....GS.....E..... | SEQ ID NO: 106 |
| .....S.....E.....  | SEQ ID NO: 107 |
| .....GS.....E..... | SEQ ID NO: 108 |
| .....S.....E.....  | SEQ ID NO: 109 |

【図 4 A】

FIG. 4A

|                                                          |               |
|----------------------------------------------------------|---------------|
| QAVLTQPSLSAFSGESARLCTLLPSLDINRVYNLYWQKPSPPRYLLYYSDSHKQGS | SEQ ID NO: 14 |
| .....                                                    | SEQ ID NO: 66 |
| .....                                                    | SEQ ID NO: 67 |
| .....                                                    | SEQ ID NO: 68 |
| .....G.....I.T.....                                      | SEQ ID NO: 69 |
| .....H.....I.T.....                                      | SEQ ID NO: 70 |
| .....K.....I.T.....                                      | SEQ ID NO: 71 |
| .....P.....I.T.....E.....                                | SEQ ID NO: 72 |
| .....G.....I.T.....G.....                                | SEQ ID NO: 73 |
| .....N.....I.T.....N.....                                | SEQ ID NO: 74 |
| .....P.....I.T.....S.....                                | SEQ ID NO: 75 |
| .....E.....I.T.....F.....                                | SEQ ID NO: 76 |
| .....D.....I.T.....D.....                                | SEQ ID NO: 77 |
| .....P.....I.T.....N.....                                | SEQ ID NO: 78 |
| .....D.....I.T.....D.....                                | SEQ ID NO: 79 |
| .....                                                    | SEQ ID NO: 80 |
| .....                                                    | SEQ ID NO: 81 |
| .....                                                    | SEQ ID NO: 82 |
| .....I.T.....N.....                                      | SEQ ID NO: 83 |
| .....T.....I.T.....D.....                                | SEQ ID NO: 84 |
| .....E.....I.T.....E.....                                | SEQ ID NO: 85 |
| .....H.....I.T.....H.....                                | SEQ ID NO: 86 |
| .....Q.....I.T.....Q.....                                | SEQ ID NO: 87 |
| .....P.....I.T.....P.....                                | SEQ ID NO: 88 |
| .....D.....I.T.....D.....                                | SEQ ID NO: 89 |
| .....GS.....I.T.....GS.....                              | SEQ ID NO: 90 |
| .....GS.....I.T.....GS.....                              | SEQ ID NO: 91 |
| .....Q.....I.T.....Q.....                                | SEQ ID NO: 92 |
| .....GS.....I.T.....GS.....                              | SEQ ID NO: 93 |
| .....Q.....I.T.....Q.....                                | SEQ ID NO: 94 |
| .....S.....I.T.....S.....                                | SEQ ID NO: 95 |

【図 4 C】

FIG. 4C

|                                                   |               |
|---------------------------------------------------|---------------|
| GVPSRFGSKDVSTNSGILLISGLQSEADYCYMTWSNGSGVFGGTLTVLG | SEQ ID NO: 14 |
| .....Q.....I.T.....L.....                         | SEQ ID NO: 66 |
| .....T.....I.T.....                               | SEQ ID NO: 67 |
| .....G.....I.T.....                               | SEQ ID NO: 68 |
| .....H.....I.T.....                               | SEQ ID NO: 69 |
| .....K.....I.T.....                               | SEQ ID NO: 70 |
| .....P.....I.T.....                               | SEQ ID NO: 71 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 72 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 73 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 74 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 75 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 76 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 77 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 78 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 79 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 80 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 81 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 82 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 83 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 84 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 85 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 86 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 87 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 88 |
| .....I.T.....I.T.....                             | SEQ ID NO: 89 |
| .....I.T.....I.T.....Q.....                       | SEQ ID NO: 90 |
| .....I.T.....I.T.....E.....                       | SEQ ID NO: 91 |
| .....I.T.....I.T.....E.....                       | SEQ ID NO: 92 |
| .....I.T.....I.T.....E.....                       | SEQ ID NO: 93 |
| .....I.T.....I.T.....E.....                       | SEQ ID NO: 94 |
| .....I.T.....I.T.....E.....                       | SEQ ID NO: 95 |

【図 6】

|                |                      |                      |                   |
|----------------|----------------------|----------------------|-------------------|
| SEQ ID NO: 65  | QAVLTQPSISASPGESALTC | CDR1<br>TLPSSDINRYNY | CDR2<br>YVDSHKQGS |
| SEQ ID NO: 66  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 67  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 68  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 69  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 70  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 71  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 72  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 73  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 74  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 75  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 76  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 77  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 78  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 79  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 80  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 81  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 82  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 83  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 84  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 85  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 86  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 87  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 88  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 89  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 90  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 91  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 92  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 93  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 94  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 95  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 96  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 97  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 98  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 99  | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 100 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 101 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 102 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 103 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 104 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 105 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 106 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 107 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 108 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 109 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 110 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 111 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 112 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 113 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 114 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 115 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 116 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 117 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 118 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 119 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 120 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 121 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 122 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 123 | .....                | .....                | .....             |
| SEQ ID NO: 124 | .....                | .....                | .....             |

FIG. 6

FIG. 4D

|                |       |       |       |
|----------------|-------|-------|-------|
| SEQ ID NO: 96  | ..... | ..... | ..... |
| SEQ ID NO: 97  | ..... | ..... | ..... |
| SEQ ID NO: 98  | ..... | ..... | ..... |
| SEQ ID NO: 99  | ..... | ..... | ..... |
| SEQ ID NO: 100 | ..... | ..... | ..... |
| SEQ ID NO: 101 | ..... | ..... | ..... |
| SEQ ID NO: 102 | ..... | ..... | ..... |
| SEQ ID NO: 103 | ..... | ..... | ..... |
| SEQ ID NO: 104 | ..... | ..... | ..... |
| SEQ ID NO: 105 | ..... | ..... | ..... |
| SEQ ID NO: 106 | ..... | ..... | ..... |
| SEQ ID NO: 107 | ..... | ..... | ..... |
| SEQ ID NO: 108 | ..... | ..... | ..... |
| SEQ ID NO: 109 | ..... | ..... | ..... |

【図 7 A】

FIG. 7A

|                |                                                        |
|----------------|--------------------------------------------------------|
| SEQ ID NO: 114 | EVOLQSGPEVCRGSSWKISCKASGVTDLIHNVKSPGQLEWIMDEYGRDYAEKFK |
| SEQ ID NO: 115 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 116 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 117 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 118 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 119 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 120 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 121 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 122 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 123 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 124 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 114 | KATLTAUITSSTAVIQLSASEDNIYFCASHTGFGFAWQGGTIVTSS         |
| SEQ ID NO: 115 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 116 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 117 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 118 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 119 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 120 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 121 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 122 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 123 | .....                                                  |
| SEQ ID NO: 124 | .....                                                  |

FIG. 5

【図 5】

|                |                               |                     |                          |
|----------------|-------------------------------|---------------------|--------------------------|
| SEQ ID NO: 34  | QIQIQESGPGIKPSFTLSICTVTS      | CDR1<br>GSSISSSSYWS | CDR2<br>YIYISGNTYNNPSLKS |
| SEQ ID NO: 18  | .....                         | .....               | .....                    |
| SEQ ID NO: 659 | QIQIQESGPGIKPSFTLSICTVTS      | GSSISSSSYWS         | YIYISGNTYNNPSLKS         |
| SEQ ID NO: 34  | RVTISVDTSKQPSLKSSVTADTAVYICAR | CDR3<br>VGGAGGWPLDY | WQGGITVTSS               |
| SEQ ID NO: 18  | .....                         | .....               | .....                    |
| SEQ ID NO: 659 | RVTISVDTSKQPSLKSSVTADTAVYICAR | VGGAGGWPLDY         | WQGGITVTSS               |





【☒ 1 0 B】

FIG. 10B

|                |                                               |
|----------------|-----------------------------------------------|
| SEQ ID NO: 161 | GVPSRFSGSGTDTFTTSSLPQEDIAVYCMQSNTHREFGGKVEIKR |
| SEQ ID NO: 162 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 163 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 164 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 181 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 182 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 185 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 186 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 187 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 188 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 189 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 190 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 191 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 192 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 193 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 194 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 195 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 196 | .....                                         |
| SEQ ID NO: 198 | .....                                         |

【☒ 1 1 b】

|                |                               |                     |            |
|----------------|-------------------------------|---------------------|------------|
| SEQ ID NO: 165 | RVTTATGTDPAVMEISSLRSDEDAVYCAR | CDR3<br>TKYNSGIGFFY | NGGGTVTVSS |
| SEQ ID NO: 166 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 167 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 168 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 180 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 196 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 197 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 152 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 720 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 721 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 722 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 723 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 739 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 740 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 741 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 742 | .....                         | .....               | .....      |
| SEQ ID NO: 665 | RVTTATGTDPAVMEISSLRSDEDAVYCAR | TKYNSGIGFFY         | WGGGTVTVSS |
|                | M                             | G Q                 |            |
|                |                               | T                   |            |

FIG. 11b

【☒ 1 1 a】

|                |                           |                    |                          |
|----------------|---------------------------|--------------------|--------------------------|
| SEQ ID NO: 165 | EVVLVQSGAEVKEFGATVKISKVSS | CDR1<br>GYTFIDSYAN | CDR2<br>WIDPFEGTDAVKTFQG |
| SEQ ID NO: 166 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 167 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 168 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 180 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 196 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 197 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 152 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 720 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 721 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 722 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 723 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 739 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 740 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 741 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 742 | .....                     | .....              | .....                    |
| SEQ ID NO: 665 | EVVLVQSGAEVKEFGATVKISKVSS | GYTFIDSYAN         | WIDPFEGTDAVKTFQG         |
|                | S V                       | L                  | Q                        |
|                |                           | R G                |                          |
|                |                           | H                  | A                        |

FIG. 11a

【☒ 1 2】

|                |                        |                   |                         |        |
|----------------|------------------------|-------------------|-------------------------|--------|
| SEQ ID NO: 161 | DIQMTQSPFSSIASGDRVTITC | CDR1<br>KASQWDSVD | CDR2<br>WYQQKPGKAPKLLIY | KASNYT |
| SEQ ID NO: 182 | .....                  | .....             | .....                   | .....  |
| SEQ ID NO: 184 | .....                  | .....             | .....                   | .....  |
| SEQ ID NO: 185 | .....                  | .....             | .....                   | .....  |
| SEQ ID NO: 188 | .....                  | .....             | .....                   | .....  |
| SEQ ID NO: 706 | .....                  | .....             | .....                   | .....  |
| SEQ ID NO: 707 | .....                  | .....             | .....                   | .....  |
| SEQ ID NO: 708 | .....                  | .....             | .....                   | .....  |
| SEQ ID NO: 709 | .....                  | .....             | .....                   | .....  |
| SEQ ID NO: 710 | .....                  | .....             | .....                   | .....  |
| SEQ ID NO: 711 | .....                  | .....             | .....                   | .....  |
| SEQ ID NO: 666 | DIQMTQSPFSSIASGDRVTITC | KASQWDSVD         | WYQQKPGKAPKLLIY         | KASNYT |
|                | G                      | Q                 |                         | QD     |

|                |                                               |                   |            |
|----------------|-----------------------------------------------|-------------------|------------|
| SEQ ID NO: 161 | GVPSRFSGSGTDTFTTSSLPQEDIAVYCMQSNTHREFGGKVEIKR | CDR3<br>MSGNTHPAT | FGGGKVEIKR |
| SEQ ID NO: 182 | .....                                         | .....             | .....      |
| SEQ ID NO: 184 | .....                                         | .....             | .....      |
| SEQ ID NO: 185 | .....                                         | .....             | .....      |
| SEQ ID NO: 188 | .....                                         | .....             | .....      |
| SEQ ID NO: 198 | .....                                         | .....             | .....      |
| SEQ ID NO: 704 | .....                                         | .....             | .....      |
| SEQ ID NO: 705 | .....                                         | .....             | .....      |
| SEQ ID NO: 706 | .....                                         | .....             | .....      |
| SEQ ID NO: 707 | .....                                         | .....             | .....      |
| SEQ ID NO: 708 | .....                                         | .....             | .....      |
| SEQ ID NO: 709 | .....                                         | .....             | .....      |
| SEQ ID NO: 710 | .....                                         | .....             | .....      |
| SEQ ID NO: 711 | .....                                         | .....             | .....      |
| SEQ ID NO: 666 | GVPSRFSGSGTDTFTTSSLPQEDIAVYCMQSNTHREFGGKVEIKR | MSGNTHPAT         | FGGGKVEIKR |
|                |                                               | A                 |            |

FIG. 12

【図 13】

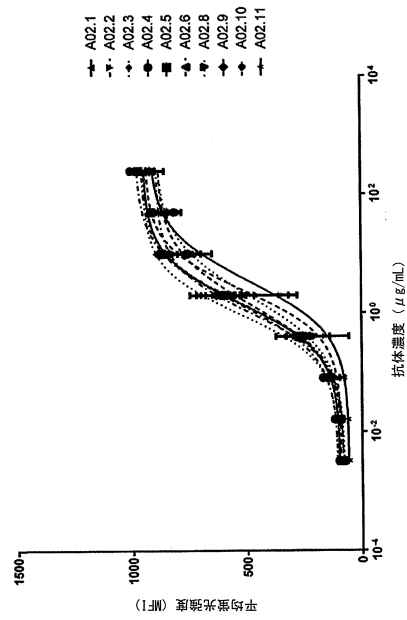


FIG. 13

【図 14】

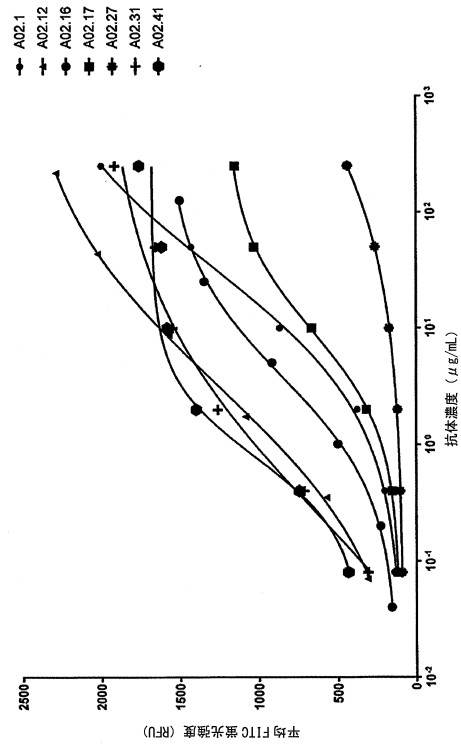


FIG. 14

【図 15】

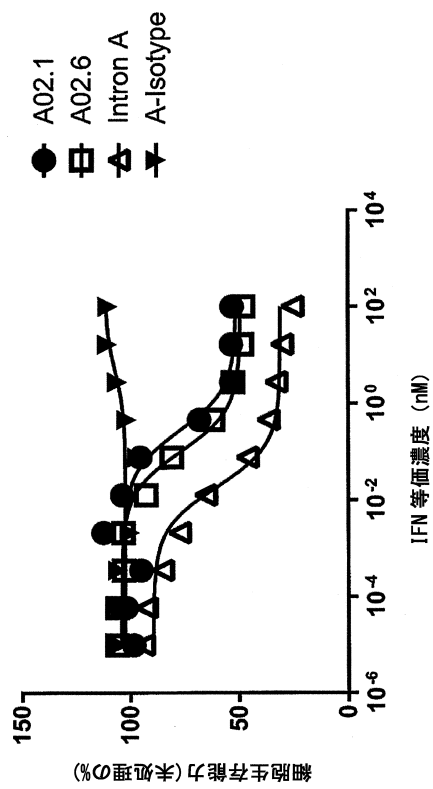


FIG. 15

【図 16】

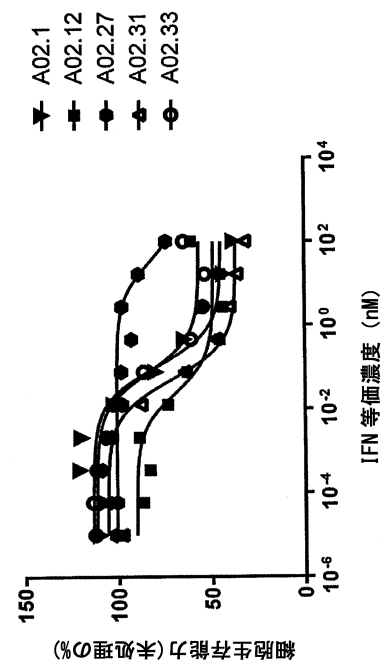


FIG. 16

【図 1 7】

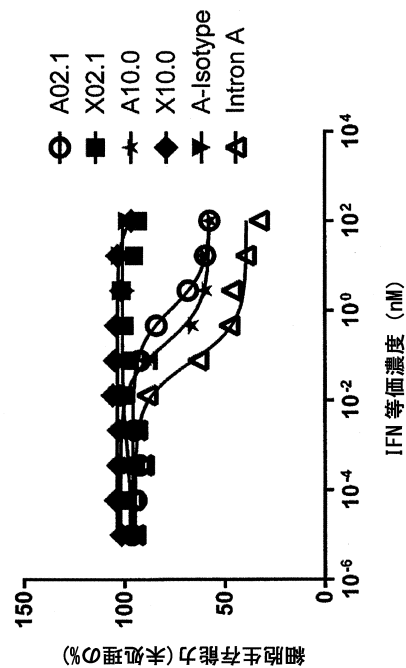


FIG. 17

【図 1 8】

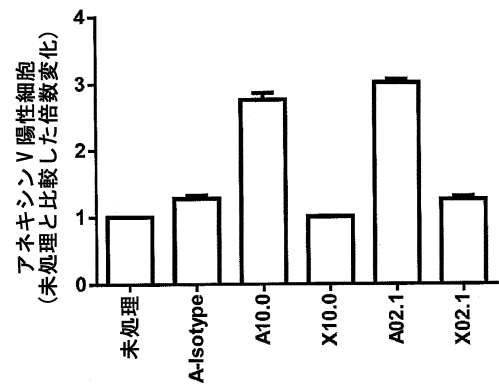


FIG. 18

【図 1 9】

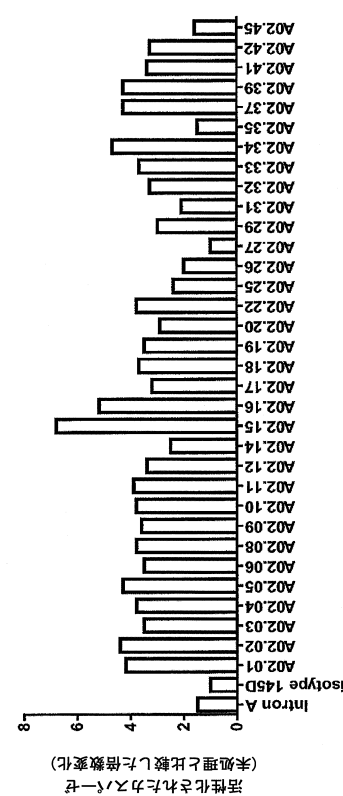


FIG. 19

【図 2 0】

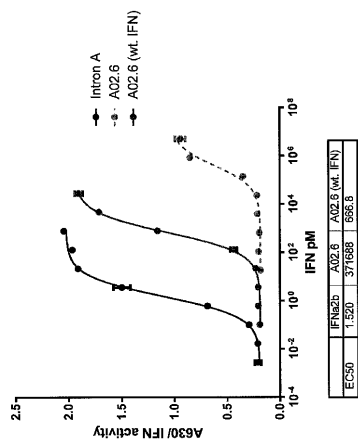


FIG. 20

【図 2 1】

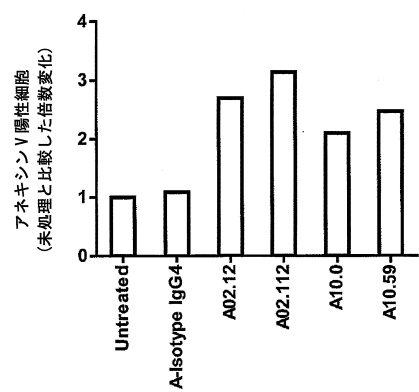


FIG. 21

【図 2 2】

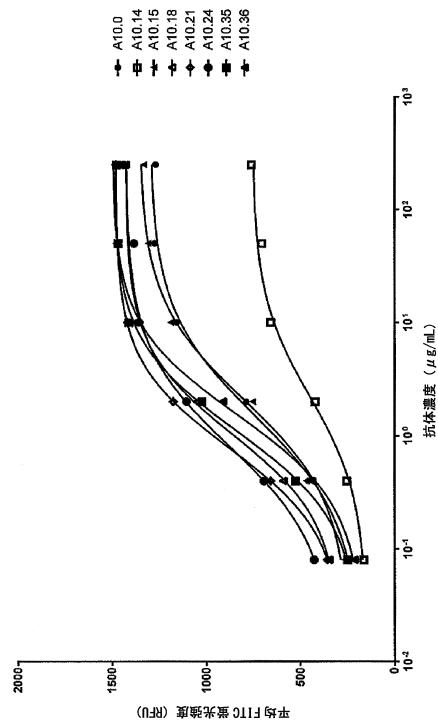


FIG. 22

【図 2 3】

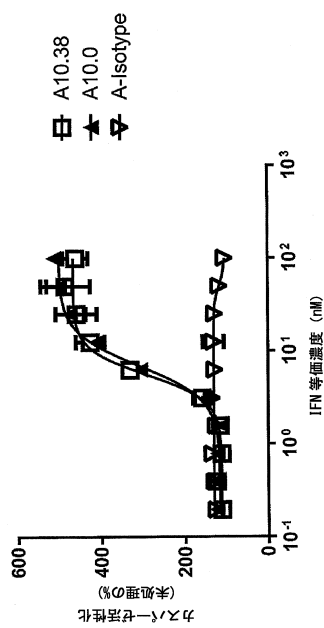


FIG. 23

【図 2 4】



FIG. 24

【図 25】

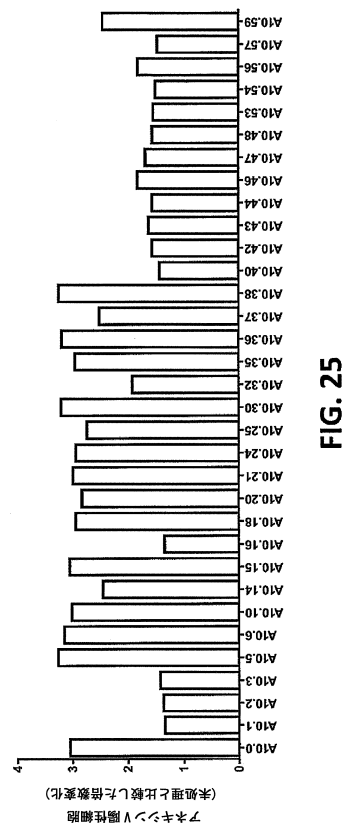


FIG. 25

【図 26】

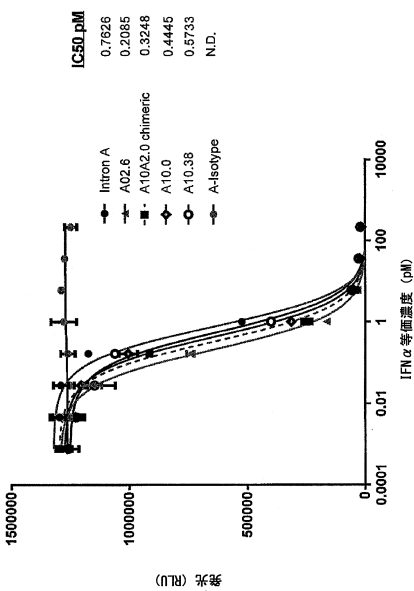


FIG. 26

【図 27】

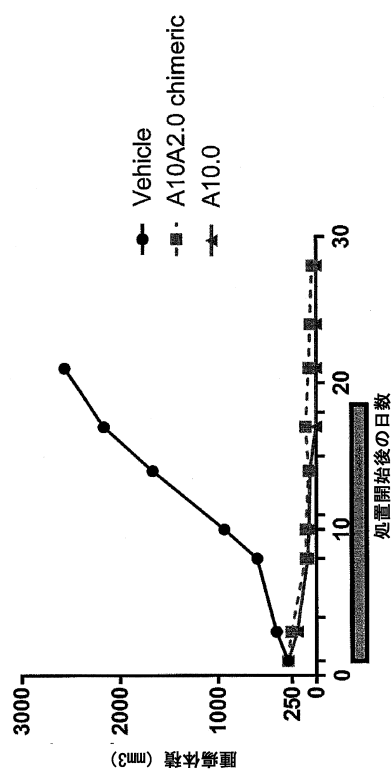


FIG. 27

【図 28】

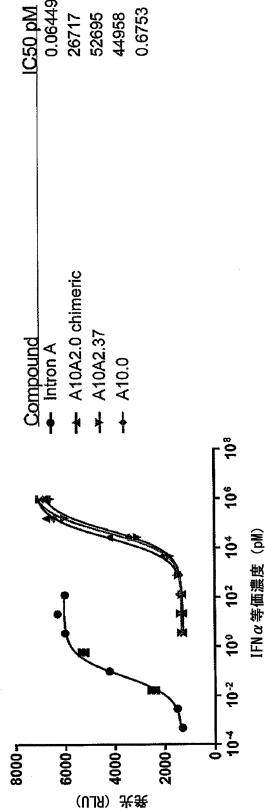


FIG. 28

【図 29】

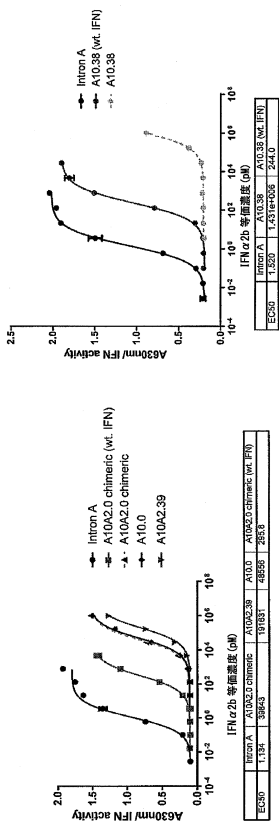


FIG. 29

【図 30】

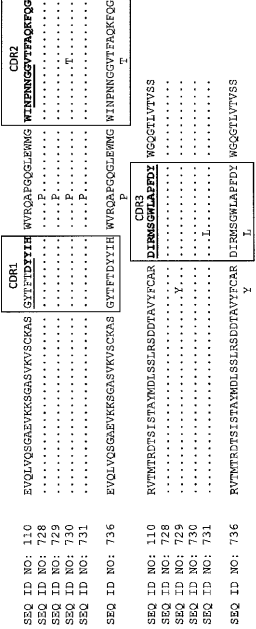


FIG. 30

【配列表】

0006286532000001.app

フロントページの続き

|             |        |           |         |          |
|-------------|--------|-----------|---------|----------|
| (51)Int.Cl. |        | F I       |         |          |
| A 6 1 K     | 39/395 | (2006.01) | A 6 1 K | 39/395 T |
| A 6 1 K     | 47/68  | (2017.01) | A 6 1 K | 39/395 L |
| A 6 1 P     | 35/00  | (2006.01) | A 6 1 K | 47/68    |
| A 6 1 P     | 35/02  | (2006.01) | A 6 1 P | 35/00    |
| C 1 2 N     | 15/09  | (2006.01) | A 6 1 P | 35/02    |
|             |        |           | C 1 2 N | 15/00 A  |

- (72)発明者 アダム・クラーク  
オーストラリア・ニュー・サウス・ウェールズ・2 1 1 3・マクアリー・パーク・エッピング・ロード・3 7・レベル・2
- (72)発明者 マシュー・ポラード  
オーストラリア・ニュー・サウス・ウェールズ・2 1 1 3・マクアリー・パーク・エッピング・ロード・3 7・レベル・2
- (72)発明者 アンソニー・ジェラルド・ドイル  
オーストラリア・ニュー・サウス・ウェールズ・2 1 1 3・マクアリー・パーク・エッピング・ロード・3 7・レベル・2
- (72)発明者 コレット・バーレンス  
オーストラリア・ニュー・サウス・ウェールズ・2 1 1 3・マクアリー・パーク・エッピング・ロード・3 7・レベル・2
- (72)発明者 山岸 哲生  
オーストラリア・ニュー・サウス・ウェールズ・2 1 1 3・マクアリー・パーク・エッピング・ロード・3 7・レベル・2
- (72)発明者 デヴィッド・エス・ウィルソン・ジュニア  
オーストラリア・ニュー・サウス・ウェールズ・2 1 1 3・マクアリー・パーク・エッピング・ロード・3 7・レベル・2
- (72)発明者 サラ・エル・ポーグ  
オーストラリア・ニュー・サウス・ウェールズ・2 1 1 3・マクアリー・パーク・エッピング・ロード・3 7・レベル・2
- (72)発明者 田浦 徹也  
オーストラリア・ニュー・サウス・ウェールズ・2 1 1 3・マクアリー・パーク・エッピング・ロード・3 7・レベル・2

審査官 西 賢二

- (56)参考文献 特表2 0 0 3－5 3 5 9 0 8 (JP, A)  
特表2 0 1 0－5 0 4 3 6 3 (JP, A)  
特表2 0 0 8－5 3 3 9 7 7 (JP, A)  
国際公開第2 0 1 3／0 5 9 8 8 5 (WO, A 2)  
Integr. Biol., 2 0 1 1年, Vol.3, p.468-478  
BLOOD, 2 0 1 1年, Vol.118, No.7, p.1877-1884

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
C 0 7 K 1 6／0 0－1 6／4 6  
C 1 2 N 1 5／0 0－1 5／9 0  
A 6 1 K 3 8／0 0－3 8／5 8  
A 6 1 K 3 9／0 0－3 9／4 4  
J S T P l u s／J M E D P l u s／J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S / B I O T E  
C H N O / S C I S E R A R C H ( S T N )  
U n i P r o t / G e n e S e q