

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成21年9月10日(2009.9.10)

【公表番号】特表2007-513633(P2007-513633A)

【公表日】平成19年5月31日(2007.5.31)

【年通号数】公開・登録公報2007-020

【出願番号】特願2006-544092(P2006-544092)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 0 7 K 16/24 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

A 6 1 K 51/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/04 (2006.01)

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

A 6 1 P 17/06 (2006.01)

A 6 1 P 19/02 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/06 (2006.01)

A 6 1 P 13/12 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 A

C 1 2 N 5/00 B

C 0 7 K 16/24

C 0 7 K 16/46

A 0 1 K 67/027

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 P 37/02

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 43/00

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 1/04

A 6 1 P 3/10

A 6 1 P 17/06

A 6 1 P 19/02  
 A 6 1 P 29/00 1 0 1  
 A 6 1 P 37/06  
 A 6 1 P 13/12  
 C 1 2 P 21/08

## 【手続補正書】

【提出日】平成21年7月22日(2009.7.22)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0099

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0099】

従って、別実施形態において、本発明は、

(a)

(i) 配列番号1、配列番号2及び配列番号3からなるグループから選択されるCDR1のアミノ酸配列、及び/又は配列番号4、配列番号5、及び配列番号6からなるグループから選択されるCDR2のアミノ酸配列、及び/又は配列番号7、8、及び9からなるグループから選択されるCDR3のアミノ酸配列と、

(ii) 配列番号10、配列番号11、及び配列番号12からなるグループから選択されるCDR1のアミノ酸配列、及び/又は配列番号13、配列番号14、及び配列番号15からなるグループから選択されるCDR2のアミノ酸配列、及び/又は配列番号16、配列番号17、及び配列番号18からなるグループから選択されるCDR3のアミノ酸配列と、を含む軽鎖可変領域の抗体配列を提供し、

(b) 重鎖可変領域抗体配列及び/又は軽鎖可変領域抗体配列の少なくとも1個のアミノ酸残基を少なくとも1個の変化した抗体配列を生成するために変えることと、

(c) 変化した抗体配列をタンパク質として発現させること、とを含む抗IFN 抗体の調製方法を提供する。

## 【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0246

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0246】

&lt;安定性が向上した13H5変異体の調製及び特徴付け&gt;

本実施例において、13H5変異体をAsn-55でアミノ酸置換を有するように調製し、実施例10に記載されるようにcIEF分析によって、変異体の安定性を脱アミド化条件下に2日置いて調べた。変異体を標準的な組み換えDNA変異手法によって調製し、野生型13H5とVHのアミノ酸位置55-58での変異の配列は、以下の通りであった。

13H5野生型： N G N T (配列番号19の55～58番目のアミノ酸残基)

変異体番号1： D G N T (配列番号38)

変異体番号2： Q G N T (配列番号39)

変異体番号3： Q G Q T (配列番号40)

変異体番号1、変異体番号2及び変異体番号3の全長のVHアミノ酸配列は、配列番号34、配列番号35及び配列番号36に示される。

## 【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0250

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0250】

【図1A】13H5ヒトモノクローナル抗体の重鎖可変領域のヌクレオチド配列（配列番号25）及びアミノ酸配列（配列番号19）を示す。CDR1（配列番号1）、CDR2（配列番号4）及びCDR3（配列番号7）領域を線引きし、そしてV、D、及びJ生殖系列の派生を表す。

【図1B】13H5ヒトモノクローナル抗体の軽鎖可変領域のヌクレオチド配列（配列番号28）及びアミノ酸配列（配列番号22）を示す。CDR1（配列番号10）、CDR2（配列番号13）及びCDR3（配列番号16）領域を線引きし、そしてV、D、及びJ生殖系列の派生を表す。

【図2A】13H7ヒトモノクローナル抗体の重鎖可変領域のヌクレオチド配列（配列番号26）及びアミノ酸配列（配列番号20）を示す。CDR1（配列番号2）、CDR2（配列番号5）及びCDR3（配列番号8）領域を線引きし、そしてV、D、及びJ生殖系列の派生を表す。

【図2B】13H7ヒトモノクローナル抗体の軽鎖可変領域のヌクレオチド配列（配列番号29）及びアミノ酸配列（配列番号23）を示す。CDR1（配列番号11）、CDR2（配列番号14）及びCDR3（配列番号17）領域を線引きし、そしてV、D、及びJ生殖系列の派生を表す。

【図3A】7H9ヒトモノクローナル抗体の重鎖可変領域のヌクレオチド配列（配列番号27）及びアミノ酸配列（配列番号21）を示す。CDR1（配列番号3）CDR2（配列番号6）及びCDR3（配列番号9）領域を線引きし、そしてV、D、及びJ生殖系列の派生を表す。

【図3B】7H9ヒトモノクローナル抗体の軽鎖可変領域のヌクレオチド配列（配列番号30）及びアミノ酸配列（配列番号24）を示す。CDR1（配列番号12）、CDR2（配列番号15）及びCDR3（配列番号18）領域を線引きし、そしてV、D、及びJ生殖系列の派生を表す。

【図4】13H5（配列番号19）及び7H9（配列番号21）の重鎖可変領域及びヒト生殖系列VH 1-18（配列番号31）とのアミノ酸配列のアラインメントを示す。

【図5】13H7（配列番号20）の重鎖可変領域及びヒト生殖系列VH 4-61（配列番号32）とのアミノ酸配列のアラインメントを示す。

【図6】13H5（配列番号22）、13H7（配列番号23）及び7H9（配列番号24）の軽鎖可変領域及びヒト生殖系列VK A27（配列番号33）とのアミノ酸配列のアラインメントを示す。

【図7】mAb 13H5による $1^{25}I$ -IFN $_{2a}$ 結合の増加（ ）と対比した、非ラベルIFN $_{2a}$ によるIFNARを発現するDauidi細胞との結合（ ）の競合物質の濃度を示したグラフである。アイソタイプコントロール抗体は、結合において効果がなかった（ ）。

【図8】IFN $_{2a}$ の存在下での $1^{25}I$ -13H5のDauidi細胞に結合（ ）するが、IFN $_{2a}$ 非存在下では結合しない（ ）ことを示すグラフである。13H5の特異的なIFN $_{2a}$ 依存的な結合は丸（ ）によって表される。

【図9】13H5存在下（ ）、13H5+IFN $_{2a}$ 存在下（ ）、アイソタイプコントロール抗体+IFN $_{2a}$ （ ）、又は陽性対照抗体（ ）の新鮮なヒト単核細胞による、Raji細胞溶解のADCC検定の結果を示すグラフである。溶解は、陽性対照を用いた場合のみ見られた。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2007513633000001.app

【手続補正5】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図1A

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図1A】

抗-IFN $\alpha$  13H5 VH

Vセグメント: 1-18  
 Dセグメント: 未決定  
 Jセグメント: JH4b

```

      Q  V  Q  L  V  Q  S  G  A  E  V  K  K  P  G  A  S  V
1    CAG GTT CAG CTG GTG CAG TCT GGA GCT GAG GTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG

                                     CDR1 (配列番号1 )
                                     ~~~~~~
      K  V  S  C  K  A  S  G  Y  T  F  T  S  Y  S  I  S  W
55   AAG GTC TCC TGC AAG GCT TCT GGT TAC ACC TTT ACC AGC TAT AGT ATC AGC TGG

                                     CDR2
                                     ~~~~~~
      V  R  Q  A  P  G  Q  G  L  E  W  M  G  W  I  S  V  Y
109  GTG CGA CAG GCC CCT GGA CAA GGG CTT GAG TGG ATG GGA TGG ATC AGC GTT TAC

                                     CDR2 (配列番号4 )
                                     ~~~~~~
      N  G  N  T  N  Y  A  Q  K  F  Q  G  R  V  T  M  T  T
163  AAT GGT AAC ACA AAC TAT GCA CAG AAG TTC CAG GGC AGA GTC ACC ATG ACC ACA

      D  T  S  T  S  T  A  Y  L  E  L  R  S  L  R  S  D  D
217  GAC ACA TCC ACG AGC ACA GCC TAC CTG GAG CTG AGG AGC CTG AGA TCT GAC GAC

                                     CDR3 (配列番号7 )
                                     ~~~~~~
      T  A  V  Y  Y  C  A  R  D  P  I  A  A  G  Y  W  G  Q
271  ACG GCC GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAT CCC ATA GCA GCA GGC TAC TGG GGC CAG

      G  T  L  V  T  V  S  S          (配列番号19)
325  GGA ACC CTG GTC ACC GTC TCC TCA          (配列番号25)

```

【手続補正6】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図1B

【補正方法】変更

【補正の内容】

## 【図 1 B】

抗-IFN $\alpha$  13H5 VK

Vセグメント: A27

Jセグメント: JK1

```

1   E I V L T Q S P G T L S L S P G E R
   GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA AGA

                                CDR1 (配列番号 10 )
                                ~~~~~
55  A T L S C R A S Q S V S S T Y L A W
   GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC ACC TAC TTA GCC TGG

                                CDR2
                                ~~~~~
109 Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G A S S
   TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT GCA TCC AGC

                                CDR2 (配列番号 13 )
                                ~~~~~
163 R A T G I P D R F S G S G S G T D F
   AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT GGG ACA GAC TTC

                                ~~~~~
217 T L T I S R L E P E D F A V Y Y C Q
   ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA GTG TAT TAC TGT CAG

                                CDR3 (配列番号 16 )
                                ~~~~~
                                (配列番号 22 )
271 Q Y G S S P R T F G Q G T K V E I K
   CAG TAT GGT AGC TCA CCT CGG ACG TTC GGC CAA GGG ACC AAG GTG GAA ATC AAA
                                (配列番号 28 )

```

## 【手続補正 7】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図 2 A

【補正方法】変更

【補正の内容】

## 【図 2 A】

抗-IFN $\alpha$  13H7 VH

Vセグメント : 4-61

Dセグメント : 3-10

Jセグメント : JH4b

```

1   Q V Q L Q E S G P G L M K P S E T L
   CAG GTG CAG CTG CAG GAG TCG GGC CCA GGA CTG ATG AAG CCT TCG GAG ACC CTG

                                     CDR1 (配列番号 2 )
                                     ~~~~~
55  S L T C T V S G G S V S S G S Y Y W
   TCC CTC ACC TGC ACT GTC TCT GGT GGC TCC GTC AGC AGT GGT AGT TAC TAC TGG

~~~~~
109 S W I R Q P P G M G L E W I G Y I Y
   AGC TGG ATC CGG CAG CCC CCA GGG ATG GGA CTG GAG TGG ATT GGT TAT ATC TAT

                                     CDR2 (配列番号 5 )
                                     ~~~~~
163 S G G G A N Y N P S L K S R V T I S
   TCC GGG GGA GGC GCC AAC TAC AAC CCT TCC CTC AAG AGT CGA GTC ACC ATA TCA

217 V D T S K N Q F S L K L N S V T A A
   GTG GAC ACG TCC AAG AAC CAG TTC TCC CTG AAG CTG AAC TCT GTG ACC GCT GCG

                                     CDR3 (配列番号 8 )
                                     ~~~~~
271 D T A V Y F C A R G I P M V R G I L
   GAC ACG GCC GTG TAT TTC TGT GCG AGA GGA ATT CCT ATG GTT CGG GGA ATT CTT

~~~~~
325 H Y W G Q G T L V T V S S (配列番号 20 )
   CAC TAC TGG GGC CAG GGA ACC CTG GTC ACC GTC TCC TCA (配列番号 26 )

```

## 【手続補正 8】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図 2 B

【補正方法】変更

【補正の内容】

## 【図 2 B】

抗-IFN $\alpha$  13H7 VK

Vセグメント： A27  
Jセグメント： JK2

```

      E I V L T Q S P G T L S L S P G E R
1  GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA AGA

                                CDR1 (配列番号 1 1 )
                                ~~~~~
      A T L S C R A S Q S V S S S F L A W
55  GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TTC TTA GCC TGG

                                CDR2
                                ~~~~~
      Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G A S S
109 TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT GCA TCC AGC

      CDR2 (配列番号 1 4 )
      ~~~~~
      R A T G I P D R F S G S G S G T D F
163  AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT GGG ACA GAC TTC

      CDR3
      ~~~~~
      T L T I S R L E P E D F A V Y Y C Q
217  ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA GTG TAT TAC TGT CAG

      CDR3 (配列番号 1 7 )
      ~~~~~
                                (配列番号 2 3 )
      Q Y G S S P Y T F G Q G T K L E I K
271  CAG TAT GGT AGC TCA CCG TAC ACT TTT GGC CAG GGG ACC AAG CTG GAG ATC AAA
                                (配列番号 2 9 )

```

【手続補正 9】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図 3 A

【補正方法】変更

【補正の内容】

## 【図 3 A】

抗 I F N  $\alpha$  7H9 VH

Vセグメント： 1-18

Dセグメント： 6-6

Jセグメント： JH4b

```

1      Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V
      CAG GTT CAG CTG GTG CAG TCT GGA GCT GAG GTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG

                                          CDR1 (配列番号 3 )
                                          ~~~~~
55     K V S C K A S G Y T F S S Y G I S W
      AAG GTC TCC TGC AAG GCT TCT GGT TAT ACC TTT TCC AGC TAT GGT ATC AGC TGG

                                          CDR2
                                          ~~~~~
109    V R Q A P G Q G L E W M G W I S A Y
      GTG CGA CAG GCC CCT GGA CAA GGA CTT GAG TGG ATG GGA TGG ATC AGC GCT TAC

      CDR2 (配列番号 6 )
      ~~~~~
163    N G N T N Y L Q K L Q G R V T L T T
      AAT GGT AAC ACA AAC TAT CTA CAG AAG CTC CAG GGC AGA GTC ACC CTG ACC ACA

217    D T S T N T A Y M E L R S L R S D D
      GAC ACA TCC ACG AAC ACA GCC TAC ATG GAG CTG AGG AGC CTG AGA TCT GAC GAC

                                          CDR3 (配列番号 9 )
                                          ~~~~~
271    T A V Y Y C T R D P I A A G Y W G Q
      ACG GCC GTG TAT TAC TGT ACG AGA GAT CCC ATA GCA GCA GGT TAC TGG GGC CAG

325    G T L V T V S S      (配列番号 2 1 )
      GGA ACC CTG GTC ACC GTC TCC TCA      (配列番号 2 7 )

```

## 【手続補正 1 0】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図 3 B

【補正方法】変更

【補正の内容】

## 【図 3 B】

抗-IFN $\alpha$  7H9 VK

Vセグメント： A27

Jセグメント： JK1

1 E I V L T Q S P G T L S L S P G E R  
GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA AGA

## CDR1 (配列番号 12 )

55 A T L S C R A S Q S V S S T Y L A W  
GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC ACC TAC TTA GCC TGG

## CDR2

109 Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G A S S  
TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT GCA TCC AGC

## CDR2 (配列番号 15 )

163 R A T G I P D R F S G S G S G T D F  
AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT GGG ACA GAC TTC

## CDR3

217 T L T I S R L E P E D F A V Y Y C Q  
ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA GTG TAT TAC TGT CAG

## CDR3 (配列番号 18 )

271 Q Y G S S P R T F G Q G T K V E I K  
CAG TAT GGT AGC TCA CCT CGG ACG TTC GGC CAA GGG ACC AAG GTG GAA ATC AAA

(配列番号 24 )

(配列番号 30 )

## 【手続補正 11】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【 図 4 】

抗-IFN $\alpha$  V<sub>H</sub> 領域

1-18 生殖系列 : Q V Q L V Q S S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y T F T S Y G I S W V R Q  
 13H5 V<sub>H</sub>: - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -  
 7H9 V<sub>H</sub>: - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

CDR1

1-18 生殖系列 : A P G Q G L E W M G W I S A Y N G N T N Y A Q K L Q G R V T M T T D T S T S T  
 13H5 V<sub>H</sub>: - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -  
 7H9 V<sub>H</sub>: - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

CDR2

1-18 生殖系列 : A Y M E L R S L R S D D T A V Y C A R (配列番号 31) CDR3  
 13H5 V<sub>H</sub>: - - L - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -  
 7H9 V<sub>H</sub>: - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -  
 (JH4b)  
 (JH4b)

- 【 手続補正 1 2 】
- 【 補正対象書類名 】 図面
- 【 補正対象項目名 】 図 5
- 【 補正方法 】 変更
- 【 補正の内容 】

【 図 5 】

抗-IFN $\alpha$  V<sub>H</sub>領域

4-61 生殖系列 : Q V Q L Q E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S G G S V S S G S Y Y W S W I R Q P  
 13H7 VH: M - - - - - CDR1

4-61 生殖系列 : P G K G L E W I G Y I Y Y S G S T N Y N P S L K S R V T I S V D T S K N Q F S L K L  
 13H7 VH: M - - - - - CDR2 G A - - - - -

4-61 生殖系列 : S S V T A A D T A V Y Y C A R (配列番号 3.2) CDR3  
 13H7 VH: N - - - - - F - - - - - G I P M V R G I L H Y W G Q G T L V T V S S (JH4b)

- 【 手続補正 1 3 】
- 【 補正対象書類名 】 図面
- 【 補正対象項目名 】 図 6
- 【 補正方法 】 変更

【 補正 の 内 容 】  
【 図 6 】

抗-IFN $\alpha$  V $\kappa$  領域

A27 生殖系列	CDR1	
13H5 VK:	E I V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S S Y L A	
7H9 VK:	- - - - -	- - - - - T - - -
13H7 VK:	- - - - -	- - - - - T - - - F - -

A27 生殖系列	CDR2	
13H5 VK:	W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G A S S R A T G I P D R F S G S G S G T	
7H9 VK:	- - - - -	- - - - -
13H7 VK:	- - - - -	- - - - -

A27 生殖系列	( 配列番号 33 )	CDR3	
13H5 VK:	D F T L T I S R L E P E D F A V Y C Q Q Y G S S P		
7H9 VK:	- - - - -	- - - - - R T F G Q G T K V E I K	(JK1)
13H7 VK:	- - - - -	- - - - - Y - - - - L - - -	(JK1) (JK2)