

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7621734号
(P7621734)

(45)発行日 令和7年1月27日(2025.1.27)

(24)登録日 令和7年1月17日(2025.1.17)

(51)国際特許分類		F I	
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62 Z
A 6 1 K	9/19 (2006.01)	A 6 1 K	9/19
A 6 1 K	31/136 (2006.01)	A 6 1 K	31/136
A 6 1 K	31/282 (2006.01)	A 6 1 K	31/282
A 6 1 K	31/337 (2006.01)	A 6 1 K	31/337
請求項の数 103 (全99頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2019-533631(P2019-533631)	(73)特許権者	518113018
(86)(22)出願日	平成29年12月21日(2017.12.21)		ポテンザ セラピューティックス インコ
(65)公表番号	特表2020-511947(P2020-511947		ーポレイテッド
	A)		アメリカ合衆国 0 2 1 3 8 マサチュー
(43)公表日	令和2年4月23日(2020.4.23)		セッツ州 ケンブリッジ マサチューセッ
(86)国際出願番号	PCT/US2017/067782		ツ アベニュー 1 0 3 0 スイート 2 1 0
(87)国際公開番号	WO2018/119171	(74)代理人	110000855
(87)国際公開日	平成30年6月28日(2018.6.28)		弁理士法人浅村特許事務所
審査請求日	令和2年12月14日(2020.12.14)	(72)発明者	ヒックリン, ダニエル
審判番号	不服2022-16166(P2022-16166/J		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2
	1)		1 3 8, ケンブリッジ, マサチューセ
審判請求日	令和4年10月11日(2022.10.11)		ッツ アベニュー 1 0 3 0, スイート
(31)優先権主張番号	62/438,733		2 1 0, ポテンザ セラピューティック
(32)優先日	平成28年12月23日(2016.12.23)		ス, インコーポレイテッド 気付
(33)優先権主張国・地域又は機関		(72)発明者	サイデル-デュガン, シンシア
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗ニューロピリン抗原結合タンパク質およびその使用の方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヒトNRP-1(hNRP-1;配列番号130)に特異的に結合し、セマフォリンポリペプチドおよび血管内皮細胞増殖因子(VEGF)ポリペプチドへのNRP-1の結合を遮断する単離された抗体またはその抗原結合フラグメントであって、以下の6つのCDR配列:

- (a)配列番号47に示される配列を有するCDR-H3;
- (b)配列番号136に示されるとおりの配列 X₁ISGSGGX₂TY YADSVX3Gを有するCDR-H2であって、ここでX₁はIまたはAであり、X₂はSまたはAであり、X3はKまたはEである、CDR-H2;
- (c)配列番号137に示されるとおりの配列 FTFX₁SX₂AMVを有するCDR-H1であって、ここでX₁はA、K、またはSであり、X₂はYまたはVである、CDR-H1;
- (d)配列番号81に示される配列を有するCDR-L3;
- (e)配列番号71に示される配列を有するCDR-L2;および
- (f)配列番号63に示される配列を有するCDR-L1
- を含む、抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項2】

- (a)配列番号47のCDR-H3、配列番号27のCDR-H2、配列番号12のCDR-H1、配列番号81のCDR-L3、配列番号71のCDR-L2、および配列番

号 6 3 の C D R - L 1 ;

(b) 配列番号 4 7 の C D R - H 3、配列番号 2 8 の C D R - H 2、配列番号 1 3 の C D R - H 1、配列番号 8 1 の C D R - L 3、配列番号 7 1 の C D R - L 2、および配列番号 6 3 の C D R - L 1 ;

(c) 配列番号 4 7 の C D R - H 3、配列番号 2 9 の C D R - H 2、配列番号 1 4 の C D R - H 1、配列番号 8 1 の C D R - L 3、配列番号 7 1 の C D R - L 2、および配列番号 6 3 の C D R - L 1 ; または

(d) 配列番号 4 7 の C D R - H 3、配列番号 3 0 の C D R - H 2、配列番号 1 4 の C D R - H 1、配列番号 8 1 の C D R - L 3、配列番号 7 1 の C D R - L 2、および配列番号 6 3 の C D R - L 1、

を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 3】

(a) 請求項 2 (a) の抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 9 2 の V_H 配列および配列番号 1 0 4 の V_L 配列を含む；

(b) 請求項 2 (b) の抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 9 3 の V_H 配列および配列番号 1 0 4 の V_L 配列を含む；

(c) 請求項 2 (c) の抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 9 4 の V_H 配列および配列番号 1 0 4 の V_L 配列を含む；

(d) 請求項 2 (d) の抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 9 5 の V_H 配列および配列番号 1 0 4 の V_L 配列を含む；または

(e) 請求項 2 (d) の抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 9 6 の V_H 配列および配列番号 1 0 4 の V_L 配列を含む、
請求項 2 に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 4】

(a) 請求項 2 (a) の抗体またはその抗原結合フラグメントは、(i) 配列番号 1 1 4 の重鎖および配列番号 1 2 6 の軽鎖を含む；

(b) 請求項 2 (b) の抗体またはその抗原結合フラグメントは、(i) 配列番号 1 1 5 の重鎖および配列番号 1 2 6 の軽鎖を含む；

(c) 請求項 2 (c) の抗体またはその抗原結合フラグメントは、(i) 配列番号 1 1 6 の重鎖および配列番号 1 2 6 の軽鎖を含む；

(d) 請求項 2 (d) の抗体またはその抗原結合フラグメントは、(i) 配列番号 1 1 7 の重鎖および配列番号 1 2 6 の軽鎖を含む；または

(e) 請求項 2 (d) の抗体またはその抗原結合フラグメントは、(i) 配列番号 1 1 8 の重鎖および配列番号 1 2 6 の軽鎖を含む、
請求項 3 に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 5】

以下を含む、ヒト N R P - 1 (h N R P - 1 ; 配列番号 1 3 0) に特異的に結合し、セマフォリンポリペプチドおよび血管内皮細胞増殖因子 (V E G F) ポリペプチドへの N R P - 1 の結合を遮断する単離された抗体またはその抗原結合フラグメント：

(a) 配列番号 4 7 に示される V_H 領域の C D R - H 3 ;

(b) 配列番号 2 7 ~ 3 0 から選択される V_H 領域の C D R - H 2 ;

(c) 配列番号 1 2 ~ 1 4 から選択される V_H 領域の C D R - H 1 ;

(d) 配列番号 8 1 に示される V_L 領域の C D R - L 3 ;

(e) 配列番号 7 1 に示される V_L 領域の C D R - L 2 ; および

(f) 配列番号 6 3 に示される V_L 領域の C D R - L 1。

【請求項 6】

(a) ヒト被験体における T r e g 抑制を阻害し得る；

(b) エフェクター T 細胞を、抗原提示細胞からの抗原提示と組み合わせて共刺激する；

(c) 調節性 T 細胞によるエフェクター T 細胞の抑制を阻害する；

(d) 組織中もしくは全身循環中のエフェクター T 細胞の数を低減する；

(e) 血小板に実質的に結合しない；
 (f) 患者に投与される場合に、血小板減少症を実質的に引き起こさない；
 (g) N R P - 1 への S E M A 3 結合を遮断する；
 (h) N R P - 1 陰性細胞に結合しない；
 (i) Y 2 9 7、T 3 1 6、D 3 2 0、E 3 4 8、T 3 4 9、K 3 5 0、K 3 5 1、K 3 5 2、Y 3 5 3、Y 3 5 4、E 4 1 2、T 4 1 3、G 4 1 4 および I 4 1 5 からなる群より選択される N R P 1 残基のうちの 1 もしくはこれより多くに特異的に結合する；および
 (j) (a) ~ (i) のいずれかの組み合わせ
 のうちの 1 またはこれより多くを行う、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

10

【請求項 7】

前記抗体は、モノクローナル抗体である、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 8】

前記抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体から選択される、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 9】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは多価である、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 10】

免疫グロブリン定常領域を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

20

【請求項 11】

I g A、I g D、I g E、I g G、または I g M から選択されるクラスの重鎖定常領域を含む、請求項 10 に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 12】

前記 I g G は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、および I g G 4 からなる群から選択されるサブクラスである、請求項 11 に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 13】

前記 I g G は I g G 4 である、請求項 12 に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

30

【請求項 14】

前記 I g G は I g G 1 である、請求項 12 に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 15】

共通軽鎖抗体、k n o b s - i n t o - h o l e s 改変を有する抗体、I g G に結合した s c F v、I g G に結合した F a b、ダイアボディ、四価二重特異的抗体、D V D - I g M A B、D A R T T M、D u o B o d y (登録商標)、C o v X - B o d y、F c a b 抗体、T a n d A b (登録商標)、タンデム F a b、Z y b o d y ^{M A B}、またはこれらの組み合わせを含む、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

40

【請求項 16】

N R P - 1 へのセマフォリン 3 A の結合を、少なくとも約 10 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 80 %、または少なくとも約 90 % 低減する、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 17】

N R P - 1 へのセマフォリン 3 A の結合を、少なくとも約 50 % 低減する、請求項 16 に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 18】

50

前記組織は腫瘍である、請求項 6 の (d) に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 19】

前記 N R P - 1 は、標的細胞の表面上で発現される、請求項 1 ~ 18 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 20】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、その N 末端においてピログルタミン酸 (p E) 残基を有するポリペプチド配列を含む、請求項 1 ~ 19 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 21】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、N 末端の Q が p E で置換された V_H 配列を含む、請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 22】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、N 末端の E が p E で置換された V_L 配列を含む、請求項 1 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 23】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、N 末端の Q が p E で置換された重鎖配列を含む、請求項 1 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 24】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、N 末端の E が p E で置換された軽鎖配列を含む、請求項 1 ~ 23 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 25】

医薬の製造における、請求項 1 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメントの使用。

【請求項 26】

がんまたはウイルス感染の処置のための医薬の製造における、請求項 1 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメントの使用。

【請求項 27】

前記がんは、固形腫瘍および血液腫瘍から選択される、がんの処置のための医薬の製造における、請求項 26 に記載の抗体またはその抗原結合フラグメントの使用。

【請求項 28】

請求項 1 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、および該抗体またはその抗原結合フラグメントの使用のための指示を含む、キット。

【請求項 29】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは凍結乾燥される、請求項 28 に記載のキット。

【請求項 30】

前記凍結乾燥された抗体またはその抗原結合フラグメントの再構成のための流体をさらに含む、請求項 29 に記載のキット。

【請求項 31】

請求項 1 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、その V_H、その V_L、その軽鎖、その重鎖またはその抗原結合部分をコードする単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 32】

請求項 31 に記載のポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項 33】

請求項 31 に記載のポリヌクレオチドまたは請求項 32 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 34】

細菌細胞、真菌細胞、および哺乳動物細胞からなる群から選択される、請求項 33 に記

10

20

30

40

50

載の宿主細胞。

【請求項 35】

E. coli 細胞、*Saccharomyces cerevisiae* 細胞、および CHO 細胞からなる群から選択される、請求項 33 に記載の宿主細胞。

【請求項 36】

請求項 31 に記載のポリヌクレオチドまたは請求項 32 に記載のベクターを含む、無細胞発現反応系。

【請求項 37】

請求項 1 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメントを生成するための方法であって、前記抗体またはその抗原結合フラグメントを請求項 33 ~ 35 のいずれか 1 項に記載の宿主細胞において発現する工程、および発現された前記抗体またはその抗原結合フラグメントを単離する工程を含む、方法。

10

【請求項 38】

請求項 1 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメントを含む、薬学的組成物。

【請求項 39】

がんまたはウイルス感染の処置のための、請求項 38 に記載の薬学的組成物。

【請求項 40】

前記がんは、固形腫瘍および血液腫瘍から選択される、がんの処置のための請求項 39 に記載の薬学的組成物。

20

【請求項 41】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、腫瘍において NRP - 1 : セマフォリン相互作用を局所的に阻害するために有効な量で前記組成物に存在する、請求項 38 から 40 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

【請求項 42】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト被験体において、NRP - 1 と膜貫通セマフォリンポリペプチドとの間の相互作用を阻害するために有効な量で前記組成物に存在する、請求項 38 から 40 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

【請求項 43】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、膜貫通セマフォリンポリペプチドへの NRP - 1 結合を特異的に遮断する、請求項 38 から 40 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

30

【請求項 44】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト被験体において Treg 抑制を阻害し得る、請求項 38 から 40 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

【請求項 45】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト被験体において Treg 生存および/または安定性を減少させ得る、請求項 38 から 40 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

【請求項 46】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、腫瘍において NRP - 1 : セマフォリン - 4 相互作用を局所的に阻害するために有効な量で前記組成物に存在する、請求項 38 から 40 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

40

【請求項 47】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、腫瘍において NRP - 1 : セマフォリン - 3 相互作用を局所的に阻害するために有効な量で前記組成物に存在する、請求項 38 から 40 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

【請求項 48】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、望ましくない自己免疫の発生および/または炎症発現を防止するために有効な量で前記組成物に存在する、請求項 38 から 40 の

50

いずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

【請求項 49】

がんの処置のための、請求項 38 から 40 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

【請求項 50】

前記薬学的組成物中の抗体またはその抗原結合フラグメントの量は、被験体において、
(a) 調節性 T 細胞によるエフェクター T 細胞の抑制を低減する；(b) エフェクター T 細胞を活性化する；(c) 組織においてまたは全身的に調節性 T 細胞の数を低減する；
(d) エフェクター T 細胞の増殖を誘導もしくは増強する；(e) 腫瘍成長の速度を阻害する；
(f) 腫瘍退縮を誘導する；または (g) これらの組み合わせ、のために十分である、
請求項 38 から 40 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

10

【請求項 51】

医薬の製造における、請求項 38 ～ 50 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物の使用。

【請求項 52】

がんまたはウイルス感染の処置のための医薬の製造における、請求項 38 ～ 50 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物の使用。

【請求項 53】

前記がんは、脳、前立腺、乳房、結腸、皮膚、および肺のがんからなる群から選択される、がんの処置における使用のための請求項 52 に記載の薬学的組成物の使用。

【請求項 54】

被験体において調節性 T 細胞 (Treg) の機能を阻害するかまたは安定性を減少させるための医薬の製造における、有効量の、請求項 1 ～ 24 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、あるいは請求項 38 ～ 50 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物の使用。

20

【請求項 55】

医薬の製造における、請求項 1 ～ 24 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメントあるいは請求項 38 ～ 50 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物の使用であって、Tエフェクター細胞 (Teff) 機能を増大するか、または該 Teff をインビボで該抗体またはその抗原結合フラグメントに曝露するための医薬の製造における該抗体またはその抗原結合フラグメントあるいは該薬学的組成物の使用。

【請求項 56】

前記被験体はがんを有する、請求項 54 または 55 に記載の使用。

30

【請求項 57】

前記医薬は、がん関連抗原に対する免疫応答を誘導または増強するために使用される、請求項 54 ～ 56 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 58】

前記抗体またはその抗原結合フラグメントは、(a) 前記ヒト被験体における Treg 生存および/または安定性を減少させる；(b) 前記 NRP-1 ポリペプチドの細胞外ドメインに結合する；または (c) これらの組み合わせ、が可能である、請求項 51 ～ 57 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 59】

被験体において調節性 T 細胞 (Treg) の機能を阻害するかまたは安定性を減少させるための医薬の製造における、有効量の、請求項 1 ～ 24 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、あるいは請求項 38 ～ 50 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物と、1 またはこれより多くのさらなる治療剤の使用。

40

【請求項 60】

前記さらなる治療剤は、細胞傷害性薬剤、化学療法剤、細胞増殖抑制剤、抗ホルモン剤、VEGF 阻害剤、免疫刺激剤、抗血管新生剤、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 59 に記載の使用。

【請求項 61】

前記さらなる治療剤は免疫刺激剤である、請求項 59 に記載の使用。

50

【請求項 6 2】

前記さらなる治療剤は、キメラ抗原レセプター T 細胞である、請求項 6 1 に記載の使用。

【請求項 6 3】

前記免疫刺激剤は、免疫細胞によって発現される阻害性レセプターまたはそのリガンドのシグナル伝達を遮断する薬剤を含む、請求項 6 1 に記載の使用。

【請求項 6 4】

前記免疫細胞によって発現される阻害性レセプターまたはそのリガンドは、PVRIG、VISTA、CCR4、CD27、CTLA-4、PD-1、PD-L1、LAG-3、Tim3、TIGIT、ニューリチン、BTLA、KIR、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 6 3 に記載の使用。

10

【請求項 6 5】

前記免疫刺激剤は、免疫細胞によって発現される刺激性レセプターに対するアゴニストを含む、請求項 6 1 に記載の使用。

【請求項 6 6】

前記免疫細胞によって発現される刺激性レセプターは、OX40、ICOS、GITR、CD28、CD37、CD40、4-1BB、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 6 5 に記載の使用。

【請求項 6 7】

前記免疫刺激剤はサイトカインを含む、請求項 6 1 に記載の使用。

【請求項 6 8】

前記免疫刺激剤は、がん関連抗原に対するワクチンを含む、請求項 6 1 に記載の使用。

20

【請求項 6 9】

免疫応答を調整する必要性のある被験体において免疫応答を調整するための医薬の製造における、有効量の、請求項 1 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、あるいは請求項 3 8 ~ 5 0 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物の使用。

【請求項 7 0】

前記医薬は、1 またはこれより多くのさらなる治療剤と組み合わせて使用される、請求項 5 1 ~ 6 9 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 7 1】

前記さらなる治療剤は、(i) 免疫細胞の刺激性レセプターに対するアゴニストまたは (ii) 免疫細胞の阻害性レセプターに対するアンタゴニストであり、ここで該免疫細胞のレセプターは、OX40、CD2、CD27、CD5、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、ICOS (CD278)、4-1BB (CD137)、CD28、CD30、CD40、BAFFR、HVEM、CD7、LIGHT、NKG2C、GITR、SLAMF7、NKP80、CD160、B7-H3、CD83 リガンド、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 7 0 に記載の使用。

30

【請求項 7 2】

前記さらなる治療剤は、単純ヘルペスウイルス、水疱性口内炎ウイルス、アデノウイルス、ニューカッスル病ウイルス、ワクシニアウイルス、マラバウイルス、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される腫瘍溶解性ウイルスである、請求項 7 0 に記載の使用。

40

【請求項 7 3】

前記さらなる治療剤は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントと同じ薬学的組成物中に製剤化される、請求項 7 0 ~ 7 2 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 7 4】

前記さらなる治療剤は、前記抗体またはその抗原結合フラグメントとは異なる薬学的組成物中に製剤化される、請求項 7 0 ~ 7 2 のいずれか 1 項に記載の使用。

【請求項 7 5】

20 nM 未満、10 nM 未満、5 nM 未満、2 nM 未満、1 nM 未満、0.5 nM 未満、または 0.2 nM 未満の K_D 値でヒト NRP-1 に特異的に結合する、請求項 1 ~ 2 4

50

のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 7 6】

ヒト、マウス、およびカニクイザルに由来する N R P - 1 に特異的に結合する、請求項 1 ~ 2 4、および 7 5 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 7 7】

S E C 1 0 が結合する N R P - 1 上のエピトープとは異なる N R P - 1 上のエピトープに結合する、請求項 1 ~ 2 4、および 7 6 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 7 8】

前記 N R P - 1 の b 1 ドメインに結合する、請求項 1 ~ 2 4、7 6、および 7 7 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

10

【請求項 7 9】

Y 2 9 7、T 3 1 6、D 3 2 0、E 3 4 8、T 3 4 9、K 3 5 0、K 3 5 1、K 3 5 2、Y 3 5 3、Y 3 5 4、E 4 1 2、T 4 1 3、G 4 1 4 および I 4 1 5 からなる群より選択される、N R P 1 (配列番号 1 3 0) 上の残基のうちの 1 またはこれより多くに特異的に結合する、請求項 1 ~ 2 4、7 6、および 7 7 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 8 0】

配列番号 4 7 からなる C D R - H 3、配列番号 3 0 からなる C D R - H 2、および配列番号 1 4 からなる C D R - H 1 を含む重鎖可変領域；ならびに

20

配列番号 8 1 からなる C D R - L 3、配列番号 7 1 からなる C D R - L 2、および配列番号 6 3 からなる C D R - L 1 を含む軽鎖可変領域、を含む、抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 8 1】

以下の (1) および (2) のうちのいずれか 1 つから選択される、請求項 8 0 に記載の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメント：

(1) 配列番号 9 6 からなる重鎖可変領域および配列番号 1 0 4 からなる軽鎖可変領域を含む、抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメント；ならびに

(2) アミノ酸番号 1 の E がピログルタミン酸に改変される配列番号 9 6 からなる重鎖可変領域、および配列番号 1 0 4 からなる軽鎖可変領域を含む、抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメント。

30

【請求項 8 2】

以下の (1) ~ (4) からなる群より選択される、請求項 8 1 に記載の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメント：

(1) 配列番号 1 1 8 からなる重鎖および配列番号 1 2 6 からなる軽鎖を含む、抗ヒト N R P - 1 抗体、

(2) アミノ酸番号 1 の E がピログルタミン酸に改変される配列番号 1 1 8 からなる重鎖および配列番号 1 2 6 からなる軽鎖を含む、抗ヒト N R P - 1 抗体、

(3) 配列番号 1 1 8 のアミノ酸番号 1 ~ 4 5 3 のアミノ酸配列からなる重鎖および配列番号 1 2 6 からなる軽鎖を含む、抗ヒト N R P - 1 抗体；ならびに

40

(4) アミノ酸番号 1 の E がピログルタミン酸に改変される配列番号 1 1 8 のアミノ酸番号 1 ~ 4 5 3 のアミノ酸配列からなる重鎖および配列番号 1 2 6 からなる軽鎖を含む、抗ヒト N R P - 1 抗体。

【請求項 8 3】

(1) 請求項 8 1 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列、および

(2) 請求項 8 1 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド。

【請求項 8 4】

50

(1) 請求項 8 2 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド、および

(2) 請求項 8 2 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチド。

【請求項 8 5】

以下を含む発現ベクター：

(a) 請求項 8 1 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド、および

(b) 請求項 8 1 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド。

10

【請求項 8 6】

以下を含む発現ベクター：

(a) 請求項 8 2 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド、および

(b) 請求項 8 2 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド。

【請求項 8 7】

(a) ~ (b) からなる群より選択される、発現ベクターで形質転換された宿主細胞：

(a) 請求項 8 1 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよび該抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；ならびに

20

(b) 請求項 8 1 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターおよび該抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

【請求項 8 8】

(a) ~ (b) からなる群より選択される発現ベクターで形質転換された宿主細胞：

(a) 請求項 8 2 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよび該抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；ならびに

30

(b) 請求項 8 2 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターおよび該抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

【請求項 8 9】

抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを生成するための方法であって、該方法は、以下の (a) ~ (c) からなる群より選択される宿主細胞を培養して、四価抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを発現する工程を包含する方法：

(a) 請求項 8 1 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよび該抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；

40

(b) 請求項 8 1 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターおよび該抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；ならびに

(c) 請求項 8 1 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞および該抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコード

50

する塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

【請求項 9 0】

抗ヒト N R P - 1 抗体を生成するための方法であって、該方法は、以下の (a) ~ (c) からなる群より選択される宿主細胞を培養して、抗ヒト N R P - 1 抗体を発現する工程を包含する方法：

(a) 請求項 8 2 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよび該抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；

(b) 請求項 8 2 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターおよび該抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；ならびに

(c) 請求項 8 2 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞および該抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

【請求項 9 1】

請求項 8 2 の抗ヒト N R P - 1 抗体および薬学的に受容可能な賦形剤を含む、薬学的組成物。

【請求項 9 2】

請求項 8 2 の (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体、請求項 8 2 の (2) の抗ヒト N R P - 1 抗体、請求項 8 2 の (3) の抗ヒト N R P - 1 抗体、および / または請求項 8 2 の (4) の抗ヒト N R P - 1 抗体、ならびに薬学的に受容可能な賦形剤を含む、薬学的組成物。

【請求項 9 3】

がんを処置するための医薬の製造における、請求項 9 1 および 9 2 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物の使用。

【請求項 9 4】

がんを処置するための医薬の製造における、細胞傷害性薬剤、化学療法剤、細胞増殖抑制剤、抗ホルモン剤、V E G F 阻害剤、免疫刺激剤、抗血管新生剤、またはこれらの組み合わせと組み合わせての、請求項 9 1 ~ 9 3 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物の使用。

【請求項 9 5】

がんを防止または処置するための医薬の製造における、請求項 8 2 に記載の抗ヒト N R P - 1 抗体の使用。

【請求項 9 6】

がんを防止または処置するための薬学的組成物の製造における、請求項 8 2 に記載の抗ヒト N R P - 1 抗体の使用。

【請求項 9 7】

治療上有効な量の請求項 8 2 に記載の抗ヒト N R P - 1 抗体の、がんを防止または処置するための医薬の製造における使用。

【請求項 9 8】

治療上有効な量の請求項 8 2 に記載の抗ヒト N R P - 1 抗体と 1 またはこれより多くのさらなる治療剤との、がんを防止または処置するための医薬の製造における使用。

【請求項 9 9】

前記さらなる治療剤は、細胞傷害性薬剤、化学療法剤、細胞増殖抑制剤、抗ホルモン剤、V E G F 阻害剤、免疫刺激剤、抗血管新生剤、およびこれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項 9 8 に記載の使用。

【請求項 1 0 0】

前記免疫刺激剤は、抗 P D - 1 抗体である、請求項 6 1 に記載の使用。

【請求項 1 0 1】

前記抗 P D - 1 抗体は、ペンブロリズマブ、ニボルマブまたはこれらの組み合わせである、請求項 1 0 0 に記載の使用。

【請求項 1 0 2】

10

20

30

40

50

前記さらなる治療剤は、抗PD-1抗体である、請求項70に記載の使用。

【請求項103】

前記抗PD-1抗体は、ペンブロリズマブ、ニボルマブまたはこれらの組み合わせである、請求項102に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

分野

NRP-1に対する結合特異性を有する抗原結合タンパク質(ABP)およびこのようなABPを含む組成物(薬学的組成物、診断用組成物が挙げられる)、およびキットが、本明細書で提供される。NRP-1 ABPを作製するための方法、ならびにNRP-1 ABPを、例えば、治療目的、診断目的、および研究目的で使用するための方法がまた、提供される。

【背景技術】

【0002】

背景

腫瘍が、免疫監視を逃れ、腫瘍発生を促進するために免疫抑制微小環境を確立し得る多くの研究が示されてきた。調節性T細胞(Treg)は、腫瘍環境において免疫抑制環境の重要な構成要素であり、腫瘍関連抗原に対するT細胞免疫を低下させることによって働く。従って、Tregは、有効な抗腫瘍免疫応答を展開するにあたって大きな障害である。がんのマウスモデルにおけるTregの枯渇は、腫瘍成長を阻害する；しかし、Tregの完全な枯渇と関連する、付随する自己免疫および炎症性障害は、このアプローチの臨床的有用性を制限し得る。Tregを特異的に標的化する戦略は、炎症性の腫瘍微小環境において、現実味のある代替手段であり得る。いくつかの研究所における近年の研究から、ニューロピリン1(NRP-1)が末梢においてTregに強い影響を与えることなく腫瘍においてTreg活性を調整するための候補標的として同定された(例えば、Chaudhary and Elkord, Vaccines (2016) Sep; 4(3): 28; Bosら, J Exp Med (2013) 210(11): 2435-66; Tengら, Cancer Res. (2010) 70(20): 7800-を参照のこと)。

【0003】

NRP-1は、2つのN末端CUBドメイン(a1およびa2)、2つの凝固因子V/VIII相同性ドメイン(b1およびb2)、ならびに単一のMAMドメイン(c)を含む大きな細胞外ドメインを有する、多機能性の130-kDaの膜貫通タンパク質である。その細胞質テールは短く、それ自体ではいかなる触媒活性をも示さない。NRP-1は、とりわけ、多数の公知のリガンドおよび共レセプター(セマフォリン、VEGF、PLGFおよびプレキシンが挙げられる)を有するレセプターである(Appletonら, Embol J. (2007) Nov 28; 26(23): 4902-4912)。

【0004】

NRP-1は、ヒトおよびマウスTreg上で発現され、この発現は、高度に抑制性のTreg部分セットを同定する。腫瘍微小環境内では、NRP-1発現は、Treg安定性および機能に必要とされるが、腫瘍の炎症性環境の外ではTregに強い影響を与えない。近年の研究から、免疫細胞が発現したリガンドであるセマフォリン4A(Sema4a)がNRP-1のさらなるリガンドとして同定されており、sema4a/NRP-1相互作用がインビトロでのおよびインビボでの炎症部位でのTreg安定性の重要なメディエーターであることが示された。これらのデータは、NRP-1がTreg系統安定性および機能に必要とされることを示唆する(例えば、Delgoffeら, Nature (2013) Sep 12; 501(7466): 252-6を参照のこと)。

【0005】

いくつかの系統の証拠は、NRP-1およびその関連タンパク質の相互作用の標的化、

10

20

30

40

50

特に、腫瘍において見出された免疫抑制微小環境を調整するための戦略として T r e g 上の N R P - 1 / S e m a 軸の標的化の有用性を裏付ける。例えば、T r e g 標的化 N R P - 1 ノックアウトを有するマウスは、いかなる他の自己免疫表現型もなしに、いくつかのマウス腫瘍モデルにおいて低減した腫瘍成長を示す。さらに、N R P - 1 または S e m a に対するアンタゴニストは、T r e g 抑制活性を一変させ、自己免疫有害事象の非存在下で抗腫瘍有効性を再び示す。さらに、その N R P - 1 - V E G F A 軸は、腫瘍微小環境への T r e g の化学走性を調整する重要な経路として提唱されており、T r e g 上でのこの相互作用を遮断するアンタゴニスト的 A b が、腫瘍へのこれら抑制性細胞の流入を阻害できた。

【 0 0 0 6 】

10

N R P - 1 がヒト腫瘍において免疫細胞の表面上で発現されることを示唆する新規な証拠が存在する。N R P - 1 + T r e g は、子宮頸がん患者の排出リンパ節 (d r a i n i n g l y m p h n o d e) (D L N) において見出され、術前の化学放射線療法に対する病理学的応答を有する患者において、D L N 中の T r e g のパーセンテージの顕著な低下が存在した。さらに、N R P - 1 + T r e g は、黒色腫および頭頸部扁平上皮がんを有する患者の腫瘍浸潤リンパ球 (T I L) において観察された。

従って、自己免疫疾患を誘導することなく、N R P - 1 をアンタゴナイズし得る治療剤が必要である。この必要性を満たす A B P が本明細書で提供される。

【 先行技術文献 】

【 非特許文献 】

20

【 0 0 0 7 】

【 文献 】 C h a u d h a r y a n d E l k o r d , V a c c i n e s (2 0 1 6) S e p ; 4 (3) : 2 8

【 文献 】 B o s ら , J E x p M e d (2 0 1 3) 2 1 0 (1 1) : 2 4 3 5 - 6 6

【 文献 】 T e n g ら , C a n c e r R e s . (2 0 1 0) 7 0 (2 0) : 7 8 0 0

【 文献 】 A p p l e t o n ら , E m b o J . (2 0 0 7) N o v 2 8 ; 2 6 (2 3) : 4 9 0 2 - 4 9 1 2

【 文献 】 D e l g o f f e ら , N a t u r e (2 0 1 3) S e p 1 2 ; 5 0 1 (7 4 6 6) : 2 5 2 - 6

【 発明の概要 】

30

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 8 】

要旨

N R P - 1 に特異的に結合する A B P およびこのような A B P を使用方法が本明細書で提供される。

【 0 0 0 9 】

一局面において、ヒト N R P - 1 (h N R P - 1 ; 配列番号 1 3 0) に特異的に結合する単離された多価抗原結合タンパク質 (A B P) が本明細書で提供され、ここで上記 A B P は、以下の 6 つの C D R 配列 :

(a) 配列番号 4 7 に示される配列を有する C D R - H 3 ;

40

(b) 配列番号 1 3 6 に示されるとおりの配列 X₁ I S G S G G X₂ T Y Y A D S V X₃ G を有する C D R - H 2 であって、ここで X₁ は I または A であり、X₂ は S または A であり、X₃ は K または E である、C D R - H 2 ;

(c) 配列番号 1 3 7 に示されるとおりの配列 F T F X₁ S X₂ A M V を有する C D R - H 1 であって、ここで X₁ は A、K、または S であり、X₂ は Y または V である、C D R - H 1 ;

(d) 配列番号 8 1 に示される配列を有する C D R - L 3 ;

(e) 配列番号 7 1 に示される配列を有する C D R - L 2 ; および

(f) 配列番号 6 3 に示される配列を有する C D R - L 1、

を含む。

50

【 0 0 1 0 】

一実施形態において、上記 A B P は、配列番号 4 7 の C D R - H 3、配列番号 2 7 の C D R - H 2、配列番号 1 2 の C D R - H 1、配列番号 8 1 の C D R - L 3、配列番号 7 1 の C D R - L 2、および配列番号 6 3 の C D R - L 1；または配列番号 4 7 の C D R - H 3、配列番号 2 8 の C D R - H 2、配列番号 1 3 の C D R - H 1、配列番号 8 1 の C D R - L 3、配列番号 7 1 の C D R - L 2、および配列番号 6 3 の C D R - L 1；または配列番号 4 7 の C D R - H 3、配列番号 2 9 の C D R - H 2、配列番号 1 4 の C D R - H 1、配列番号 8 1 の C D R - L 3、配列番号 7 1 の C D R - L 2、および配列番号 6 3 の C D R - L 1；または配列番号 4 7 の C D R - H 3、配列番号 3 0 の C D R - H 2、配列番号 1 4 の C D R - H 1、配列番号 8 1 の C D R - L 3、配列番号 7 1 の C D R - L 2、および配列番号 6 3 の C D R - L 1を含む。

10

【 0 0 1 1 】

別の実施形態において、上記 A B P は、配列番号 9 2 の V_H 配列および配列番号 1 0 4 の V_L 配列；配列番号 9 3 の V_H 配列および配列番号 1 0 4 の V_L 配列；配列番号 9 4 の V_H 配列および配列番号 1 0 4 の V_L 配列；配列番号 9 5 の V_H 配列および配列番号 1 0 4 の V_L 配列；または配列番号 9 6 の V_H 配列および配列番号 1 0 4 の V_L 配列を含む。

【 0 0 1 2 】

別の実施形態において、上記 A B P は、配列番号 1 1 4 の重鎖および配列番号 1 2 6 の軽鎖；配列番号 1 1 5 の重鎖および配列番号 1 2 6 の軽鎖；配列番号 1 1 6 の重鎖および配列番号 1 2 6 の軽鎖；配列番号 1 1 7 の重鎖および配列番号 1 2 6 の軽鎖；配列番号 1 1 8 の重鎖および配列番号 1 2 6 の軽鎖を含む。

20

【 0 0 1 3 】

別の局面において、ヒト N R P - 1 (h N R P - 1；配列番号 1 3 0) に特異的に結合する単離された多価抗原結合タンパク質 (A B P) が提供され、ここで上記 A B P は、以下の 6 つの C D R 配列：

- (a) 配列番号 4 1 に示される配列を有する C D R - H 3；
- (b) 配列番号 2 3 に示される配列を有する C D R - H 2；
- (c) 配列番号 8 に示される配列を有する C D R - H 1；
- (d) 配列番号 7 7 に示される配列を有する C D R - L 3；
- (e) 配列番号 6 7 に示される配列を有する C D R - L 2、および
- (f) 配列番号 5 9 に示される配列を有する C D R - L 1、

30

を含む。

【 0 0 1 4 】

一実施形態において、上記 A B P は、配列番号 8 5 の V_H 配列および配列番号 1 0 0 の V_L 配列；または配列番号 8 6 の V_H 配列および配列番号 1 0 0 の V_L 配列を含む。別の実施形態において、上記 A B P は、配列番号 1 0 7 の重鎖および配列番号 1 2 2 の 軽鎖；ならびに配列番号 1 0 8 の重鎖および配列番号 1 2 2 の 軽鎖を含む。

【 0 0 1 5 】

別の局面において、ヒト N R P - 1 (h N R P - 1；配列番号 1 3 0) に特異的に結合する単離された多価抗原結合タンパク質 (A B P) が提供され、ここで上記 A B P は、以下の 6 つの C D R 配列：

40

- (a) 配列番号 1 3 8 に示されるとおりの配列 A R D L G Y Y G S G M H X を有する C D R - H 3 であって、ここで X は A または V である、C D R - H 3；
- (a) 配列番号 2 4 に示される配列を有する C D R - H 2；
- (b) 配列番号 9 に示される配列を有する C D R - H 1；
- (c) 配列番号 7 8 に示される配列を有する C D R - L 3；
- (d) 配列番号 6 8 に示される配列を有する C D R - L 2；および
- (e) 配列番号 6 0 に示される配列を有する C D R - L 1、

を含む。

【 0 0 1 6 】

50

一実施形態において、上記 A B P は、配列番号 4 2 の C D R - H 3、配列番号 2 4 の C D R - H 2、配列番号 9 の C D R - H 1、配列番号 7 8 の C D R - L 3、配列番号 6 8 の C D R - L 2、および配列番号 6 0 の C D R - L 1；または配列番号 4 3 の C D R - H 3、配列番号 2 4 の C D R - H 2、配列番号 9 の C D R - H 1、配列番号 7 8 の C D R - L 3、配列番号 6 8 の C D R - L 2、および配列番号 6 0 の C D R - L 1を含む。別の実施形態において、上記 A B P は、配列番号 8 7 の V_H 配列および配列番号 1 0 1 の V_L 配列を含むか；または上記 A B P は、配列番号 8 8 の V_H 配列および配列番号 1 0 1 の V_L 配列を含む。別の実施形態において、上記 A B P は、配列番号 1 0 9 の重鎖および配列番号 1 2 3 の 軽鎖を含むか；または上記 A B P は、配列番号 1 1 0 の重鎖および配列番号 1 2 3 の 軽鎖を含む。

10

【 0 0 1 7 】

別の局面において、ヒト N R P - 1 (h N R P - 1；配列番号 1 3 0) に特異的に結合する単離された多価抗原結合タンパク質 (A B P) が提供され、ここで上記 A B P は、以下の 6 つの C D R 配列：

(a) (配列番号 1 3 9) に示されるとおりの配列 A R D R G M Y Y A S G F X P を有する C D R - H 3 であって、ここで X は G または N である、C D R - H 3；

(b) 配列番号 2 5 に示される配列を有する C D R - H 2；

(c) 配列番号 1 0 に示される配列を有する C D R - H 1；

(d) 配列番号 7 9 に示される配列を有する C D R - L 3；

(e) 配列番号 6 9 に示される配列を有する C D R - L 2；および

20

(f) 配列番号 6 1 に示される配列を有する C D R - L 1、を含む。

【 0 0 1 8 】

一実施形態において、上記 A B P は、配列番号 4 4 の C D R - H 3、配列番号 2 5 の C D R - H 2、配列番号 1 0 の C D R - H 1、配列番号 7 9 の C D R - L 3、配列番号 6 9 の C D R - L 2、および配列番号 6 1 の C D R - L 1；または配列番号 4 5 の C D R - H 3、配列番号 2 5 の C D R - H 2、配列番号 1 0 の C D R - H 1、配列番号 7 9 の C D R - L 3、配列番号 6 9 の C D R - L 2、および配列番号 6 1 の C D R - L 1を含む。別の実施形態において、上記 A B P は、配列番号 8 9 の V_H 配列および配列番号 1 0 2 の V_L 配列；または配列番号 9 0 の V_H 配列および配列番号 1 0 2 の V_L 配列を含む。別の実施形態において、上記 A B P は、配列番号 1 1 1 の重鎖および配列番号 1 2 4 の 軽鎖を含むか；または上記 A B P は、配列番号 1 1 2 の重鎖および配列番号 1 2 4 の 軽鎖を含む。

30

【 0 0 1 9 】

別の局面において、以下の 6 つの C D R 配列を含む、ヒト N R P - 1 (h N R P - 1；配列番号 1 3 0) に特異的に結合する単離された多価抗原結合タンパク質 (A B P) が提供される：

(a) 配列番号 4 6 に示される配列を有する C D R - H 3；

(b) 配列番号 2 6 に示される配列を有する C D R - H 2；

(c) 配列番号 1 1 に示される配列を有する C D R - H 1；

(d) 配列番号 8 0 に示される配列を有する C D R - L 3；

40

(e) 配列番号 7 0 に示される配列を有する C D R - L 2；および

(f) 配列番号 6 2 に示される配列を有する C D R - L 1。

【 0 0 2 0 】

一実施形態において、上記 A B P は、配列番号 9 1 の V_H 配列および配列番号 1 0 3 の V_L 配列を含む。別の実施形態において、上記 A B P は、配列番号 1 1 3 の重鎖および配列番号 1 2 5 の 軽鎖を含む。

【 0 0 2 1 】

別の局面において、以下の 6 つの C D R 配列を含む、ヒト N R P - 1 (h N R P - 1；配列番号 1 3 0) に特異的に結合する単離された多価抗原結合タンパク質 (A B P) が提供される：

50

- (a) 配列番号 4 8 に示される配列を有する C D R - H 3 ;
- (b) 配列番号 3 1 に示される配列を有する C D R - H 2 ;
- (c) 配列番号 1 5 に示される配列を有する C D R - H 1 ;
- (d) 配列番号 8 2 に示される配列を有する C D R - L 3 ;
- (e) 配列番号 6 8 に示される配列を有する C D R - L 2 ; および
- (f) 配列番号 6 4 に示される配列を有する C D R - L 1 。

【 0 0 2 2 】

一実施形態において、上記 A B P は、配列番号 9 7 の V_H 配列および配列番号 1 0 5 の V_L 配列、または配列番号 9 8 の V_H 配列および配列番号 1 0 5 の V_L 配列を含む。別の実施形態において、上記 A B P は、配列番号 1 1 9 の重鎖および配列番号 1 2 7 の 軽鎖 ; または配列番号 1 2 0 の重鎖および配列番号 1 2 7 の 軽鎖を含む。

10

【 0 0 2 3 】

別の局面において、以下の 6 つの C D R 配列を含む、ヒト N R P - 1 (h N R P - 1 ; 配列番号 1 3 0) に特異的に結合する単離された多価抗原結合タンパク質 (A B P) が提供される :

- (a) 配列番号 4 9 に示される配列を有する C D R - H 3 ;
- (b) 配列番号 3 2 に示される配列を有する ; C D R - H 2 ;
- (c) 配列番号 1 6 に示される配列を有する C D R - H 1 ;
- (d) 配列番号 8 3 に示される配列を有する C D R - L 3 ;
- (e) 配列番号 7 2 に示される配列を有する C D R - L 2 ; および
- (f) 配列番号 6 5 に示される配列を有する C D R - L 1 。

20

【 0 0 2 4 】

一実施形態において、上記 A B P は、配列番号 9 9 の V_H 配列および配列番号 1 0 6 の V_L 配列を含む。別の実施形態において、上記 A B P は、配列番号 1 2 1 の重鎖および配列番号 1 2 8 の 軽鎖を含む。

【 0 0 2 5 】

別の局面において、以下を含む、ヒト N R P - 1 (h N R P - 1 ; 配列番号 1 3 0) に特異的に結合する単離された抗原結合タンパク質 (A B P) が提供される : 配列番号 4 1 ~ 4 9 から選択される V_H 領域の C D R - H 3 と少なくとも約 8 0 % の同一性を有する C D R - H 3 ; 配列番号 2 3 ~ 3 2 から選択される V_H 領域の C D R - H 2 と少なくとも約 8 0 % の同一性を有する C D R - H 2 ; 配列番号 8 ~ 1 6 から選択される V_H 領域の C D R - H 1 と少なくとも約 8 0 % の同一性を有する C D R - H 1 ; 配列番号 7 7 ~ 8 3 から選択される V_L 領域の C D R - L 3 と少なくとも約 8 0 % の同一性を有する C D R - L 3 ; 配列番号 6 7 ~ 7 2 から選択される V_L 領域の C D R - L 2 と少なくとも約 8 0 % の同一性を有する C D R - L 2 ; および配列番号 5 9 ~ 6 5 から選択される V_L 領域の C D R - L 1 と少なくとも約 8 0 % の同一性を有する C D R - L 1 。一実施形態において、上記 C D R - H 3 、 C D R - H 2 、 C D R - H 1 、 C D R - L 3 、 C D R - L 2 、および C D R - L 1 は、K a b a t 番号付けスキーム、C h o t h i a 番号付けスキーム、または I M G T 番号付けスキームから選択される番号付けスキームに従って各々同定される。別の実施形態において、上記 C D R - H 1 は、C h o t h i a 番号付けスキームおよび K a b a t 番号付けスキームの両方によって規定されるように (両方の番号付けスキームの境界を含む) 同定される。一実施形態において、上記 C D R - H 3 は、配列番号 4 1 ~ 4 9 から選択される C D R - H 3 、または 1 個、2 個、もしくは 3 個のアミノ酸置換を有するこれらのバリエーションを含む ; 上記 C D R - H 2 は、配列番号 2 3 ~ 3 2 から選択される C D R - H 3 、または 1 個、2 個、もしくは 3 個のアミノ酸置換を有するこれらのバリエーションを含む ; 上記 C D R - H 1 は、配列番号 8 ~ 1 6 から選択される C D R - H 1 、または 1 個もしくは 2 個のアミノ酸置換を有するこれらのバリエーションを含む ; 上記 C D R - L 3 は、配列番号 7 7 ~ 8 3 から選択される C D R - L 3 、または 1 個もしくは 2 個のアミノ酸置換を有するこれらのバリエーションを含む ; 上記 C D R - L 2 は、配列番号 6 7 ~ 7 2 から選択される C D R - L 2 、または 1 個のアミノ酸置換を有するこれらのバリエーションを含む

30

40

50

；および上記CDR-L1は、配列番号59～65から選択されるCDR-L1、または1個もしくは2個のアミノ酸置換を有するこれらのバリエーションを含む。一実施形態において、上記アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

【0026】

別の局面において、ヒトNRP-1に特異的に結合するABPが提供され、ここで上記ABPは、

(a) NRP-1への結合に関して、MAB1、MAB2、MAB3、MAB4、MAB5、MAB6、MAB7、MAB8、MAB9、MAB10、MAB11、MAB12、MAB13、MAB14、もしくはMAB15から選択される抗体（各々、本開示の付表Aに提供されるとおり）と競合または交差競合する；

10

(b) 細胞表面NRP-1に対して特異的である；

(c) 膜貫通セマフォリンポリペプチドへのNRP-1結合を特異的に遮断する；

(d) NRP-1ポリペプチドと血管内皮細胞増殖因子(VEGF)ポリペプチドとの間の相互作用を遮断する；

(e) ヒト被験体におけるTreg抑制を阻害し得る；

(f) エフェクターT細胞を、抗原提示細胞からの抗原提示と組み合わせて共刺激する；

(g) 調節性T細胞によるエフェクターT細胞の抑制を阻害する；

(h) 組織中もしくは全身循環中のエフェクターT細胞の数を低減する；

(i) 血小板に実質的に結合しない；

(j) 患者に投与される場合に、血小板減少症を実質的に引き起こさない；

20

(k) NRP-1へのSEMA3結合を遮断する；

(l) NRP-1陰性細胞に結合しない；または

(m) (a)～(l)のいずれかの組み合わせが可能である。

【0027】

一実施形態において、上記ABP抗体は、MAB1、MAB2、MAB3、MAB4、MAB5、MAB6、MAB7、MAB8、MAB9、MAB10、MAB11、MAB12、MAB13、MAB14、またはMAB15から選択される抗体（各々、本開示の付表Aに提供されるとおり）との結合に関して、競合または交差競合しない。一実施形態において、上記ABPは、MAB1、MAB2、MAB3、MAB4、MAB5、MAB6、MAB7、MAB8、MAB9、MAB10、MAB11、MAB12、MAB13、MAB14、またはMAB15から選択されるABP（各々、本開示の付表Aに提供されるとおり）である。一実施形態において、上記NRP-1は、hNRP-1（配列番号130）、cNRP-1（配列番号132）、mNRP-1（配列番号134）、rNRP-1（配列番号135）、およびこれらの組み合わせから選択される。

30

【0028】

一実施形態において、上記ABPは、抗体を含む。一実施形態において、上記抗体は、モノクローナル抗体である。別の実施形態において、上記抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体から選択される。一実施形態において、上記ABPは多価である。別の実施形態において、上記ABPは抗体フラグメントを含む。別の実施形態において、上記ABPは代替の足場を含む。別の実施形態において、上記ABPは、免疫グロブリン定常領域を含む。別の実施形態において、上記ABPは、IgA、IgD、IgE、IgG、またはIgMから選択されるクラスの重鎖定常領域を含む。別の実施形態において、上記ABPは、クラスIgGおよびIgG4、IgG1、IgG2、またはIgG3から選択されるサブクラスの重鎖定常領域を含む。別の実施形態において、上記IgGはIgG4である。別の実施形態において、上記IgGはIgG1である。

40

【0029】

一実施形態において、上記ABPは、共通軽鎖抗体、knobs-into-holes改変を有する抗体、IgGに結合したscFv、IgGに結合したFab、ダイアボディ、四価二重特異的抗体、DVD-IgMAB、DARTTM、DuoBody（登録商標）、CovX-Body、Fcab抗体、TandAb（登録商標）、タンデムFab

50

b、Z y b o d y^{M A B}、またはこれらの組み合わせを含む。

【0030】

一実施形態において、上記A B Pは、N R P - 1へのセマフォリン3 A (S E M A 3 A)の結合を、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、または少なくとも約90%遮断する。一実施形態において、上記A B Pは、N R P - 1へのセマフォリン3 Aの結合を、少なくとも約50%低減する。一実施形態において、上記組織は腫瘍である。別の実施形態において、上記N R P - 1は、標的細胞の表面上で発現される。

【0031】

一実施形態において、上記A B Pは、そのN末端においてピログルタミン酸 (p E) 残基を有するポリペプチド配列を含む。別の実施形態において、上記A B Pは、N末端のQがp Eで置換されたV_H配列を含む。別の実施形態において、上記A B Pは、N末端のEがp Eで置換されたV_H配列を含む。別の実施形態において、上記A B Pは、N末端のEがp Eで置換されたV_L配列を含む。別の実施形態において、上記A B Pは、N末端のQがp Eで置換された重鎖配列を含む。別の実施形態において、上記A B Pは、N末端のEがp Eで置換された重鎖配列を含む。別の実施形態において、上記A B Pは、N末端のEがp Eで置換された軽鎖配列を含む。

【0032】

一実施形態において、上記A B Pは、20 nM未満、10 nM未満、5 nM未満、2 nM未満、1 nM未満、0.5 nM未満、または0.2 nM未満のK_DでヒトN R P - 1に特異的に結合する。別の実施形態において、上記A B Pは、ヒト、マウス、およびカニクイザルに由来するN R P - 1に特異的に結合する。一実施形態において、上記A B Pは、S E C 1 0が結合するN R P - 1上のエピトープとは異なるN R P - 1上のエピトープに結合する。一実施形態において、上記A B Pは、上記N R P - 1のa 1、a 2、b 1、またはb 2ドメインに結合する。別の実施形態において、上記A B Pは、N R P - 1の1より多くのドメインに結合する。別の実施形態において、上記A B Pは、上記N R P - 1のb 2ドメインに結合する。別の実施形態において、上記A B Pは、上記N R P - 1のb 1ドメインに結合する。

【0033】

別の局面において、医薬としての使用のための、本明細書で開示されるA B Pのうちのいずれかが提供される。別の実施形態において、上記A B Pは、がんまたはウイルス感染の処置における使用のために提供される。一実施形態において、上記がんは、固形腫瘍および血液腫瘍から選択される。

【0034】

別の局面において、本明細書で開示されるA B Pのうちのいずれか、および上記A B Pの使用のための指示を含むキットが提供される。一実施形態において、上記キットは、凍結乾燥されたA B Pを含む。別の実施形態において、上記キットは、上記凍結乾燥されたA B Pの再構成のための流体を含む。

【0035】

別の局面において、本明細書で開示されるA B P、そのV_H、そのV_L、その軽鎖、その重鎖またはその抗原結合部分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。

【0036】

別の局面において、本明細書で開示されるA B P、そのV_H、そのV_L、その軽鎖、その重鎖またはその抗原結合部分をコードする単離されたポリヌクレオチドを含むベクターが提供される。

【0037】

別の局面において、本明細書で開示されるベクターまたはポリヌクレオチドのうちのいずれかを含む宿主細胞が提供される。一実施形態において、上記宿主細胞は、細菌細胞、真菌細胞、および哺乳動物細胞から選択される。別の実施形態において、上記宿主細胞は

10

20

30

40

50

、*E. coli*細胞、*Saccharomyces cerevisiae*細胞、およびCHO細胞から選択される。

【0038】

別の局面において、本明細書で開示されるベクターまたはポリヌクレオチドのうちのいずれかを含む無細胞発現反応物が提供される。

【0039】

別の局面において、本明細書で開示されるとおりのABPを生成するための方法が提供され、上記方法は、上記ABPを本明細書で開示される宿主細胞において発現する工程および上記発現されたABPを単離する工程を包含する。

【0040】

別の局面において、本明細書で開示されるABPのうちのいずれかおよび薬学的に受容可能な賦形剤を含む薬学的組成物が提供される。一実施形態において、上記ABPは、腫瘍においてNRP-1：セマフォリン-4相互作用を局所的に阻害するために有効な量で上記組成物に存在する。一実施形態において、上記抗NRP-1抗体は、ヒト被験体に投与される場合、NRP-1と膜貫通セマフォリンポリペプチドとの間の相互作用を阻害するために有効な量で上記組成物に存在する。別の実施形態において、上記抗NRP-1抗体は、膜貫通セマフォリンポリペプチドへのNRP-1結合を特異的に遮断する。別の実施形態において、上記抗NRP-1抗体は、NRP-1ポリペプチドと血管内皮細胞増殖因子（VEGF）ポリペプチドとの間の相互作用を遮断する。別の実施形態において、上記抗NRP-1抗体は、セマフォリンポリペプチドの結合を遮断する。一実施形態において、上記抗NRP-1抗体は、SEMA3結合を遮断する。別の実施形態において、上記抗NRP-1抗体は、SEMA4結合を遮断する。別の実施形態において、上記抗体は、NRP-1ポリペプチドとSEMA3との間の相互作用を遮断する。別の実施形態において、上記抗体は、NRP-1ポリペプチドとVEGFとの間の相互作用を遮断する。一実施形態において、上記抗体は、セマフォリンポリペプチド結合を遮断するが、VEGF結合を遮断しない。別の実施形態において、上記抗NRP-1抗体は、ヒト被験体におけるTreg抑制を阻害し得る。別の実施形態において、上記抗NRP-1抗体は、ヒト被験体においてTreg生存および/または安定性を減少させ得る。一実施形態において、上記抗NRP-1抗体は、腫瘍において上記NRP-1：セマフォリン-4相互作用を局所的に阻害するために有効な量で上記組成物に存在する。別の実施形態において、上記抗NRP-1抗体は、望ましくない自己免疫の発生および/または炎症発現を防止するために有効な量で上記組成物に存在する。一実施形態において、ヒト被験体は、がんに罹患している。一実施形態において、上記薬学的組成物中のABPの量は、被験体において、（a）調節性T細胞によるエフェクターT細胞の抑制を低減する；（b）エフェクターT細胞を活性化する；（c）組織においてまたは全身的に調節性T細胞の数を低減する；（d）エフェクターT細胞の増殖を誘導もしくは増強する；（e）腫瘍成長の速度を阻害する；（f）腫瘍退縮を誘導する；または（g）これらの組み合わせ、のために十分である。

【0041】

一実施形態において、上記薬学的組成物は、医薬としての使用のためのものである。一実施形態において、上記薬学的組成物は、がんまたはウイルス感染の処置における使用のためのものである。一実施形態において、上記薬学的組成物は、がんの処置における使用のためのものであり、ここで上記がんは、脳、前立腺、乳房、結腸、皮膚、および肺のがんから選択される。一実施形態において、上記薬学的組成物は、薬学的に受容可能な賦形剤を含む。一実施形態において、上記薬学的組成物中のABPは、被験体において、（a）調節性T細胞によるエフェクターT細胞の抑制を低減する；（b）エフェクターT細胞を活性化する；（c）組織においてまたは全身的に調節性T細胞の数を低減する；（d）エフェクターT細胞の増殖を誘導もしくは増強する；（e）腫瘍成長の速度を阻害する；（f）腫瘍退縮を誘導する；または（g）これらの組み合わせ、のために十分である。

【0042】

別の局面において、被験体において調節性T細胞（Treg）の機能を阻害するかまた

10

20

30

40

50

は安定性を減少させるための方法が提供され、上記方法は、上記 T r e g をインビボで、上記 T r e g におけるニューロピリン - 1 (N R P - 1) : セマフォリン - 4 A 軸の阻害剤に曝露する工程を包含し、ここで有効量の、本明細書で提供される A B P または本明細書で提供される薬学的組成物は、上記被験体に投与される。一実施形態において、上記方法は、有効量の本明細書で提供される薬学的組成物を被験体に投与する工程を包含する、T エフェクター細胞 (T e f f) 機能を増大するか、または上記 T e f f をインビボで、本明細書で提供される A B P に曝す工程を包含する。一実施形態において、上記被験体はがんを有する。一実施形態において、上記方法は、がん関連抗原に対する免疫応答を誘導または増強する。一実施形態において、上記 A B P は、(a) 上記ヒト被験体における T r e g 生存および / または安定性を減少させる ; (b) 上記 N R P - 1 ポリペプチドの細胞外ドメインに結合する ; または (c) これらの組み合わせ、が可能である。

10

【 0 0 4 3 】

一実施形態において、上記方法は、1 またはこれより多くのさらなる治療剤を投与する工程をさらに包含する。一実施形態において、上記さらなる治療剤は、放射線、細胞傷害性薬剤、化学療法剤、細胞増殖抑制剤、抗ホルモン剤、V E G F 阻害剤、免疫刺激剤、抗血管新生剤、およびこれらの組み合わせから選択される。一実施形態において、上記さらなる治療剤は免疫刺激剤である。一実施形態において、上記免疫刺激剤は、免疫細胞によって発現される阻害性レセプターまたはそのリガンドのシグナル伝達を遮断する薬剤を含む。一実施形態において、上記免疫細胞によって発現される阻害性レセプターまたはそのリガンドは、P V R I G、V I S T A、C C R 4、C D 2 7、C T L A - 4、P D - 1、P D - L 1、L A G - 3、T i m 3、T I G I T、ニューリチン、B T L A、K I R、およびこれらの組み合わせから選択される。一実施形態において、上記免疫刺激剤は、免疫細胞によって発現される刺激性レセプターに対するアゴニストを含む。一実施形態において、上記免疫細胞によって発現される刺激性レセプターは、O X 4 0、G I T R、I C O S、C D 2 8、C D 3 7、C D 4 0、4 - 1 B B、およびこれらの組み合わせから選択される。一実施形態において、上記免疫刺激剤はサイトカインを含む。別の実施形態において、上記免疫刺激剤はがん関連抗原に対するワクチンを含む。

20

【 0 0 4 4 】

別の局面において、免疫応答を調整する必要性のある被験体において免疫応答を調整するための方法が提供され、上記方法は、有効量の本明細書で提供される A B P を上記被験体に投与する工程を包含する。一実施形態において、上記方法は、1 またはこれより多くのさらなる治療剤を上記被験体に投与する工程をさらに包含する。一実施形態において、上記さらなる治療剤は、(i) 免疫細胞の刺激性レセプターに対するアゴニストまたは (i i) 免疫細胞の阻害性レセプターに対するアンタゴニストであり、ここで上記免疫細胞のレセプターは、O X 4 0、C D 2、C D 2 7、C D S、I C A M - 1、L F A - 1 (C D 1 1 a / C D 1 8)、I C O S (C D 2 7 8)、4 - 1 B B (C D 1 3 7)、C D 2 8、C D 3 0、C D 4 0、B A F F R、H V E M、C D 7、L I G H T、N K G 2 C、G I T R、S L A M F 7、N K p 8 0、C D 1 6 0、B 7 - H 3、C D 8 3 リガンド、およびこれらの組み合わせから選択される。別の実施形態において、上記さらなる治療剤は、単純ヘルペスウイルス、水疱性口内炎ウイルス、アデノウイルス、ニューカッスル病ウイルス、ワクシニアウイルス、マラバウイルス、およびこれらの組み合わせから選択される腫瘍溶解性ウイルスである。一実施形態において、上記さらなる治療剤は、上記 A B P と同じ薬学的組成物中に製剤化される。別の実施形態において、上記さらなる治療剤は、上記 A B P とは異なる薬学的組成物中に製剤化される。

30

40

【 0 0 4 5 】

一実施形態において、上記さらなる治療剤は、上記 A B P を投与する前に投与される。別の実施形態において、上記さらなる治療剤は、上記 A B P を投与した後に投与される。別の実施形態において、上記さらなる治療剤は、上記 A B P と同時に投与される。一実施形態において、上記方法は、上記被験体において血小板減少症を実質的に引き起こさない。

【 0 0 4 6 】

50

別の局面において、配列番号 47 からなる C D R - H 3、配列番号 30 からなる C D R - H 2、および配列番号 14 からなる C D R - H 1 を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号 81 からなる C D R - L 3、配列番号 71 からなる C D R - L 2、および配列番号 63 からなる C D R - L 1 を含む軽鎖可変領域を含む、抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントが提供される。一実施形態において、上記抗体またはその抗原結合フラグメントは、以下の (1) および (2) のうちのいずれか一方から選択される：

(1) 配列番号 96 からなる重鎖可変領域および配列番号 104 からなる軽鎖可変領域を含む、抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメント；ならびに

(2) アミノ酸番号 1 の E がピログルタミン酸に改変される配列番号 96 からなる重鎖可変領域および配列番号 104 からなる軽鎖可変領域を含む、抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメント。

10

【0047】

一実施形態において、抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを生成するための方法が提供され、上記方法は、以下の (a) ~ (c) からなる群より選択される宿主細胞を培養して、四価抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントを発現する工程を包含する：

(a) 上記の実施形態 (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよび上記抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；

20

(b) 上記の実施形態 (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターおよび上記抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；ならびに

(c) 上記の実施形態 (1) の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞および上記抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

【0048】

別の実施形態において、(1) 上記の局面の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよび (2) 上記の局面の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドが提供される。

30

【0049】

別の実施形態において、(a) 上記の局面の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド、および/または (b) 上記の局面の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターが提供される。

【0050】

別の実施形態において、以下の (a) ~ (d) からなる群より選択される発現ベクターで形質転換された宿主細胞が提供される：

40

(a) 上記の局面の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよび上記抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；

(b) 上記の局面の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターおよび上記の局面の上記抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；

(c) 上記の局面の抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変

50

領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；ならびに

(d) 上記の局面の抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

【0051】

別の実施形態において、以下の(1)～(4)からなる群より選択される、上記の局面に従う抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントが提供される：

(1) 配列番号118からなる重鎖および配列番号126からなる軽鎖を含む、抗ヒトNRP-1抗体；

(2) アミノ酸番号1のEがピログルタミン酸に改変される配列番号118からなる重鎖および配列番号126からなる軽鎖を含む、抗ヒトNRP-1抗体；

(3) 配列番号118のアミノ酸番号1～453のアミノ酸配列からなる重鎖および配列番号126からなる軽鎖を含む、抗ヒトNRP-1抗体；ならびに

(4) アミノ酸番号1のEがピログルタミン酸に改変される配列番号118のアミノ酸番号1～453のアミノ酸配列からなる重鎖および配列番号126からなる軽鎖を含む、抗ヒトNRP-1抗体。

【0052】

一実施形態において、上記抗ヒトNRP-1抗体は、がんを防止または処置することにおける使用のためのものである。別の実施形態において、上記抗ヒトNRP-1抗体は、がんを防止または処置するための薬学的組成物の製造のためのものである。

【0053】

以下の(1)および(2)からなる群より選択されるポリヌクレオチド：

(1) 上記の実施形態(1)の抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド、および

(2) 上記の実施形態(1)の抗ヒトNRP-1抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド。

【0054】

以下を含む発現ベクター：

(a) 上記の実施形態(1)の抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド、および/または

(b) 上記の実施形態(1)の抗ヒトNRP-1抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド。

【0055】

以下の(a)～(d)からなる群より選択される発現ベクターで形質転換された宿主細胞：

(a) 上記の実施形態(1)の抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよび上記抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；

(b) 上記の実施形態(1)の抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターおよび上記抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；

(c) 上記の実施形態(1)の抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；ならびに

(d) 上記の実施形態(1)の抗ヒトNRP-1抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

【0056】

抗ヒトNRP-1抗体を生成するための方法であって、上記方法は、以下の(a)～(c)からなる群より選択される宿主細胞を培養して、抗ヒトNRP-1抗体を発現する工程を包含する、方法：

10

20

30

40

50

(a) 上記の実施形態(1)の抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよび上記抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；

(b) 上記の実施形態(1)の抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターおよび上記抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；ならびに

(c) 上記の実施形態(1)の抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞および上記抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

10

【0057】

一実施形態において、上記の実施形態の抗ヒトNRP-1抗体および薬学的に受容可能な賦形剤を含む薬学的組成物が提供される。別の実施形態において、上記の実施形態(1)の抗ヒトNRP-1抗体、上記の実施形態(2)の抗ヒトNRP-1抗体、上記の実施形態(3)の抗ヒトNRP-1抗体、および/または上記の実施形態(4)の抗ヒトNRP-1抗体、ならびに薬学的に受容可能な賦形剤を含む薬学的組成物が提供される。一実施形態において、上記薬学的組成物は、がんを処置するための薬学的組成物である。別の実施形態において、上記組成物は、放射線、細胞傷害性薬剤、化学療法剤、細胞増殖抑制剤、抗ホルモン剤、VEGF阻害剤、免疫刺激剤、抗血管新生剤、またはこれらの組み合わせと組み合わせて投与される。

20

【0058】

別の実施形態において、がんを防止または処置するための方法が提供され、上記方法は、治療上有効な量の上記の局面の抗ヒトNRP-1抗体を投与する工程を包含する。一実施形態において、上記方法は、1またはこれより多くのさらなる治療剤を投与する工程をさらに包含する。一実施形態において、上記さらなる治療剤は、放射線、細胞傷害性薬剤、化学療法剤、細胞増殖抑制剤、抗ホルモン剤、VEGF阻害剤、免疫刺激剤、抗血管新生剤、およびこれらの組み合わせからなる群より選択される。

【図面の簡単な説明】

【0059】

【図1A】図1Aおよび1Bは、MAB2、MAB3、MAB4、MAB5、MAB7、MAB12、MAB13、MAB14、およびMAB15のマウスバージョン、ならびに比較因子としてのIgGコントロールおよび抗NRP-1抗体SEC10で処置したCT26腫瘍を有するマウスにおける腫瘍成長阻害を示す2つのグラフである。マウスを、MAB単剤療法で(図1A)またはPD-1抗体との組み合わせ(図1B)において処置した。抗体処置時間(日数)を矢印によって示す。図1Cは、単剤療法および本明細書で記載されるとおりの併用療法で処置したCT26腫瘍を有するマウスにおける腫瘍成長阻害を示すグラフである。i) MAB12のマウスバージョン、ii) PD-1阻害剤、およびiii) mMAB12およびPD-1阻害剤の併用が提供される。抗体処置時間(日数)を矢印によって示す。

30

【図1B】図1Aおよび1Bは、MAB2、MAB3、MAB4、MAB5、MAB7、MAB12、MAB13、MAB14、およびMAB15のマウスバージョン、ならびに比較因子としてのIgGコントロールおよび抗NRP-1抗体SEC10で処置したCT26腫瘍を有するマウスにおける腫瘍成長阻害を示す2つのグラフである。マウスを、MAB単剤療法で(図1A)またはPD-1抗体との組み合わせ(図1B)において処置した。抗体処置時間(日数)を矢印によって示す。図1Cは、単剤療法および本明細書で記載されるとおりの併用療法で処置したCT26腫瘍を有するマウスにおける腫瘍成長阻害を示すグラフである。i) MAB12のマウスバージョン、ii) PD-1阻害剤、およびiii) mMAB12およびPD-1阻害剤の併用が提供される。抗体処置時間(日数)を矢印によって示す。

40

【図1C】図1Aおよび1Bは、MAB2、MAB3、MAB4、MAB5、MAB7、

50

M A B 1 2、M A B 1 3、M A B 1 4、およびM A B 1 5のマウスバージョン、ならびに比較因子としてのI g Gコントロールおよび抗N R P - 1抗体S E C 1 0で処置したC T 2 6腫瘍を有するマウスにおける腫瘍成長阻害を示す2つのグラフである。マウスを、M A B単剤療法で(図1 A)またはP D - 1抗体との組み合わせ(図1 B)において処置した。抗体処置時間(日数)を矢印によって示す。図1 Cは、単剤療法および本明細書で記載されるとおりの併用療法で処置したC T 2 6腫瘍を有するマウスにおける腫瘍成長阻害を示すグラフである。i) M A B 1 2のマウスバージョン、i i) P D - 1阻害剤、およびi i i) m M A B 1 2およびP D - 1阻害剤の併用が提供される。抗体処置時間(日数)を矢印によって示す。

【0060】

【図2 A】図2は、M A B 2、M A B 3、M A B 4、M A B 5、M A B 7、M A B 1 2、M A B 1 3、M A B 1 4、およびM A B 1 5のマウスバージョン、ならびに比較因子としてのI g GコントロールおよびS E C 1 0で処置したM C 3 8腫瘍を有するマウスにおける腫瘍成長阻害を示す3つのグラフである。マウスを、M A B単剤療法で(図2 A)またはP D - L 1抗体との組み合わせ(図2 B)において処置した。抗体処置時間(日数)を矢印によって示す。M C 3 8同系結腸マウス腫瘍モデルにおけるm M A B 1 2単独でのまたはP D - L 1抗体との組み合わせでの抗腫瘍有効性を、図2 Cに示す。

【図2 B】図2は、M A B 2、M A B 3、M A B 4、M A B 5、M A B 7、M A B 1 2、M A B 1 3、M A B 1 4、およびM A B 1 5のマウスバージョン、ならびに比較因子としてのI g GコントロールおよびS E C 1 0で処置したM C 3 8腫瘍を有するマウスにおける腫瘍成長阻害を示す3つのグラフである。マウスを、M A B単剤療法で(図2 A)またはP D - L 1抗体との組み合わせ(図2 B)において処置した。抗体処置時間(日数)を矢印によって示す。M C 3 8同系結腸マウス腫瘍モデルにおけるm M A B 1 2単独でのまたはP D - L 1抗体との組み合わせでの抗腫瘍有効性を、図2 Cに示す。

【図2 C】図2は、M A B 2、M A B 3、M A B 4、M A B 5、M A B 7、M A B 1 2、M A B 1 3、M A B 1 4、およびM A B 1 5のマウスバージョン、ならびに比較因子としてのI g GコントロールおよびS E C 1 0で処置したM C 3 8腫瘍を有するマウスにおける腫瘍成長阻害を示す3つのグラフである。マウスを、M A B単剤療法で(図2 A)またはP D - L 1抗体との組み合わせ(図2 B)において処置した。抗体処置時間(日数)を矢印によって示す。M C 3 8同系結腸マウス腫瘍モデルにおけるm M A B 1 2単独でのまたはP D - L 1抗体との組み合わせでの抗腫瘍有効性を、図2 Cに示す。

【0061】

【図3】図3は、抗N R P - 1抗体M A B 1 2およびS E C 1 0に関するエピトープビニングデータを示す2つのグラフである。上のパネルは、抗ヒトF c A H Cセンサー上に固定化された5 μ g / m L M A B 1 2でのM A B 1 2およびS E C 1 0に関するビニングデータを示す。下のパネルは、センサー上に固定化された5 μ g / m L S E C 1 0でのM A B 1 2およびS E C 1 0に関するビニングデータを示す。N R P 1タンパク質は、その固定化した抗体に結合され、その第2の抗体の結合が上昇する。その軌跡は、M A B 1 2およびS E C 1 0がN R P 1に同時に結合し得ることを示す。

【発明を実施するための形態】

【0062】

詳細な説明

定義

別段定義されなければ、本明細書で使用される技術、表記法および他の科学技術の全ての用語は、本発明が属する分野の当業者によって一般に理解される意味を有することが意図される。いくつかの場合には、一般に理解される意味を有する用語は、明瞭性のためにおよび/または容易な参照のために本明細書で定義され、本明細書中でのこのような定義の包含は、必ずしも当該分野で一般に理解されるものを越える差異を表すと解釈されるべきではない。本明細書で記載または参照される技術および手順は一般に、十分に理解され、従来の方法論を使用して当業者によって一般的に使用される(例えば、S a m b r o o

10

20

30

40

50

から、Molecular Cloning: A Laboratory Manual 第4版。(2012) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NYに記載される広く利用される分子クローニング方法論など)。適切な場合には、市販のキットおよび試薬の使用に関わる手順は一般に、別段注記されなければ、製造者が規定するプロトコルおよび条件に従って行われる。

【0063】

本明細書で使用される場合、単数形「1つの、ある(a)」、「1つの、ある(an)」および「上記、この、その(the)」とは、文脈が明らかに別のことを示さなければ、複数形への言及を包含する。用語「含む、包含する(include)」、「例えば、

10

【0064】

本明細書で使用される場合、用語「含む、包含する(comprising)」はまた、別段具体的に示されなければ、記載される要素「からなる(consisting of)」実施形態および「から本質的になる(consisting essentially of)」実施形態を具体的に含む。

【0065】

用語「約(about)」とは、示された値およびその値を上回るおよび下回る範囲を示し、包含する。ある種の実施形態において、用語「約」とは、指定された値 $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ 、または $\pm 1\%$ を示す。ある種の実施形態において、適用可能である場合、用語「約」は、指定された値 \pm その値の1標準偏差を示す。

20

【0066】

用語「免疫グロブリン」とは、2対のポリペプチド鎖：1対の軽(L)鎖および1対の重(H)鎖を概して含む、構造的に関連するタンパク質のクラスをいう。「無傷の免疫グロブリン(intact immunoglobulin)」では、全4個のこれらの鎖が、ジスルフィド結合によって相互に接続される。免疫グロブリンの構造は、十分に特徴づけられている。例えば、Paul, Fundamental Immunology 第7版, 第5章(2013) Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PAを参照のこと。簡潔には、各重鎖は、代表的には、重鎖可変領域(V_H)および重鎖定常領域(C_H)を含む。その重鎖定常領域は代表的には、3個のドメイン(C_{H1} 、 C_{H2} 、および C_{H3} と略される)を含む。各軽鎖は代表的には、軽鎖可変領域(V_L)および軽鎖定常領域を含む。その軽鎖定常領域は代表的には、1個のドメイン(C_L と略される)を含む。

30

【0067】

用語「抗原結合タンパク質(antigen-binding protein) (ABP)」は、抗原またはエピトープに特異的に結合する1またはこれより多くの抗原結合ドメインを含むタンパク質をいう。いくつかの実施形態において、その抗原結合ドメインは、天然に存在する抗体のものに類似の特異性および親和性でその抗原またはエピトープに結合する。いくつかの実施形態において、そのABPは、抗体を含む。いくつかの実施形態において、そのABPは、抗体からなる。いくつかの実施形態において、そのABPは、代替の足場を含む。いくつかの実施形態において、そのABPは、代替の足場からなる。いくつかの実施形態において、そのABPは、代替の足場から本質的になる。いくつかの実施形態において、そのABPは、抗体フラグメントを含む。いくつかの実施形態において、そのABPは、抗体フラグメントからなる。いくつかの実施形態において、そのABPは、抗体フラグメントから本質的になる。「NRP-1 ABP」、「抗NRP-1 ABP (anti-NRP-1 ABP)」、または「NRP-1 特異的ABP (NRP-1-specific ABP)」は、本明細書で提供されるように、その抗原NRP-1に特異的に結合するABPである。いくつかの実施形態において、そのABPは、NRP-1の細胞

40

50

外ドメインに結合する。ある種の実施形態において、本明細書で提供される N R P - 1 A B P は、異なる種に由来する N R P - 1 タンパク質の間またはその中で保存される N R P - 1 のエピトープに結合する。

【 0 0 6 8 】

用語「抗体 (a n t i b o d y) 」は、その最も広い意味において本明細書で使用され、抗原またはエピトープに特異的に結合する 1 またはこれより多くの抗原結合ドメインを含むある種のタイプの免疫グロブリン分子を包含する。抗体としては、具体的には、無傷の抗体 (例えば、無傷の免疫グロブリン)、抗体フラグメント、および多重特異的抗体が挙げられる。抗体は、A B P の 1 タイプである。

【 0 0 6 9 】

用語「抗原結合ドメイン (a n t i g e n - b i n d i n g d o m a i n) 」とは、抗原またはエピトープに特異的に結合し得る A B P の部分を意味する。抗原結合ドメインの一例は、抗体の $V_H - V_L$ ダイマーによって形成される抗原結合ドメインである。抗原結合ドメインの別の例は、アドネクチンの 10 番目のフィブロネクチンタイプ I I I ドメインに由来するある種のループの多様化によって形成される抗原結合ドメインである。

【 0 0 7 0 】

用語「全長抗体 (f u l l l e n g t h a n t i b o d y) 」, 「無傷の抗体 (i n t a c t a n t i b o d y) 」, および「完全抗体 (w h o l e a n t i b o d y) 」とは、天然に存在する抗体構造に実質的に類似の構造を有しかつ F c 領域を含む重鎖を有する抗体をいうために本明細書で交換可能に使用される。例えば、I g G 分子をいうために使用される場合、「全長抗体」は、2つの重鎖および2つの軽鎖を含む抗体である。「抗ヒト N R P - 1 抗体 (a n t i - h u m a n N R P - 1 a n t i b o d y) 」は、ヒト N R P - 1 に特異的に結合するインタクトな抗体 (本明細書で提供されるとおり) である。

【 0 0 7 1 】

用語「F c 領域 (F c r e g i o n) 」とは、天然に存在する抗体において、F c レセプターおよび補体系のある種のタンパク質と相互作用する免疫グロブリン重鎖の C 末端領域を意味する。種々の免疫グロブリンの F c 領域の構造、およびその中に含まれるグリコシル化部位は、当該分野で公知である。S c h r o e d e r a n d C a v a c i n i , J . A l l e r g y C l i n . I m m u n o l . , 2 0 1 0 , 1 2 5 : S 4 1 - 5 2 (その全体において参考として援用される) を参照のこと。その F c 領域は、天然に存在する F c 領域、または当該分野でもしくは本開示の他の箇所で記載されるように改変された F c 領域であり得る。

【 0 0 7 2 】

その V_H および V_L 領域は、より保存された領域が散在した超可変性の領域 (「超可変領域 (H V R) 」 ; 「相補性決定領域」 (C D R) ともいわれる) へとさらに細かく分けられ得る。より保存された領域は、フレームワーク領域 (F R) といわれる。各 V_H および V_L は一般に、3 個の C D R および 4 個の F R を含み、以下の順序で配列される (N 末端から C 末端へと) : F R 1 - C D R 1 - F R 2 - C D R 2 - F R 3 - C D R 3 - F R 4 。その C D R は、抗原結合に関与し、その抗体の抗原特異性および結合親和性に影響を及ぼす。K a b a t a , S e q u e n c e s o f P r o t e i n s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t 第 5 版 . (1 9 9 1) P u b l i c H e a l t h S e r v i c e , N a t i o n a l I n s t i t u t e s o f H e a l t h , B e t h e s d a , M D (その全体において参考として援用される) を参照のこと。

【 0 0 7 3 】

脊椎動物種に由来する軽鎖は、その定常ドメインの配列に基づいて 2 つのタイプ (カッパ () およびラムダ () といわれる) のうちの 1 つに割り当てられ得る。

【 0 0 7 4 】

任意の脊椎動物種に由来する重鎖は、5 つの異なるクラス (またはアイソタイプ) : I g A 、 I g D 、 I g E 、 I g G 、および I g M のうちの 1 つに割り当てられ得る。これ

10

20

30

40

50

らのクラスはまた、それぞれ、 κ 、 λ 、 μ 、および ν と示される。そのIgGおよびIgAクラスは、配列および機能における差異に基づいて、サブクラスへとさらに細かく分けられる。ヒトは、以下のサブクラスを発現する：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、およびIgA2。

【0075】

CDRのアミノ酸配列境界は、多くの公知の番号付けスキームのうちのいずれか（Kabatra, 前出（「Kabata」番号付けスキーム）；Al-Lazikaniら, 1997, J. Mol. Biol., 273:927-948（「Chothia」番号付けスキーム）；MacCallumら, 1996, J. Mol. Biol. 262:732-745（「Contact」番号付けスキーム）；Lefrancら, Dev. Comp. Immunol., 2003, 27:55-77（「IMGT」番号付けスキーム）；およびHonegger and Plueckthun, J. Mol. Biol., 2001, 309:657-70（「Aho」番号付けスキーム）（これらの各々はその全体において参考として援用される）によって記載されるものが挙げられる）を使用して、当業者によって決定され得る。

【0076】

表1は、KabataおよびChothiaスキームによって同定されるとおりのCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3の位置を提供する。CDR-H1に関しては、残基番号付けは、KabataおよびChothia両方の番号付けスキームを使用して提供される。

【0077】

CDRは、例えば、抗体番号付けソフトウェア（例えば、www.bioinf.org.uk/abs/abnum/において入手可能であり、Abhinandan and Martin, Immunology, 2008, 45:3832-3839（その全体において参考として援用される）に記載されるAbnum）を使用して割り当てられ得る。

【表1】

表1. KabatおよびChothia番号付けスキームに従うCDR中の残基

CDR	Kabat	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97
H1 (Kabat 番号付け)	H31-H35B	H26-H32 または H34*
H1 (Chothia 番号付け)	H31-H35	H26-H32
H2	H50-H65	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102

* CDR-H1のC末端は、Kabat番号付け規則を使用して番号付けした場合、そのCDRの長さに依存して、H32とH34との間で変動する。

【0078】

「EU番号付けスキーム（EU numbering scheme）」とは、抗体重鎖定常領域（例えば、Kabatra, 前出に報告されるとおり）中の残基に言及する場合に一般に使用される。別段述べられなければ、そのEU番号付けスキームは、本明細書で記載される抗体重鎖定常領域における残基に言及するために使用される。

【0079】

「抗体フラグメント」または「抗原結合フラグメント」は、無傷の抗体の一部（例えば、無傷の抗体の抗原結合領域または可変領域）を含む。抗体フラグメントとしては、例えば、Fvフラグメント、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、Fab'フラグメント、scFv(sFv)フラグメント、およびscFv-Fcフラグメントが挙げられる。

【0080】

「Fv」フラグメントは、1個の重鎖可変ドメインおよび1個の軽鎖可変ドメインの非共有結合的に連結されたダイマーを含む。

【0081】

「Fab」フラグメントは、重鎖および軽鎖可変ドメインに加えて、軽鎖の定常ドメインおよび重鎖の第1の定常ドメイン(C_{H1})を含む。Fabフラグメントは、例えば、組換え法によってまたは全長抗体のパパイン消化によって生成され得る。

【0082】

「F(ab')₂」フラグメントは、ヒンジ領域近辺で、ジスルフィド結合によって接続された2個のFab'フラグメントを含む。F(ab')₂フラグメントは、例えば、組換え法によって、または無傷の抗体のペプシン消化によって生成され得る。そのF(ab')フラグメントは、例えば、-メルカプトエタノールでの処理によって解離され得る。

【0083】

「1本鎖Fv(single-chain Fv)」または「sFv」または「scFv」抗体フラグメントは、単一ペプチド鎖中にV_HドメインおよびV_Lドメインを含む。そのV_HおよびV_Lは一般に、ペプチドリinkerによって連結される。Pluckthun A. (1994)を参照のこと。任意の適切なリンカーが使用され得る。いくつかの実施形態において、そのリンカーは、(GGGGS)_n(配列番号140)である。いくつかの実施形態において、n=1、2、3、4、5、または6である。Antibodies from Escherichia coli. In Rosenberg M. & Moore G. P. (編), The Pharmacology of Monoclonal Antibodies vol. 113 (pp. 269-315). Springer-Verlag, New York (その全体において参考として援用される)を参照のこと。

【0084】

「scFv-Fc」フラグメントは、Fcドメインに結合したscFvを含む。例えば、Fcドメインは、そのscFvのC末端に結合し得る。そのFcドメインは、scFv中の可変ドメインの配向(すなわち、V_H-V_LまたはV_L-V_H)に依存して、V_HまたはV_Lの後ろに続き得る。当該分野で公知であるかまたは本明細書で記載される任意の適切なFcドメインが、使用され得る。いくつかの場合には、そのFcドメインは、IgG4 Fcドメインを含む。

【0085】

用語「単ドメイン抗体(single domain antibody)」とは、抗体の1個の可変ドメインが他の可変ドメインの存在なしに抗原に特異的に結合する分子をいう。単ドメイン抗体およびそのフラグメントは、Arabi Ghahroudiら, FEBS Letters, 1998, 414:521-526およびMuylder mansら, Trends in Biochem. Sci., 2001, 26:230-245(これらの各々がその全体において参考として援用される)に記載される。単ドメイン抗体はまた、sdAbまたはナノボディとしても公知である。

【0086】

用語「モノクローナル抗体」とは、実質的に均質な抗体の集団に由来する抗体をいう。実質的に均質な抗体の集団は、そのモノクローナル抗体の生成の間に通常は生じ得るバリエーションを除いて、実質的に類似でありかつ同じエピトープ(複数可)に結合する抗体を含む。このようなバリエーションは概して、ごく微量に存在する。モノクローナル抗体は代表的には、複数の抗体から単一の抗体を選択することを含むプロセスによって得られる。例えば、その選択プロセスは、複数のクローン(例えば、ハイブリドーマクローン、ファージクローン、酵母クローン、細菌クローン、または他の組換えDNAクローンのプール)からのただ1つのクロンの選択であり得る。その選択された抗体は、例えば、標的に対する親和性を改善するために(「親和性成熟」)、その抗体をヒト化するために、細胞培養物でのその生成を改善するために、および/または被験体におけるその免疫原性を低減す

10

20

30

40

50

るために、さらに変更され得る。

【0087】

用語「キメラ抗体」とは、その重鎖および／または軽鎖の一部が特定の供給源または種に由来する一方で、その重鎖および／または軽鎖の残りが異なる供給源または種に由来する抗体をいう。

【0088】

非ヒト抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト抗体に由来する最小配列を含むキメラ抗体である。ヒト化抗体は一般に、ヒト抗体（レシピエント抗体）において1またはこれより多くのCDRに由来する残基が非ヒト抗体（ドナー抗体）の1またはこれより多くのCDRに由来する残基によって置き換えられているヒト抗体（レシピエント抗体）である。そのドナー抗体は、任意の適切な非ヒト抗体（例えば、所望の特異性、親和性、または生物学的効果を有するマウス、ラット、ウサギ、ニワトリ、または非ヒト霊長類の抗体）であり得る。場合によっては、そのレシピエント抗体の選択されたフレームワーク領域の残基が、ドナー抗体に由来するその相当するフレームワーク領域の残基によって置き換えられる。ヒト化抗体はそのレシピエント抗体またはそのドナー抗体のいずれにおいても見出されない残基を含むこともある。このような改変は、抗体機能をさらに洗練させるために行われ得る。さらなる詳細については、Jonesら、Nature、1986、321: 522-525; Riechmannら、Nature、1988、332: 323-329; およびPresta、Curr. Op. Struct. Biol., 1992、2: 593-596（これらの各々がその全体において参考として援用される）を参照のこと。

10

20

【0089】

「ヒト抗体」とは、ヒトもしくはヒト細胞によって生成されるか、またはヒト抗体レパートリーもしくはヒト抗体コード配列（例えば、ヒト供給源から得られるかまたは新たにデザインされる）を利用する非ヒト供給源に由来する抗体のアミノ酸配列に相当するアミノ酸配列を有する抗体である。ヒト抗体は、ヒト化抗体を具体的に排除する。

【0090】

「SEC10」とは、以前にベバシズマブありおよびなしでの固形腫瘍の処置に関する臨床試験における抗NRP-1抗体を意味する。例えば、「A Study of MNR P1685A in Patients with Locally Advanced or Metastatic Solid Tumors」, clinicaltrials.govの識別子NCT00747734を参照のこと。

30

【0091】

「SEC3」とは、配列番号144に示される（例えば、Appletonら、The EMBO Journal（2007）26、4902-4912にも記載される）汎抗NRP-1抗体を意味する。

【0092】

「MAB59941」とは、R&D Systems、クローン#761704から入手可能な抗マウスニューロピリン-1抗体を意味する。

【0093】

「単離されたABP (isolated ABP)」または「単離された核酸 (isolated nucleic acid)」は、その天然の環境の構成要素から分離および／または回収されているABPまたは核酸である。その天然の環境の構成要素としては、酵素、ホルモン、および他のタンパク質性または非タンパク質性の物質が挙げられ得る。いくつかの実施形態において、単離されたABPは、例えば、スピニングカップシーケンエーター (spinning cup sequenator) を使用することによって、N末端または内部のアミノ酸配列のうちの少なくとも15残基を得るために十分な程度まで精製される。いくつかの実施形態において、単離されたABPは、還元条件または非還元条件下でゲル電気泳動（例えば、SDS-PAGE）によって、クーマシー（登録商標）ブルー染色または銀染色による検出を用いて、均質になるまで精製される。いくつかの

40

50

実施形態において、単離された A B P は、その A B P の天然の環境の少なくとも 1 つの構成要素が存在しないので、組換え細胞内にインサイチュで A B P を含み得る。いくつかの局面において、単離された A B P または単離された核酸は、少なくとも 1 つの精製工程によって調製される。いくつかの実施形態において、単離された A B P または単離された核酸は、少なくとも 8 0 重量 %、8 5 重量 %、9 0 重量 %、9 5 重量 %、または 9 9 重量 % へと精製される。いくつかの実施形態において、単離された A B P または単離された核酸は、少なくとも 8 0 容積 %、8 5 容積 %、9 0 容積 %、9 5 容積 %、または 9 9 容積 % へと精製される。いくつかの実施形態において、単離された A B P または単離された核酸は、重量で少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 %、9 9 % ~ 1 0 0 % の A B P または核酸を含む溶液として提供される。いくつかの実施形態において、単離された A B P または単離された核酸は、容積で少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 %、9 9 % ~ 1 0 0 % の A B P または核酸を含む溶液として提供される。

10

【 0 0 9 4 】

「親和性 (a f f i n i t y) 」とは、分子 (例えば、A B P) の単一の結合部位とその結合パートナー (例えば、抗原またはエピトープ) との間の非共有結合的相互作用の合計の強さをいう。別段示されなければ、本明細書で使用される場合、「親和性」は、本質的な結合親和性であって、結合対 (例えば、A B P および抗原またはエピトープ) のメンバー間の 1 : 1 の相互作用を反映するものをいう。分子 X の、そのパートナー Y に対する親和性は、解離平衡定数 (K_D) によって表され得る。その解離平衡定数に寄与する動力学的構成要素は、以下でより詳細に記載される。親和性は、当該分野で公知の一般的方法 (本明細書に記載されるもの (例えば、表面プラズモン共鳴 (S P R) 技術 (例えば、B I A C O R E (登録商標)) またはバイオレイヤー干渉法 (例えば、F O R T E B I O (登録商標))) が挙げられる) によって測定され得る。

20

【 0 0 9 5 】

標的分子への A B P の結合に関して、特定の抗原 (例えば、ポリペプチド標的) または特定の抗原上のエピトープに、用語「結合する」、「特異的結合」、「に特異的に結合する」、「に対して特異的」、「選択的に結合する」および「に対して選択的」とは、非特異的または非選択的な相互作用 (例えば、非標的分子との) とは、測定可能に異なる結合を意味する。特異的結合は、例えば、標的分子への結合を測定し、これと非標的分子への結合とを比較することによって測定され得る。特異的結合はまた、その標的分子上で認識されるエピトープを模倣するコントロール分子との競合によって決定され得る。その場合、特異的結合は、その標的分子への A B P の結合がそのコントロール分子によって競合的に阻害される場合に示される。いくつかの局面において、非標的分子に対する N R P - 1 A B P の親和性は、N R P - 1 に対する親和性の約 5 0 % 未満である。いくつかの局面において、非標的分子に対する N R P - 1 A B P の親和性は、N R P - 1 に対する親和性の約 4 0 % 未満である。いくつかの局面において、非標的分子に対する N R P - 1 A B P の親和性は、N R P - 1 に対する親和性の約 3 0 % 未満である。いくつかの局面において、非標的分子に対する N R P - 1 A B P の親和性は、N R P - 1 に対する親和性の約 2 0 % 未満である。いくつかの局面において、非標的分子に対する N R P - 1 A B P の親和性は、N R P - 1 に対する親和性の約 1 0 % 未満である。いくつかの局面において、非標的分子に対する N R P - 1 A B P の親和性は、N R P - 1 に対する親和性の約 1 % 未満である。いくつかの局面において、非標的分子に対する N R P - 1 A B P の親和性は、N R P - 1 に対する親和性の約 0 . 1 % 未満である。

30

40

【 0 0 9 6 】

用語「 k_d 」($s e c^{-1}$) とは、本明細書で使用される場合、特定の A B P - 抗原相互作用の解離速度定数をいう。その値はまた、 k_{off} 値ともいわれる。

【 0 0 9 7 】

用語「 k_a 」($M^{-1} \times s e c^{-1}$) とは、本明細書で使用される場合、特定の A B P - 抗原相互作用の会合速度定数をいう。この値は、 k_{on} 値ともいわれる。

【 0 0 9 8 】

50

用語「 K_D 」(M)とは、本明細書で使用される場合、特定のABP-抗原相互作用の解離平衡定数をいう。 $K_D = k_d / k_a$ 。いくつかの実施形態において、ABPの親和性は、このようなABPとその抗原との間の相互作用に関する K_D の点から記載される。明確性のために、当該分野で公知のように、 K_D 値が小さいほど、より高い親和性相互作用が示されると同時に、 K_D 値が大きいほど、より低い親和性相互作用が示される。

【0099】

用語「 K_A 」(M^{-1})とは、本明細書で使用される場合、特定のABP-抗原相互作用の会合平衡定数をいう。 $K_A = k_a / k_d$ 。

【0100】

「親和性成熟された (affinity matured)」ABPは、親ABP (すなわち、変更したABPが由来するかもしくはデザインされるABP) に対して、ABPの、その抗原に対する親和性における改善を生じる1またはこれより多くの変更 (例えば、1またはこれより多くのCDRまたはFRにおける) を有しない親ABPと比較して、変更を有するものである。いくつかの実施形態において、親和性成熟されたABPは、その標的抗原に対してナノモル濃度またはピコモル濃度の親和性を有する。親和性成熟されたABPは、当該分野で公知の種々の方法を使用して生成され得る。例えば、Marksら (Bio/Technology, 1992, 10:779-783 (その全体において参考として援用される)) は、 V_H および V_L ドメインシャフリングによる親和性成熟を記載する。CDRおよび/またはフレームワーク残基のランダム変異誘発は、例えば、Barbasら (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 1994, 91:3809-3813); Schierら, Gene, 1995, 169:147-155; Yeltonら, J. Immunol., 1995, 155:1994-2004; Jacksonら, J. Immunol., 1995, 154:3310-33199; およびHawkinsら, J. Mol. Biol., 1992, 226:889-896 (これらの各々はその全体において参考として援用される) によって記載される。

【0101】

「免疫結合体 (immun conjugate)」とは、1またはこれより多くの異種分子 (例えば、治療剤または診断剤) に結合体化されたABPである。

【0102】

「エフェクター機能」とは、抗体のFc領域によって媒介されるそれら生物学的活性であって、その活性が、抗体アイソタイプに依存して変動し得るものをいう。抗体エフェクター機能の例としては、補体依存性細胞傷害性 (CDC) を活性化するC1q結合、抗体依存性細胞傷害性 (ADCC) を活性化するFcレセプター結合、および抗体依存性細胞性ファゴサイトーシス (ADCP) が挙げられる。

【0103】

2またはこれより多くのABPの文脈において本明細書で使用される場合、用語「と競合する (competes with)」または「と交差競合する (cross-competes with)」とは、その2またはこれより多くのABPが、抗原 (例えば、NRP-1) への結合に関して競合することを示す。1つの例示的アッセイでは、NRP-1は、表面に被覆され、第1のNRP-1 ABPと接触され、その後、第2のNRP-1 ABPが添加される。別の例示的アッセイでは、第1のNRP-1 ABPは、表面に被覆され、NRP-1と接触され、次いで、第2のNRP-1 ABPが添加される。その第1のNRP-1 ABPの存在が、いずれのアッセイにおいてもその第2のNRP-1 ABPの結合を低減する場合、それらABPは互いと競合する。用語「と競合する」はまた、一方のABPがもう一方のABPの結合を低減するが、これらABPが逆の順序で添加される場合には競合が観察されないABPの組み合わせを含む。しかし、いくつかの実施形態において、その第1のおよび第2のABPは、これらの添加される順序に関係なく、互いの結合を阻害する。いくつかの実施形態において、一方のABPは、その抗原へのもう一方のABPの結合を、少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも

10

20

30

40

50

60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%または少なくとも95%低減する。当業者は、NRP-1に対するそのABPの親和性およびそのABPの結合価に基づいて、その競合アッセイにおいて使用される抗体の濃度を選択し得る。この定義に記載されるアッセイは例証であり、当業者は、抗体が互いと競合するか否かを決定するために、任意の適切なアッセイを利用し得る。適切なアッセイは、例えば、Coxら、「Immunoassay Methods」, in Assay Guidance Manual [インターネット]、2014年12月24日に更新(www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92434/; 2015年9月29日にアクセスした); Silmanら, Cytometry, 2001, 44:30-37; および Fincoら, J. Pharm. Biomed. Anal., 2011, 54:351-358 (これらの各々は、その全体において参考として援用される)に記載される。

【0104】

用語「エピトープ」とは、ABPに特異的に結合する抗原の一部を意味する。エピトープは、頻繁には、表面にアクセス可能なアミノ酸残基および/または糖側鎖からなり、特定の三次元構造的特性ならびに特定の電荷特性を有し得る。立体配座エピトープおよび非立体配座エピトープは、前者(後者ではない)への結合が、変性溶媒の存在下で失われ得るという点で区別される。エピトープは、結合に直接関与するアミノ酸残基、およびその結合には直接関与しない他のアミノ酸残基を含み得る。ABPが結合するエピトープは、エピトープ決定のための公知の技術(例えば、異なる点変異を有するNRP-1バリエーションへの、またはキメラNRP-1バリエーションへのABP結合を試験することなど)を使用して決定され得る。

【0105】

ポリペプチド配列と参照配列との間のパーセント「同一性」は、それら配列を整列させ、必要であればギャップを導入して、最大のパーセント配列同一性を達成した後に、その参照配列中のアミノ酸残基と同一であるそのポリペプチド配列中のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的でのアラインメントは、当該分野の技術範囲内である種々の方法において(例えば、公に入手可能なコンピュータソフトウェア(例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、MEGALIGN(DNASTAR)、CLUSTALW、CLUSTAL OMEGA、またはMUSCLEソフトウェア)を使用して)達成され得る。当業者は、比較されている配列の全長に対して最大のアラインメントを達成するために必要とされる任意のアルゴリズムを含む、配列をアラインするために適したパラメーターを決定し得る。

【0106】

「保存的置換」または「保存的アミノ酸置換」とは、あるアミノ酸を化学的にまたは機能的に類似のアミノ酸で置換することをいう。類似のアミノ酸を提供する保存的置換表は、当該分野で周知である。例示によれば、表2~4に提供されるアミノ酸の群は、いくつかの実施形態において、互いに対して保存的置換と見做される。

【表2】

表2. ある種の実施形態において、互いに対して保存的置換と見做されるアミノ酸の選択された群

酸性残基	DおよびE
塩基性残基	K、R、およびH
親水性非荷電残基	S、T、N、およびQ
脂肪族非荷電残基	G、A、V、L、およびI
非極性非荷電残基	C、M、およびP
芳香族残基	F、Y、およびW

10

20

30

40

50

【表 3】

表3. ある種の実施形態において、互いに対して保存的置換と見做されるアミノ酸のさらなる選択された群

群1	A、S、およびT
群2	DおよびE
群3	NおよびQ
群4	RおよびK
群5	I、L、およびM
群6	F、Y、およびW

【表 4】

表4. ある種の実施形態において、互いに対して保存的置換と見做されるアミノ酸のさらに選択された群

群A	AおよびG
群B	DおよびE
群C	NおよびQ
群D	R、K、およびH
群E	I、L、M、V
群F	F、Y、およびW
群G	SおよびT
群H	CおよびM

【0107】

さらなる保存的置換は、例えば、Creighton, Proteins: Structures and Molecular Properties 第2版。(1993) W. H. Freeman & Co., New York, NYにおいて見出され得る。親ABPにおいてアミノ酸残基の1またはこれより多くの保存的置換を作製することによって生成されるABPは、「保存的に改変されたバリエーション」といわれる。

【0108】

用語「アミノ酸」とは、20個の一般的な天然に存在するアミノ酸をいう。天然に存在するアミノ酸としては、アラニン(Ala; A)、アルギニン(Arg; R)、アスパラギン(Asn; N)、アスパラギン酸(Asp; D)、システイン(Cys; C)、グルタミン酸(Glu; E)、グルタミン(Gln; Q)、グリシン(Gly; G)、ヒスチジン(His; H)、イソロイシン(Ile; I)、ロイシン(Leu; L)、リジン(Lys; K)、メチオニン(Met; M)、フェニルアラニン(Phe; F)、プロリン(Pro; P)、セリン(Ser; S)、スレオニン(Thr; T)、トリプトファン(Trp; W)、チロシン(Tyr; Y)、およびバリン(Val; V)が挙げられる。

【0109】

用語「ベクター」とは、本明細書で使用される場合、ある核酸分子が連結される別の核酸分子を増殖し(propagating)得るその核酸分子をいう。その用語は、自己複製核酸構造としてのベクターならびにベクターが中に導入される宿主細胞のゲノムへと組み込まれるベクターを含む。ある種のベクターは、そのベクターが作動可能に連結される核酸の発現を指向し得る。このようなベクターは、本明細書で「発現ベクター」といわれる。

【0110】

用語「宿主細胞(host cell)」、「宿主細胞株(host cell line)」、および「宿主細胞培養物(host cell culture)」とは、交換可能に使用され、外因性核酸が中に導入されている細胞、およびそのような細胞の子孫をいう。宿主細胞は、「形質転換体(transformant)」（または「形質転換された細胞(transformed cell)）」および「トランスフェクタント(transfectant)」（または「トランスフェクトされた細胞(transfected cell)）」を含み、これらは各々、初代の形質転換されたまたはトランスフェクトされた細胞およびこれらに由来する子孫を含む。このような子孫は、核酸含有物が親

細胞と完全に同一でなくてもよく、変異を含んでいてもよい。

【0111】

用語「処置する (treating)」(およびそのバリエーション(例えば、「処置する (treat)」または「処置」)は、疾患または状態の自然経過を変更する必要性のある被験体において疾患または状態の自然経過を変更しようとする試みにおける臨床介入をいう。処置は、予防のために、および臨床病変の過程の間の両方で行われ得る。処置の望ましい効果としては、疾患の発生または再発の防止、症状の緩和、その疾患の任意の直接的または間接的な病的結果の減少、転移の防止、疾患進行速度の減少、その疾患状態の改善または軽減、および寛解または改善された予後が挙げられる。

【0112】

本明細書で使用される場合、用語「治療上有効な量」または「有効量」とは、被験体に投与された場合に、疾患または障害を処置するために有効である本明細書で提供される A B P または薬学的組成物の量をいう。

【0113】

本明細書で使用される場合、用語「被験体 (subject)」とは、哺乳動物被験体を意味する。例示的な被験体としては、ヒト、サル、イヌ、ネコ、マウス、ラット、ウシ、ウマ、ラクダ、ヤギ、ウサギ、およびヒツジが挙げられる。ある種の実施形態において、その被験体はヒトである。いくつかの実施形態において、その被験体は、本明細書で提供される A B P で処置され得る疾患または状態を有する。いくつかの局面において、その疾患または状態はがんである。いくつかの局面において、その疾患または状態はウイルス感染である。

【0114】

用語「添付文書 (package insert)」とは、治療用または診断用の製品(例えば、キット)の使用に関する適応症、使用法、投与量、投与、併用療法、禁忌および/または警告に関する情報を含む、このような治療用または診断用の製品の市販のパッケージに慣習的に含まれる指示に言及するために使用される。

【0115】

用語「細胞傷害性薬剤 (cytotoxic agent)」とは、本明細書で使用される場合、細胞機能を阻害もしくは防止するおよび/または細胞死もしくは破壊を引き起こす物質をいう。

【0116】

「化学療法剤」とは、がんの処置において有用な化合物をいう。化学療法剤としては、がんの成長を促進し得るホルモンの効果を調節、低減、遮断、または阻害するように作用する「抗ホルモン剤」または「内分泌治療剤」が挙げられる。

【0117】

用語「細胞増殖抑制剤」とは、インビトロまたはインビボのいずれかで細胞の成長を停止させる化合物または組成物をいう。いくつかの実施形態において、細胞増殖抑制剤は、S 期にある細胞のパーセンテージを低減する薬剤である。いくつかの実施形態において、細胞増殖抑制剤は、S 期にある細胞のパーセンテージを、少なくとも約 20 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 60 %、または少なくとも約 80 % 低減する。

【0118】

用語「腫瘍 (tumor)」とは、悪性であろうが、良性であろうが、全ての新生物細胞の成長および増殖、ならびに全ての前がん性およびがん性の細胞および組織に言及する。用語「がん (cancer)」、「がん性 (cancerous)」、「細胞増殖性障害 (cell proliferative disorder)」、「増殖性障害 (proliferative disorder)」および「腫瘍」は、本明細書で言及されるように相互に排他的ではない。用語「細胞増殖性障害」および「増殖性障害」は、ある程度の異常な細胞増殖と関連する障害をいう。いくつかの実施形態において、その細胞増殖性障害はがんである。いくつかの局面において、その腫瘍は固形腫瘍である。いくつかの局面において、その腫瘍は血液悪性腫瘍である。

10

20

30

40

50

【0119】

用語「薬学的組成物 (pharmaceutical composition)」とは、その中に含まれる活性成分の生物学的活性が被験体を処置するにあたって有効であることを可能にするような形態にあり、かつその薬学的組成物において提供される量においてその被験体に許容不能に毒性であるさらなる構成要素を含まない調製物に言及する。

【0120】

用語「調整する (modulate)」および「調整 (modulation)」とは、記載される変数を低減もしくは阻害する、または代わりに活性化もしくは増大させることに言及する。

【0121】

用語「増大させる (increase)」および「活性化する (activate)」とは、記載される変数において10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、またはこれより多くの増大に言及する。

【0122】

用語「低減する (reduce)」および「阻害する (inhibit)」とは、記載される変数において10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、またはこれより多くの減少に言及する。

【0123】

用語「アゴナイズする (agonize)」とは、レセプターの活性化と関連する生物学的応答を誘導する、レセプターシグナル伝達の活性化をいう。「アゴニスト (agonist)」とは、レセプターに結合しかつアゴナイズする実体である。

【0124】

用語「アンタゴナイズする (antagonize)」とは、レセプターの活性化と関連する生物学的応答を阻害する、レセプターシグナル伝達の阻害をいう。「アンタゴニスト (antagonist)」とは、レセプターに結合しかつアンタゴナイズする実体である。アンタゴニストは、一実施形態において、そのレセプターへのリガンドの結合の100%を遮断する；他の実施形態において、アンタゴニストは、そのレセプターへのリガンドの結合の1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%、結合を低減し得る。

【0125】

用語「セマフォリン分子 (semaphorin molecule)」とは、TregのNRP-1：セマフォリン軸のアゴニストとの関連において本明細書で使用される場合、Treg上でのNRP-1との相互作用に關与する膜貫通セマフォリン分子（例えば、Sema3a、Sema4a）、このような分子の種々の表面固定化およびビーズ固定化バージョン、ならびにTregの機能を増強するかまたは安定性を増大させるために使用され得るこのような分子のマルチマー、誘導體、変異体、アナログおよびフラグメントを包含する。このようなアゴニストセマフォリン分子の非限定的な例としては、例えば、NRP-1を架橋する、補体を固定できないマルチマー複合体をアセンブリするIgM由来セマフォリン融合タンパク質が挙げられる。

【0126】

用語「調節性T細胞 (Treg) のニューロピリン-1 (NRP-1)：セマフォリン軸 (neuropilin-1 (NRP-1)：semaphorin axis of a regulatory T cell (Treg))」とは、本明細書で使用される場合、セマフォリン（例えば、細胞（例えば、従来のT細胞のような細胞）によって発現されるセマフォリン、または組換えセマフォリン）によって開始されるシグナル伝達経路、NRP-1の連結、およびその後の下流のシグナル伝達に言及する。

10

20

30

40

50

【0127】

用語「エフェクターT細胞」とは、Tヘルパー（すなわち、CD4+）細胞および細胞傷害性（すなわち、CD8+）T細胞を含む。CD4+エフェクターT細胞は、いくつかの免疫プロセス（形質細胞およびメモリーB細胞へのB細胞の成熟、ならびに細胞傷害性T細胞およびマクロファージの活性化が挙げられる）の発達に寄与する。CD8+エフェクターT細胞は、ウイルス感染細胞および腫瘍細胞を破壊する。エフェクターT細胞に関するさらなる情報については、Seder and Ahmed, Nature Immunol., 2003, 4: 835 - 842（その全体において参考として援用される）を参照のこと。

【0128】

用語「調節性T細胞」とは、例えば、エフェクターT細胞を抑制することによって、免疫寛容を調節する細胞を含む。いくつかの局面において、その調節性T細胞は、CD4+CD25+Foxp3+表現型を有する。いくつかの局面において、その調節性T細胞は、CD8+CD25+表現型を有する。NRP-1を発現する調節性T細胞に関するさらなる情報については、Nocentiniら, Br. J. Pharmacol., 2012, 165: 2089 - 2099（その全体において参考として援用される）を参照のこと。

【0129】

用語「樹状細胞」とは、ナイーブT細胞を活性化しかつB細胞の成長および分化を刺激し得る専門の抗原提示細胞をいう。

【0130】

2. NRP-1抗原結合タンパク質

2.1 NRP-1結合および標的細胞

NRP-1に特異的に結合するABPが本明細書で提供される。いくつかの局面において、そのNRP-1は、hNRP-1（配列番号130）である。いくつかの局面において、そのNRP-1は、cNRP-1（配列番号132）である。いくつかの局面において、そのNRP-1は、配列番号134に提供される配列を有するmNRP-1である。いくつかの局面において、そのNRP-1は、配列番号135に提供される配列を有するrNRP-1である。

【0131】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPは、NRP-1の細胞外ドメインに特異的に結合する。

【0132】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPは、NRP-1の細胞外ドメインおよびPD-1の細胞外ドメイン、PD-L1、またはPD-L2に特異的に結合する、すなわち、二重特異的抗体である。

【0133】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPは抗体である。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPは抗体フラグメントである。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPは代替の足場である。

【0134】

そのNRP-1は、任意の適切な標的細胞の表面上に発現され得る。いくつかの実施形態において、その標的細胞はT細胞である。いくつかの実施形態において、その標的細胞はエフェクターT細胞である。いくつかの実施形態において、その標的細胞は調節性T細胞である。いくつかの実施形態において、その標的細胞はナチュラルキラー（NK）細胞である。いくつかの実施形態において、その標的細胞はナチュラルキラーT（NKT）細胞である。いくつかの実施形態において、その標的細胞はマクロファージである。他の実施形態において、その標的細胞は樹状細胞である。一実施形態において、その樹状細胞はプラズマ細胞様樹状細胞である。

【0135】

いくつかの実施形態において、そのN R P - 1は、その細胞の表面上の別のレセプターと会合する。いくつかの実施形態において、そのN R P - 1は、共レセプター複合体の一部である。一実施形態において、そのN R P - 1は、プレキシシンと会合する。いくつかの実施形態において、そのN R P - 1は、V E G Fレセプターと会合する。

【0136】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるA B Pは、免疫グロブリン分子を含む。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるA B Pは、免疫グロブリン分子からなる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるA B Pは、免疫グロブリン分子から本質的になる。いくつかの局面において、その免疫グロブリン分子は、抗体を含む。いくつかの局面において、その免疫グロブリン分子は、抗体からなる。いくつかの局面において、その免疫グロブリン分子は、抗体から本質的になる。

10

【0137】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるA B Pは、軽鎖を含む。いくつかの局面において、その軽鎖はカップ軽鎖である。いくつかの局面において、その軽鎖はラムダ軽鎖である。

【0138】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるA B Pは、重鎖を含む。いくつかの局面において、その重鎖はI g Aである。いくつかの局面において、その重鎖はI g Dである。いくつかの局面において、その重鎖はI g Eである。いくつかの局面において、その重鎖はI g Gである。いくつかの局面において、その重鎖はI g Mである。いくつかの局面において、その重鎖はI g G 1である。いくつかの局面において、その重鎖はI g G 2である。いくつかの局面において、その重鎖はI g G 3である。いくつかの局面において、その重鎖はI g G 4である。いくつかの局面において、その重鎖はI g A 1である。いくつかの局面において、その重鎖はI g A 2である。

20

【0139】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるA B Pは抗体フラグメントを含む。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるA B Pは抗体フラグメントからなる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるA B Pは抗体フラグメントから本質的になる。いくつかの局面において、その抗体フラグメントはF vフラグメントである。いくつかの局面において、その抗体フラグメントはF a bフラグメントである。いくつかの局面において、その抗体フラグメントはF (a b ')₂フラグメントである。いくつかの局面において、その抗体フラグメントはF a b ' フラグメントである。いくつかの局面において、その抗体フラグメントはs c F v (s F v) フラグメントである。いくつかの局面において、その抗体フラグメントはs c F v - F cフラグメントである。いくつかの局面において、その抗体フラグメントは単ドメイン抗体のフラグメントである。

30

【0140】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される抗体フラグメントは、本明細書で提供される例証的抗体に由来する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される抗体フラグメントは、本明細書で提供される例証的抗体に由来せず、例えば、抗体フラグメントを得るために本明細書で提供される方法に従って新規に単離されてもよい。

40

【0141】

いくつかの実施形態において、提供される抗体フラグメントは、h N R P - 1に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される抗体フラグメントは、c N R P - 1に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される抗体フラグメントは、m N R P - 1に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される抗体フラグメントは、h N R P - 1およびc N R P - 1に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される抗体フラグメントは、h N R P - 1およびm N R P - 1に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される抗体フラグメントは、c N R P - 1およびm N R P - 1に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される抗体フラグメントは、h N R

50

P - 1、c N R P - 1 および m N R P - 1 に特異的に結合する。

【 0 1 4 2 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される抗体フラグメントは、本明細書で記載される 1 もしくはこれより多くのアッセイまたは生物学的効果によって測定される場合、N R P - 1 をアンタゴナイズする能力を保持する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される抗体フラグメントは、本明細書で記載されるように、N R P - 1 を、そのリガンドのうちの 1 またはこれより多くとの相互作用から防止する能力を保持する。

【 0 1 4 3 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される抗体フラグメントは、N R P - 1 への結合に関して、M A B 1、M A B 2、M A B 3、M A B 4、M A B 5、M A B 6、M A B 7、M A B 8、M A B 9、M A B 10、M A B 11、M A B 12、M A B 13、M A B 14、または M A B 15 から選択される抗体（各々、本開示の付表 A に提供されるとおり）と競合する。

10

【 0 1 4 4 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、細胞表面 N R P - 1 に対して特異的である。

【 0 1 4 5 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、膜貫通セマフォリンポリペプチドへの N R P - 1 結合を特異的に遮断する。

【 0 1 4 6 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、N R P - 1 ポリペプチドと血管内皮細胞増殖因子（V E G F）ポリペプチドとの間の相互作用を遮断する。一実施形態において、その V E G F ポリペプチドは V E G F A である。

20

【 0 1 4 7 】

いくつかの実施形態において、その抗 N R P - 1 抗体は S E M A 3 結合を遮断する。

【 0 1 4 8 】

いくつかの実施形態において、その抗 N R P - 1 抗体は、S E M A 4 結合を遮断する。

【 0 1 4 9 】

いくつかの実施形態において、その抗体は、N R P - 1 ポリペプチドと S E M A 3 との間の相互作用を遮断する。

30

【 0 1 5 0 】

いくつかの実施形態において、その抗体は、N R P - 1 ポリペプチドと V E G F との間の相互作用を遮断する。

【 0 1 5 1 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、ヒト被験体における T r e g 抑制を阻害し得る。

【 0 1 5 2 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、抗原提示細胞からの抗原提示と組み合わせてエフェクター T 細胞を共刺激する。

【 0 1 5 3 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、調節性 T 細胞によるエフェクター T 細胞の抑制を阻害する。

40

【 0 1 5 4 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、組織中または全身循環中のエフェクター T 細胞の数を低減する。

【 0 1 5 5 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される抗体のフラグメントは、このような抗体と同じ N R P - 1 のエピトープに結合する。

【 0 1 5 6 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、モノクローナル抗体で

50

ある。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、ポリクローナル抗体である。

【 0 1 5 7 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P はキメラ抗体を含む。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P はキメラ抗体からなる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P はキメラ抗体から本質的になる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P はヒト化抗体を含む。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P はヒト化抗体からなる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P はヒト化抗体から本質的になる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P はヒト抗体を含む。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P はヒト抗体からなる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P はヒト抗体から本質的になる。

10

【 0 1 5 8 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、親和性成熟される。いくつかの局面において、親和性成熟された A B P は、本明細書で提供される例証的 A B P に由来する、親和性成熟された A B P である。

【 0 1 5 9 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は代替の足場を含む。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は代替の足場からなる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は代替の足場から本質的になる。任意の適切な代替の足場が使用され得る。いくつかの局面において、その代替の足場は、A d n e c t i n ^{T M}、i M a b、A n t i c a l i n（登録商標）、E E T I - I I / A G R P、K u n i t z ドメイン、チオレドキシンペプチドアプタマー、A f f i b o d y（登録商標）、D A R P i n、A f f i l i n、T e t r a n e c t i n、F y n o m e r、および A v i m e r から選択される。

20

【 0 1 6 0 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、膜貫通セマフォリンポリペプチドへの N R P - 1 の結合を特異的に遮断する。いくつかの局面において、その A B P は、膜貫通セマフォリンポリペプチドへの N R P - 1 の結合を、少なくとも約 5 0 % 阻害する。いくつかの局面において、その A B P は、膜貫通セマフォリンポリペプチドへの N R P - 1 の結合を、少なくとも約 7 5 % 阻害する。いくつかの局面において、その A B P は、膜貫通セマフォリンポリペプチドへの N R P - 1 の結合を、少なくとも約 9 0 % 阻害する。いくつかの局面において、その A B P は、膜貫通セマフォリンポリペプチドへの N R P - 1 の結合を、少なくとも約 9 5 % 阻害する。いくつかの実施形態において、そのセマフォリンポリペプチドは、S E M A 3 ポリペプチドである。他の実施形態において、そのセマフォリンポリペプチドは、S E M A 4 ポリペプチドである。

30

【 0 1 6 1 】

いくつかの実施形態において、本発明の A B P は、本明細書で提供される例証的 A B P と競合する A B P である。いくつかの局面において、本明細書で提供される例証的 A B P と競合する A B P は、本明細書で提供される例証的 A B P と同じエピトープに結合する。

40

【 0 1 6 2 】

抗体が細胞において発現される場合に、その抗体が翻訳後に修飾されることは、公知である。その翻訳後修飾の例としては、カルボキシペプチダーゼによる重鎖の C 末端でのリジンの切断；ピログルタミル化によるピログルタミン酸への重鎖および軽鎖の N 末端でのグルタミンまたはグルタミン酸の改変；グリコシル化；酸化；脱アミド化；および糖化が挙げられ、このような翻訳後修飾が種々の抗体で起こることは、公知である（J o u r n a l o f P h a r m a c e u t i c a l S c i e n c e s , 2 0 0 8 , V o l . 9 7 , p . 2 4 2 6 - 2 4 4 7（その全体において参考として援用される）を参照のこと）。いくつかの実施形態において、本発明の A B P は、翻訳後修飾を受けた抗体またはその抗原結合フラグメントである。翻訳後修飾を受けた抗体またはその抗原結合フラグメ

50

ントの例としては、重鎖可変領域のN末端においてピログルタミル化、軽鎖可変領域のN末端においてピログルタミル化および/または重鎖のC末端においてリジンの欠失を受けた抗体またはその抗原結合フラグメントが挙げられる。N末端でのピログルタミル化およびC末端でのリジンの欠失に起因するこのような翻訳後修飾が、その抗体またはそのフラグメントの活性に何ら影響を及ぼさないことは、当該分野で公知である (Analytical Biochemistry, 2006, Vol. 348, p. 24-39 (その全体において参考として援用される))。

【0163】

いくつかの実施形態において、本発明のABPは、配列番号47からなるCDR-H3、配列番号30からなるCDR-H2、および配列番号14からなるCDR-H1を含む重鎖可変領域；ならびに配列番号81からなるCDR-L3、配列番号71からなるCDR-L2、および配列番号63からなるCDR-L1を含む軽鎖可変領域を含む、抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントである。

10

【0164】

一実施形態において、その抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号96からなる重鎖可変領域および配列番号104からなる軽鎖可変領域を含む。

【0165】

一実施形態において、その抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントは、アミノ酸番号1のEがピログルタミン酸に改変される配列番号96からなる重鎖可変領域、および配列番号104からなる軽鎖可変領域を含む。

20

【0166】

一実施形態において、その抗ヒトNRP-1抗体は、配列番号118からなる重鎖および配列番号126からなる軽鎖を含む。

【0167】

一実施形態において、その抗ヒトNRP-1抗体は、アミノ酸番号1のEがピログルタミン酸に改変される配列番号118からなる重鎖、および配列番号126からなる軽鎖を含む。

【0168】

一実施形態において、上記抗ヒトNRP-1抗体は、配列番号118のアミノ酸番号1~453のアミノ酸配列からなる重鎖、および配列番号126からなる軽鎖を含む。

30

【0169】

一実施形態において、その抗ヒトNRP-1抗体は、アミノ酸番号1のEがピログルタミン酸に改変される配列番号118のアミノ酸番号1~453のアミノ酸配列からなる重鎖、および配列番号126からなる軽鎖を含む。

【0170】

2.2 NRP-1アンタゴニズム

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPは、結合の際にNRP-1をアンタゴナイズする。

【0171】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPによるNRP-1のアンタゴニズムは、エフェクターT細胞の活性化を生じる。いくつかの局面において、そのエフェクターT細胞はCD8+ T細胞である。いくつかの局面において、そのエフェクターT細胞はCD4+ T細胞である。

40

【0172】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPによるNRP-1のアンタゴニズムは、NK細胞の活性化を生じる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPによるNRP-1のアンタゴニズムは、NKT細胞の活性化を生じる。いくつかの実施形態において、そのNKT細胞は、IL-17分泌細胞である。

【0173】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPによるNRP-1のアンタ

50

ゴニズムは、エフェクター T 細胞に向かう調節性 T 細胞の阻害活性の低減を生じる。

【 0 1 7 4 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P による N R P - 1 のアンタゴニズムは、標的細胞による、I L - 2、I L - 6、G M - C S F、T N F、L T - 、および / または I F N - の増大した分泌を生じる。

【 0 1 7 5 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P による N R P - 1 のアンタゴニズムは、エフェクター T 細胞の増殖、生存、および / または機能を増大させる。いくつかの局面において、そのエフェクター T 細胞は C D 4 + エフェクター T 細胞である。いくつかの局面において、そのエフェクター T 細胞は C D 8 + エフェクター T 細胞である。

10

【 0 1 7 6 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P による N R P - 1 のアンタゴニズムは、調節性 T 細胞によるエフェクター T 細胞の抑制を抑止する。いくつかの局面において、その調節性 T 細胞は C D 4 + C D 2 5 + F o x p 3 + 調節性 T 細胞である。いくつかの局面において、その調節性 T 細胞は C D 8 + C D 2 5 + 調節性 T 細胞である。

【 0 1 7 7 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P による N R P - 1 のアンタゴニズムは、免疫応答の増強を生じる。

【 0 1 7 8 】

20

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P による N R P - 1 のアンタゴニズムは、腫瘍の防止を生じる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P による N R P - 1 のアンタゴニズムは、腫瘍の発生の遅延を生じる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P による N R P - 1 のアンタゴニズムは、腫瘍のサイズの縮小を生じる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P による N R P - 1 のアンタゴニズムは、腫瘍の排除を生じる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P による N R P - 1 のアンタゴニズムは、転移の数の低減を生じる。

【 0 1 7 9 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P による N R P - 1 のアンタゴニズムは、ウイルス疾患の防止を生じる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P による N R P - 1 のアンタゴニズムは、ウイルス疾患の発生の遅延を生じる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P による N R P - 1 のアンタゴニズムは、被験体におけるウイルス負荷の低減を生じる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P による N R P - 1 のアンタゴニズムは、ウイルス感染の排除を生じる。

30

【 0 1 8 0 】

2. 3 N R P - 1 に対する抗原結合タンパク質の親和性および動態 ; 効力

いくつかの実施形態において、K_Dによって示されるとおりの N R P - 1 に対する本明細書で提供される A B P の親和性は、約 1 0⁻⁵ M 未満、約 1 0⁻⁶ M 未満、約 1 0⁻⁷ M 未満、約 1 0⁻⁸ M 未満、約 1 0⁻⁹ M 未満、約 1 0⁻¹⁰ M 未満、約 1 0⁻¹¹ M 未満、または約 1 0⁻¹² M 未満である。いくつかの実施形態において、その A B P の親和性は、約 1 0⁻⁷ M ~ 1 0⁻¹² M の間である。いくつかの実施形態において、その A B P の親和性は、約 1 0⁻⁷ M ~ 1 0⁻¹¹ M の間である。いくつかの実施形態において、その A B P の親和性は、約 1 0⁻⁷ M ~ 1 0⁻¹⁰ M の間である。いくつかの実施形態において、その A B P の親和性は、約 1 0⁻⁷ M ~ 1 0⁻⁹ M の間である。いくつかの実施形態において、その A B P の親和性は、約 1 0⁻⁷ M ~ 1 0⁻⁸ M の間である。いくつかの実施形態において、その A B P の親和性は、約 1 0⁻⁸ M ~ 1 0⁻¹² M の間である。いくつかの実施形態において、その A B P の親和性は、約 1 0⁻⁸ M ~ 1 0⁻¹¹ M の間である。いくつかの実施形態において、その A B P の親和性は、約 1 0⁻⁹ M ~ 1 0⁻¹¹ M の間である。いくつか

40

50

かの実施形態において、その A B P の親和性は、約 $10^{-10} \text{ M} \sim 10^{-11} \text{ M}$ の間である。

【 0 1 8 1 】

2 . 3 . 1 グリコシル化バリエーション

ある種の実施形態において、本明細書で提供される A B P は、この A B P がグリコシル化される程度を増加、減少または排除するために変更され得る。ポリペプチドのグリコシル化は代表的には、「N 結合型 (N-linked)」または「O 結合型 (O-linked)」のいずれかである。

【 0 1 8 2 】

「N 結合型」グリコシル化とは、アスパラギン残基の側鎖への炭水化物部分の結合に言及する。トリペプチド配列 アスパラギン - X - セリンおよびアスパラギン - X - スレオニン (ここで X は、プロリンを除く任意のアミノ酸である) は、アスパラギン側鎖への炭水化物部分の酵素による結合のための認識配列である。従って、ポリペプチド中にこれらのトリペプチド配列のいずれかが存在することで、潜在的グリコシル化部位が作り出される。

10

【 0 1 8 3 】

「O 結合型」グリコシル化とは、ヒドロキシアミノ酸 (最も一般的には、セリンまたはスレオニン) への糖である N - アセチルガラクトサミン、ガラクトース、またはキシロースのうちの 1 つの結合に言及するが、5 - ヒドロキシプロリンまたは 5 - ヒドロキシリジンも使用され得る。

20

【 0 1 8 4 】

本明細書で提供される A B P への N 結合型グリコシル化部位の付加またはその A B P からのそのグリコシル化部位の欠失は、上記のトリペプチド配列のうちの 1 またはこれより多くが作り出されるかまたは除去されるように、そのアミノ酸配列を変更することによって達成され得る。O 結合型グリコシル化部位の付加または欠失は、1 またはこれより多くのセリンまたはスレオニン残基を、A B P の配列の中にまたはその A B P へと (場合によって) 付加、欠失、または置換することによって達成され得る。

【 0 1 8 5 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、天然に存在する A B P とは異なるグリコシル化モチーフを含む。任意の適切な天然に存在するグリコシル化モチーフは、本明細書で提供される A B P において改変され得る。免疫グロブリンの構造特性またはグリコシル化特性は、例えば、当該分野で公知であり、例えば、Schroeder and Cavacini, J. Allergy Clin. Immunol., 2010, 125: S41 - 52 (その全体において参考として援用される) において要約されている。

30

【 0 1 8 6 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、アスパラギン 297 (Asn 297) に結合したオリゴサッカリドへの改変を有する IgG1 Fc 領域を含む。哺乳動物細胞によって生成される天然に存在する IgG1 抗体は代表的には、その Fc 領域の CH2 ドメインの Asn 297 への N 結合によって概して結合した分枝状の二分岐型オリゴサッカリドを含む。Wrightら, TIBTECH, 1997, 15: 26 - 32 (その全体において参考として援用される) を参照のこと。Asn 297 に結合したオリゴサッカリドは、種々の炭水化物 (例えば、マンノース、N - アセチルグルコサミン (GlcNAc)、ガラクトース、およびシアル酸、ならびにその二分岐型オリゴサッカリド構造の「ステム (stem)」において GlcNAc に結合したフコース) を含み得る。

40

【 0 1 8 7 】

いくつかの実施形態において、Asn 297 に結合したオリゴサッカリドは、変更した ADC C を有する A B P を作り出すために改変される。いくつかの実施形態において、そのオリゴサッカリドは、ADC C を改善するために変更される。いくつかの実施形態に

50

において、そのオリゴサッカリドは、A D C Cを低減するために変更される。

【0188】

いくつかの局面において、本明細書で提供されるA B Pは、天然に存在するI g G 1ドメインと比較して、A s n 297位において低減したフコース含有量を有するI g G 1ドメインを含む。このようなF cドメインは、改善されたA D C Cを有することが公知である。Shieldsら, J. Biol. Chem., 2002, 277: 26733 - 26740 (その全体において参考として援用される)を参照のこと。いくつかの局面において、このようなA B Pは、A s n 297位においていかなるフコースも含まない。フコースの量は、例えば、W O 2008 / 077546 (その全体において参考として援用される)に記載されるとおり、任意の適切な方法を使用して決定され得る。

10

【0189】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるA B Pは、バイセクト型オリゴサッカリド (例えば、G l c N A cによって二分されるA B PのF c領域に結合した二分岐型オリゴサッカリド)を含む。このようなA B Pバリエントは、低減したフコシル化および/または改善されたA D C C機能を有し得る。このようなA B Pバリエントの例は、例えば、W O 2003 / 011878; 米国特許第6,602,684号; および米国特許公開番号2005 / 0123546 (これらの各々はその全体において参考として援用される)に記載される。

【0190】

本明細書で提供されるA B Pに組み込まれ得る他の例証的なグリコシル化バリエントは、例えば、以下に記載される: 米国特許公開番号2003 / 0157108、同2004 / 0093621、同2003 / 0157108、同2003 / 0115614、同2002 / 0164328、同2004 / 0093621、同2004 / 0132140、同2004 / 0110704、同2004 / 0110282、同2004 / 0109865; 国際特許公開番号2000 / 61739、同2001 / 29246、同2003 / 085119、同2003 / 084570、同2005 / 035586、同2005 / 035778、同2005 / 053742、同2002 / 031140; Okazakiら, J. Mol. Biol., 2004, 336: 1239 - 1249; およびYamane - Ohnukiら, Biotech. Bioeng., 2004, 87: 614 - 622 (これらの各々はその全体において参考として援用される)。

20

30

【0191】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるA B Pは、F c領域に結合したオリゴサッカリド中に少なくとも1個のガラクトース残基を有するF c領域を含む。このようなA B Pバリエントは、改善されたC D C機能を有し得る。このようなA B Pバリエントの例は、例えば、W O 1997 / 30087; W O 1998 / 58964; およびW O 1999 / 22764 (これらの各々は、その全体において参考として援用される)に記載される。

【0192】

脱フコシル化 (defucosylated) A B Pを生成し得る細胞株の例としては、Lec13 CHO細胞 (これは、タンパク質フコシル化が欠損している) (Ripkara, Arch. Biochem. Biophys., 1986, 249: 533 - 545; 米国特許公開番号2003 / 0157108; W O 2004 / 056312 (これらの各々はその全体において参考として援用される)を参照のこと)、およびノックアウト細胞株 (例えば、-1, 6 - フコシルトランスフェラーゼ遺伝子またはFUT8をノックアウトしたCHO細胞 (Yamane - Ohnukiら, Biotech. Bioeng., 2004, 87: 614 - 622; Kandaら, Biotechnol. Bioeng., 2006, 94: 680 - 688; およびW O 2003 / 085107 (これらの各々はその全体において参考として援用される)を参照のこと)が挙げられる。

40

【0193】

50

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、無グリコシル化 A B P である。無グリコシル化 A B P は、当該分野で公知のまたは本明細書で記載される任意の方法を使用して生成され得る。いくつかの局面において、無グリコシル化 A B P は、A B P を全てのグリコシル化部位を除去するように改変することによって生成される。いくつかの局面において、そのグリコシル化部位は、A B P の F c 領域からのみ除去される。いくつかの局面において、無グリコシル化 A B P は、グリコシル化ができない生物（例えば、E . c o l i ）において A B P を発現させることによって、または無細胞反応混合物中で A B P を発現させることによって生成される。

【0194】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、天然の I g G 1 抗体と比較して低下したエフェクター機能を有する定常領域を有する。いくつかの実施形態において、F c レセプターに対する、本明細書で提供される A B P の F c 領域の定常領域の親和性は、このような F c レセプターに対する天然の I g G 1 定常領域の親和性より低い。

【0195】

2.4 N R P - 1 ドメイン

N R P - 1 は、膜貫通形態および短縮化形態の両方を有する。その膜貫通形態は、以下のとおりである。分泌シグナルの短い範囲 (s t r e t c h) の後に、N R P - 1 は、4 つの異なるドメインからなる：C U B ドメインの 2 つのリピート (a 1 / a 2)、F V / V I I I ドメインの 2 つのリピート (b 1 / b 2)、M A M (c) ドメイン、および膜貫通かつ比較的短い 40 ~ 43 アミノ酸の細胞質領域を含む第 4 のドメイン (d)。その第 1 の C U B ドメインは、補体因子 C 1 s / C 1 r、骨形成タンパク質 1 (B M P 1)、および T o l l o i d タンパク質と顕著な相同性を有する。その第 2 の F V / V I I I ドメインは、凝固因子 F V / V I I I、レセプタータイプチロシンキナーゼ D D R のうちの一方、およびディスコイジン - 1 と相同性を共有する。その第 3 のドメイン M A M は、メプリン、A 5 (以前の名称は N R P)、ならびにレセプタープロテイン - チロシンホスファターゼ μ および (m e p r i n , A 5 (f o r m e r n a m e o f N R P) , a n d r e c e p t o r p r o t e i n - t y r o s i n e p h o s p h a t a s e μ a n d k a p p a) の略称である。一実施形態において、本明細書で提供される A B P は、その a 1 ドメインに結合する。別の実施形態において、本明細書で提供される A B P は、その a 2 ドメインに結合する。別の実施形態において、本明細書で提供される A B P は、その b 1 ドメインに結合する。別の実施形態において、本明細書で提供される A B P は、その b 2 ドメインに結合する。一実施形態において、本明細書で提供される A B P は、1 より多くのドメインに結合する。

【0196】

1.1 F c 領域アミノ酸配列バリエーション

ある種の実施形態において、本明細書で提供される A B P は、天然に存在する F c 領域と比較して、1 またはこれより多くのアミノ酸置換、挿入、または欠失を有する F c 領域を含む。いくつかの局面において、このような置換、挿入、または欠失は、安定性、グリコシル化、または他の特徴が変更された A B P を生じる。いくつかの局面において、このような置換、挿入、または欠失は、無グリコシル化 A B P を生じる。

【0197】

いくつかの局面において、本明細書で提供される A B P の F c 領域は、F c レセプターに対して変更された親和性を有する A B P、またはより免疫学的に不活性な A B P を生じるように改変される。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P バリエーションは、全てではないが、いくつかのエフェクター機能を有する。このような A B P は、例えば、その A B P の半減期がインビボで重要である場合に、しかし、ある種のエフェクター機能（例えば、補体活性化および A D C C）が不要または有害である場合に、有用であり得る。

【0198】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P の F c 領域は、ヒンジ安定

10

20

30

40

50

化変異 S 2 2 8 P および L 2 3 5 E のうちの 1 またはこれより多くを含むヒト I g G 4 F c 領域である。A a l b e r s e ら , I m m u n o l o g y , 2 0 0 2 , 1 0 5 : 9 - 1 9 (その全体において参考として援用される) を参照のこと。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P の F c 領域は、ヒンジ安定化変異 S 2 2 8 P を含むヒト I g G 4 F c 領域である。いくつかの実施形態において、その I g G 4 F c 領域は、以下の変異のうちの 1 またはこれより多くを含む : E 2 3 3 P 、 F 2 3 4 V 、 および L 2 3 5 A 。 A r m o u r ら , M o l . I m m u n o l . , 2 0 0 3 , 4 0 : 5 8 5 - 5 9 3 (その全体において参考として援用される) を参照のこと。いくつかの実施形態において、その I g G 4 F c 領域は、G 2 3 6 位における欠失を含む。

【 0 1 9 9 】

10

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P の F c 領域は、F c レセプター結合を低減するために 1 またはこれより多くの変異を含むヒト I g G 1 F c 領域である。いくつかの局面において、その 1 またはこれより多くの変異は、S 2 2 8 (例えば、S 2 2 8 A) 、 L 2 3 4 (例えば、L 2 3 4 A) 、 L 2 3 5 (例えば、L 2 3 5 A) 、 D 2 6 5 (例えば、D 2 6 5 A) 、 および N 2 9 7 (例えば、N 2 9 7 A) から選択される残基にある。いくつかの局面において、その A B P は、P V A 2 3 6 変異を含む。P V A 2 3 6 は、I g G 1 のアミノ酸 2 3 3 ~ 2 3 6 位のアミノ酸配列 E L L G または I g G 4 の E F L G が、P V A によって置き換えられることを意味する。米国特許第 9 , 1 5 0 , 6 4 1 号 (その全体において参考として援用される) を参照のこと。

【 0 2 0 0 】

20

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P の F c 領域は、A r m o u r ら , E u r . J . I m m u n o l . , 1 9 9 9 , 2 9 : 2 6 1 3 - 2 6 2 4 ; W O 1 9 9 9 / 0 5 8 5 7 2 ; および / または英国特許出願番号 9 8 0 9 9 5 1 8 (これらの各々はその全体において参考として援用される) に記載されるように改変される。

【 0 2 0 1 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P の F c 領域は、変異 A 3 3 0 S および P 3 3 1 S のうちの 1 またはこれより多くを含むヒト I g G 2 F c 領域である。

【 0 2 0 2 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P の F c 領域は、2 3 8 位、2 6 5 位、2 6 9 位、2 7 0 位、2 9 7 位、3 2 7 位および 3 2 9 位から選択される 1 またはこれより多くの位置においてアミノ酸置換を有する。米国特許第 6 , 7 3 7 , 0 5 6 号 (その全体において参考として援用される) を参照のこと。このような F c 変異体は、アミノ酸 2 6 5 位、2 6 9 位、2 7 0 位、2 9 7 位および 3 2 7 位のうちの 2 またはこれより多くにおいて置換を有する F c 変異体が挙げられる (残基 2 6 5 および 2 9 7 のアラニンでの置換を有する、いわゆる「D A N A」F c 変異体が挙げられる) 。米国特許第 7 , 3 3 2 , 5 8 1 号 (その全体において参考として援用される) を参照のこと。いくつかの実施形態において、その A B P は、アミノ酸 2 6 5 位においてアラニンを含む。いくつかの実施形態において、その A B P は、アミノ酸 2 9 7 位においてアラニンを含む。

30

【 0 2 0 3 】

40

ある種の実施形態において、本明細書で提供される A B P は、A D C C を改善する 1 またはこれより多くのアミノ酸置換 (例えば、F c 領域の 2 9 8 位、3 3 3 位、および 3 3 4 位のうちの 1 またはこれより多くでの置換) を有する F c 領域を含む。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、L a z a r ら , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A , 2 0 0 6 , 1 0 3 : 4 0 0 5 - 4 0 1 0 (その全体において参考として援用される) に記載されるように、2 3 9 位、3 3 2 位、および 3 3 0 位での 1 またはこれより多くのアミノ酸置換を有する F c 領域を含む。

【 0 2 0 4 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、C 1 q 結合および / または C D C を改善または減少させる 1 またはこれより多くの変更を含む。米国特許第 6 ,

50

194,551号; WO 99/51642; および Idusogiera, J. Immunol., 2000, 164:4178-4184 (これらの各々はその全体において参考として援用される)を参照のこと。

【0205】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPは、半減期を増大させるために、1またはこれより多くの変更を含む。増大した半減期および新生Fcレセプター(FcRn)への改善された結合を有するABPが、例えば、Hintonら, J. Immunol., 2006, 176:346-356; および米国特許第7,361,740号(これらの各々はその全体において参考として援用される)に記載される。このようなFcバリエーションとしては、以下のFc領域残基のうちの1またはこれより多くにおいて置換を有するものが挙げられる: IgGの238、250、256、265、272、286、303、305、307、311、312、314、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、428、および434。

10

【0206】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPは、米国特許第7,371,826号、同第5,648,260号、および同第5,624,821号; Duncan and Winter, Nature, 1988, 322:738-740; ならびにWO 94/29351(これらの各々はその全体において参考として援用される)に記載されるとおりの1またはこれより多くのFc領域バリエーションを含む。

20

【0207】

1.2. ピログルタミン酸

当該分野で公知であるように、組換えタンパク質のN末端におけるグルタミン酸(E)およびグルタミン(Q)の両方が、自然発生的に環化して、インビトロおよびインビボでピログルタミン酸(pE)を形成し得る。Liuら, J. Biol. Chem., 2011, 286:11211-11217(その全体において参考として援用される)を参照のこと。

【0208】

いくつかの実施形態において、N末端位置においてpE残基を有するポリペプチド配列を含むABPが、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N末端残基がQからpEに変換されているポリペプチド配列を含むABPが、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N末端残基がEからpEに変換されているポリペプチド配列を含むABPが、本明細書で提供される。

30

【0209】

いくつかの実施形態において、N末端位置においてpE残基を有するV_H配列を含むABPが、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N末端残基がQからpEに変換されているV_H配列を含むABPが、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N末端のQ残基がpEに変換されている配列番号85~90、97~99から選択されるV_H配列を含むABPが、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、ABPを含む組成物が本明細書で提供され、ここで上記ABPは、配列番号85~90、97~99から選択されるV_Hを含み、ここでこのような組成物中のこのようなV_HのN末端残基のうちの少なくとも約20%、少なくとも約40%、少なくとも約60%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%がQからpEに変換されている。

40

【0210】

いくつかの実施形態において、N末端位置においてpE残基を有するV_H配列を含むABPが、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N末端残基がEからpEに変換されているV_H配列を含むABPが、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N末端のE残基がpEに変換されている配列番号91~96から選択されるV_H配列を含むABPが、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、ABPを

50

含む組成物が本明細書で提供され、ここでその A B P は、配列番号 9 1 ~ 9 6 から選択される V_Hを含み、ここでこのような組成物中のこのような V_Hの N 末端残基のうちの少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、または少なくとも約 9 9 %が E から p E に変換されている。

【 0 2 1 1 】

いくつかの実施形態において、N 末端位置において p E 残基を有する V_L 配列を含む A B P が、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N 末端残基が E から p E に変換されている V_L 配列を含む A B P が、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N 末端の E 残基が p E に変換されている配列番号 1 2 0 に示される V_L 配列を含む A B P が、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、A B P を含む組成物が本明細書で提供され、ここでその A B P は、配列番号 1 2 0 に示される V_Lを含み、ここでこのような組成物中のこのような V_Lの N 末端残基のうちの少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、または少なくとも約 9 9 %が E から p E に変換されている。

10

【 0 2 1 2 】

いくつかの実施形態において、N 末端位置において p E 残基を有する重鎖配列を含む A B P が、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N 末端残基が Q から p E に変換されている重鎖配列を含む A B P が、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N 末端の Q 残基が p E に変換されている配列番号 1 0 7 ~ 1 1 2、1 1 9 ~ 1 2 1 から選択される重鎖配列を含む A B P が、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、A B P を含む組成物が本明細書で提供され、ここでその A B P は、配列番号 1 0 7 ~ 1 1 2、1 1 9 ~ 1 2 1 から選択される重鎖を含み、ここでこのような組成物中のこのような重鎖の N 末端残基のうちの少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、または少なくとも約 9 9 %が Q から p E に変換されている。

20

【 0 2 1 3 】

いくつかの実施形態において、N 末端位置において p E 残基を有する重鎖配列を含む A B P が、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N 末端残基が E から p E に変換されている重鎖配列を含む A B P が、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N 末端の E 残基が p E に変換されている配列番号 1 1 3 ~ 1 1 8 から選択される重鎖配列を含む A B P が、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、A B P を含む組成物が本明細書で提供され、ここでその A B P は、配列番号 1 1 3 ~ 1 1 8 から選択される重鎖を含み、ここでこのような組成物中のこのような重鎖の N 末端残基のうちの少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、または少なくとも約 9 9 %が E から p E に変換されている。

30

【 0 2 1 4 】

いくつかの実施形態において、N 末端位置において p E 残基を有する軽鎖配列を含む A B P が、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N 末端残基が E から p E に変換されている軽鎖配列を含む A B P が、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、N 末端の E 残基が p E に変換されている配列番号 1 2 4 ~ 1 2 5 から選択される軽鎖配列を含む A B P が、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、A B P を含む組成物が本明細書で提供され、ここでその A B P は、配列番号 1 2 4 ~ 1 2 5 から選択される軽鎖を含み、ここでこのような組成物中のこのような軽鎖の N 末端残基のうちの少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、または少なくとも約 9 9 %が E から p E に変換されている。

40

【 0 2 1 5 】

1 . 3 . システイン操作された抗原結合タンパク質バリエーション

50

ある種の実施形態において、システイン操作されたA B P (「t h i o M A b」としても公知) が本明細書で提供され、そのA B Pにおいて、そのA B Pのうちの1またはこれより多くの残基が、システイン残基で置換されている。特定の実施形態において、その置換された残基は、そのA B Pの溶媒アクセス可能な部位で起こる。このような残基をシステインで置換することによって、反応性チオール基が、そのA B Pの溶媒アクセス可能な部位において導入され、そのA B Pが他の部分(例えば、薬物部分またはリンカー - 薬物部分)へと結合体化するために、例えば、免疫結合体を作り出すために、使用され得る。

【0216】

ある種の実施形態において、以下の残基のうちのいずれか1またはこれより多くが、システインで置換され得る：軽鎖のV205；重鎖Fc領域のA118；および重鎖Fc領域のS400。システイン操作されたA B Pは、例えば、米国特許第7,521,541号(これはその全体において参考として援用される)に記載されるように生成され得る。

【0217】

2. NRP-1抗原結合タンパク質を作製するための方法

2.1. NRP-1抗原調製

本明細書で提供されるA B Pの単離のために使用されるNRP-1抗原は、無傷のNRP-1またはNRP-1のフラグメントであり得る。そのNRP-1抗原は、例えば、単離されたタンパク質または細胞の表面上に発現されたタンパク質の形態にあり得る。

【0218】

いくつかの実施形態において、そのNRP-1抗原は、NRP-1の天然に存在しないバリエーション(例えば、天然に存在しないアミノ酸配列または翻訳後修飾を有するNRP-1タンパク質)である。

【0219】

いくつかの実施形態において、そのNRP-1抗原は、例えば、細胞内または膜貫通配列、またはシグナル配列の除去によって短縮される。いくつかの実施形態において、そのNRP-1抗原は、そのC末端において、ヒトIgG1 Fcドメインまたはポリヒスチジンタグに融合される。

【0220】

2.2. モノクローナル抗体を作製するための方法

モノクローナル抗体は、例えば、Kohlerら, Nature, 1975, 256:495-497(その全体において参考として援用される)によって最初に記載されたハイブリドーマ法を使用して、および/または組換えDNA法(例えば、米国特許第4,816,567(その全体において参考として援用される)を参照のこと)によって、得られ得る。モノクローナル抗体はまた、例えば、ファージまたは酵母ベースのライブラリーを使用して得られ得る。例えば、米国特許第8,258,082号および同第8,691,730号(これらの各々がその全体において参考として援用される)を参照のこと。

【0221】

ハイブリドーマ法では、マウスまたは他の適切な宿主動物が、免疫するために使用されるタンパク質に特異的に結合する抗体を生成するかまたは生成し得るリンパ球を誘発するために免疫される。あるいは、リンパ球は、インビトロで免疫され得る。次いで、リンパ球は、適切な融合剤(例えば、ポリエチレングリコール)を使用して骨髓腫細胞と融合して、ハイブリドーマ細胞を形成する。Goding J.W., Monoclonal Antibodies: Principles and Practice 第3版.(1986) Academic Press, San Diego, CA(その全体において参考として援用される)を参照のこと。

【0222】

そのハイブリドーマ細胞を、その融合させていない親の骨髓腫細胞の成長または生存を阻害する1またはこれより多くの物質を含む適切な培養培地中に播種し成長させる。例えば、その親の骨髓腫細胞が、酵素ヒポキサンチン/グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HGPRTまたはHPR T)を欠いている場合、そのハイブリドーマ用の培養培地

10

20

30

40

50

は代表的には、ヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジンを含み（HAT培地）、これらの物質は、HGPRT欠損性細胞の成長を防止する。

【0223】

有用な骨髓腫細胞は、効率的に融合し、その選択された抗体生成細胞による抗体の安定な高レベル生成を支持し、そして鋭敏な培地条件（例えば、HAT培地の存在または非存在）であるものである。これらの中でも、好ましい骨髓腫細胞株は、マウス骨髓腫株（例えば、MOP-21およびMC-11マウス腫瘍（Salk Institute Cell Distribution Center（San Diego, CA）から入手可能）、ならびにSP-2またはX63-Ag8-653細胞（アメリカンタイプカルチャーコレクション（Rockville, MD）から入手可能）に由来するもの）である。ヒト骨髓腫細胞株およびマウス-ヒトヘテロ骨髓腫細胞株はまた、ヒトモノクローナル抗体の生成に関して記載されている。例えば、Kozbor, J. Immunol., 1984, 133:3001（その全体において参考として援用される）を参照のこと。

10

【0224】

望ましい特異性、親和性、および/または生物学的活性の抗体を生成するハイブリドーマ細胞の同定の後に、選択されたクローンを、限界希釈手順によってサブクロニングし、標準的方法によって成長させ得る。Goding, 前出を参照のこと。この目的に適した培養培地としては、例えば、D-MEMまたはRPMI-1640培地が挙げられる。さらに、そのハイブリドーマ細胞を、動物において、腹水腫瘍としてインビボで成長させ得る。

20

【0225】

そのモノクローナル抗体をコードするDNAは、従来の手順を使用して（例えば、そのモノクローナル抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合し得るオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離および配列決定し得る。従って、そのハイブリドーマ細胞は、望ましい特性を有する抗体をコードするDNAの有用な供給源として働き得る。一旦単離された後、そのDNAは、発現ベクターの中に配置され得、そのベクターは、次いで、そのモノクローナル抗体を生成するために、細菌（例えば、E. coli）、酵母（例えば、SaccharomycesまたはPichia sp.）、COS細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、または別段抗体を生成しない骨髓腫細胞のような宿主細胞へとトランスフェクトされる。

30

【0226】

別の局面において、抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントを生成するための方法が提供され、上記方法は、以下の（a）～（c）からなる群より選択される宿主細胞を培養して、抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントを発現する工程を包含する：（a）本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよび上記抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；（b）本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターおよび上記抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；ならびに（c）本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞および上記抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

40

【0227】

別の局面において、抗ヒトNRP-1抗体を生成するための方法が提供され、上記方法は、以下の（a）～（c）からなる群より選択される宿主細胞を培養して、抗ヒトNRP-1抗体を発現する工程を包含する：（a）本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体

50

の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよび上記抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；(b) 本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターおよび上記抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞；ならびに(c) 本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞および上記抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

【0228】

2.3. キメラ抗体を作製するための方法

キメラ抗体を作製するための例証的な方法は、例えば、米国特許第4,816,567号；およびMorrissonら, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1984, 81:6851-6855(これらの各々はその全体において参考として援用される)に記載される。いくつかの実施形態において、キメラ抗体は、組換え技術を使用して、非ヒト可変領域(例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、または非ヒト霊長類(例えば、サル)に由来する可変領域)とヒト定常領域とを組み合わせることによって作製される。

【0229】

2.4. ヒト化抗体を作製するための方法

ヒト化抗体は、非ヒトモノクローナル抗体の構造的部分のうちの大部分、または全てを、相当するヒト抗体配列で置き換えることによって生成され得る。結論として、ハイブリッド分子が生成され、その分子において、抗原特異的可変部分のみ、またはCDRが非ヒト配列から構成される。ヒト化抗体を得るための方法としては、例えば、Winter and Milstein, Nature, 1991, 349:293-299; Raderら, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 1998, 95:8910-8915; Steinbergerら, J. Biol. Chem., 2000, 275:36073-36078; Queenら, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1989, 86:10029-10033;ならびに米国特許第5,585,089号、同第5,693,761号、同第5,693,762号、および同第6,180,370号(これらの各々はその全体において参考として援用される)に記載されるものが挙げられる。

【0230】

2.5. ヒト抗体を作製するための方法

ヒト抗体は、当該分野で公知の種々の技術によって、例えば、トランスジェニック動物(例えば、ヒト化マウス)を使用することによって生成され得る。例えば、Jakobovitsら, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1993, 90:2551; Jakobovitsら, Nature, 1993, 362:255-258; Bruggermannら, Year in Immuno., 1993, 7:33;ならびに米国特許第5,591,669号、同第5,589,369号および同第5,545,807号(これらの各々はその全体において参考として援用される)を参照のこと。ヒト抗体はまた、ファージディスプレイライブラリーに由来し得る(例えば、Hoogenboomら, J. Mol. Biol., 1991, 227:381-388; Marksら, J. Mol. Biol., 1991, 222:581-597;ならびに米国特許第5,565,332号および同第5,573,905号(これらの各々はその全体において参考として援用される)を参照のこと)。ヒト抗体はまた、インビトロで活性化されたB細胞によって生成され得る(例えば、米国特許第5,567,610号および同第5,229,275号(これらの各々がその全体において参考として援用される)を参照のこと)。ヒト抗体はまた、酵母ベースのライブラリーに由来し得る(例えば、米国特許第8,691,730(その全体において参考として援用される)を参照のこと)。

10

20

30

40

50

【0231】

2.6. 抗体フラグメントを作製するための方法

本明細書で提供される抗体フラグメントは、任意の適切な方法（本明細書で記載される例証的な方法または当該分野で公知の方法が挙げられる）によって作製され得る。適切な方法としては、組換え技術および完全抗体のタンパク質分解性消化が挙げられる。抗体フラグメントを作製するための例証的な方法は、例えば、Hudsonら, Nat. Med., 2003, 9:129-134（その全体において参考として援用される）に記載される。scFv抗体を作製するための方法は、例えば、Plueckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore編, Springer-Verlag, New York, pp. 269-315（1994）; WO 93/16185; ならびに米国特許第5,571,894号および同第5,587,458号（これらの各々はその全体において参考として援用される）に記載される。

10

【0232】

2.7. 代替の足場を作製するための方法

本明細書で提供される代替の足場は、任意の適切な方法（本明細書で記載される例証的な方法または当該分野で公知の方法が挙げられる）によって作製され得る。例えば、AdnectinTMを調製するための方法は、Emanuelら, mAbs, 2011, 3:38-48（その全体において参考として援用される）に記載される。iMabを調製するための方法は、米国特許公開番号2003/0215914（その全体において参考として援用される）に記載される。Anticalin（登録商標）を調製するための方法は、Vogt and Skerra, Chem. Biochem., 2004, 5:191-199（その全体において参考として援用される）に記載される。Kunitzドメインを調製するための方法は、Wagnerら, Biochem. & Biophys. Res. Comm., 1992, 186:118-1145（その全体において参考として援用される）に記載される。チオレドキシンペプチドアプタマーを調製するための方法は、Geyer and Brent, Meth. Enzymol., 2000, 328:171-208（その全体において参考として援用される）において提供される。Affibodyを調製するための方法は、Fernandez, Curr. Opinion in Biotech., 2004, 15:364-373（その全体において参考として援用される）において提供される。DARPinを調製するための方法は、Zahndら, J. Mol. Biol., 2007, 369:1015-1028（その全体において参考として援用される）において提供される。Affilinを調製するための方法は、Ebersbachら, J. Mol. Biol., 2007, 372:172-185（その全体において参考として援用される）において提供される。Tetranectinを調製するための方法は、Graversonら, J. Biol. Chem., 2000, 275:37390-37396（その全体において参考として援用される）において提供される。Avimerを調製するための方法は、Silvermanら, Nature Biotech., 2005, 23:1556-1561（その全体において参考として援用される）において提供される。Fynomerを調製するための方法は、Silacciら, J. Biol. Chem., 2014, 289:14392-14398（その全体において参考として援用される）において提供される。

20

30

40

【0233】

代替の足場に関するさらなる情報は、Binzら, Nat. Biotechnol., 2005, 23:1257-1268; およびSkerra, Current Opin. in Biotech., 2007, 18:295-304（これらの各々がその全体において参考として援用される）において提供される。

【0234】

2.8. バリエーションを作製するための方法

50

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、親 A B P の親和性成熟されたバリエーションであり、これは、例えば、ファージディスプレイベースの親和性成熟化技術を使用して生成され得る。簡潔には、1 またはこれより多くの C D R 残基が変異され得、そのバリエーション A B P またはその一部は、ファージ上にディスプレイされ得、親和性に関してスクリーニングされ得る。このような変更は、C D R 「ホットスポット (hot spot)」、もしくは体細胞成熟化プロセスの間に高頻度で変異を受けるコドンによってコードされる残基 (Chowdhury, Methods Mol. Biol., 2008, 207: 179 - 196 (その全体において参考として援用される)) を参照のこと)、および / またはその抗原と接触する残基において作製され得る。

【0235】

任意の適切な方法は、A B P をコードするポリヌクレオチド配列 (複数可) の中に変動性を導入するために使用され得る (エラープローン P C R、鎖シャフリング、およびオリゴヌクレオチド指向性変異誘発 (例えば、トリヌクレオチド指向性変異誘発 (T R I M)) が挙げられる)。いくつかの局面において、いくつかの C D R 残基 (例えば、一度に 4 ~ 6 残基) がランダム化される。抗原結合に關与する C D R 残基は、例えば、アラニンスキャニング変異誘発またはモデリングを使用して、具体的に同定され得る。C D R - H 3 および C D R - L 3 は特に、変異のためにしばしば標的化される。

【0236】

可変領域および / または C D R への多様性の導入は、二次ライブラリーを生成するために使用され得る。その二次ライブラリーは、次いで、改善された親和性を有する A B P バリエーションを同定するためにスクリーニングされる。二次ライブラリーから構築および再選択することによる親和性成熟は、例えば、Hoogenboomら, Methods in Molecular Biology, 2001, 178: 1 - 37 (その全体において参考として援用される) に記載されている。

【0237】

2.9. ベクター、宿主細胞、および組換え法

N R P - 1 A B P をコードする単離された核酸、その核酸を含むベクター、ならびにそのベクターおよびその核酸を含む宿主細胞、ならびにその A B P の生成のための組換え技術がまた、提供される。

【0238】

別の局面において、本明細書で提供される抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドが提供される。別の局面において、本明細書で提供される抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドが提供される。

【0239】

別の局面において、本明細書で提供される抗ヒト N R P - 1 抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドが提供される。別の局面において、本明細書で提供される抗ヒト N R P - 1 抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドが提供される。

【0240】

A B P の組換え生成のために、その A B P をコードする核酸 (複数可) は、単離され得、さらなるクローニング (すなわち、その D N A の増幅) または発現のために、複製可能なベクターへと挿入され得る。いくつかの局面において、その核酸は、例えば、米国特許第 5,204,244 (その全体において参考として本明細書に援用される) に記載されるように、相同組換えによって生成され得る。

【0241】

別の局面において、(a) 本明細書で提供される抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよび / または (b) その抗ヒト N R P - 1 抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターが提供される。

【0242】

別の局面において、(a) 本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよび/または(b) その抗ヒトNRP-1抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターが提供される。

【0243】

多くの異なるベクターは、当該分野で公知である。そのベクター構成要素は一般に、例えば、米国特許第5,534,615(その全体において参考として援用される)に記載されるように、以下のうちの1またはこれより多くを含む:シグナル配列、複製起点、1またはこれより多くのマーカー遺伝子、エンハンサーエレメント、プロモーター、および転写終結配列。

【0244】

適切な宿主細胞の例証的な例は、以下に提供される。これらの宿主細胞は、限定であることを意味されず、任意の適切な宿主細胞は、本明細書で提供されるABPを生成するために使用され得る。

【0245】

別の局面において、(a)~(d)からなる群より選択される発現ベクターで形質転換された宿主細胞が提供される:(a) 本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよびその抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞;(b) 本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターおよびその抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞;(c) 本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞;ならびに(d) 本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

【0246】

別の局面において、(a)~(d)からなる群より選択される発現ベクターで形質転換された宿主細胞が提供される:(a) 本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドおよびその抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞;(b) 本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターおよびその抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞;(c) 本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体の重鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞;ならびに(d) 本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体の軽鎖をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

【0247】

適切な宿主細胞は、任意の原核生物(例えば、細菌)、下等真核生物(例えば、酵母)、または高等真核生物(例えば、哺乳動物)の細胞を含む。適切な原核生物としては、コーバクテリア(例えば、グラム陰性またはグラム陽性の生物、例えば、Enterobacteriaceae(例えば、Escherichia(E.coli)、Enterobacter、Erwinia、Klebsiella、Proteus、Salmonella(S.typhimurium)、Serratia(S.marcescans)、Shigella、Bacilli(B.subtilisおよびB.licheniformis)、Pseudomonas(P.aeruginosa)、およびStreptomyces))が挙げられる。1つの有用なE.coliクローニング宿主は、E.coli 294であるが、他の株(例えば、E.coli B、E.coli

10

20

30

40

50

X 1 7 7 6、および E . c o l i W 3 1 1 0) も適切である。

【 0 2 4 8 】

原核生物に加えて、真核生物微生物（例えば、糸状菌または酵母）がまた、N R P - 1 A B Pコードベクターの適切なクローニング宿主または発現宿主である。S a c c h a r o m y c e s c e r e v i s i a e、または一般的なパン酵母は、一般的に使用される下等真核生物宿主微生物である。しかし、多くの他の属、種、および株が、利用可能でありかつ有用である（例えば、S c h i z o s a c c h a r o m y c e s p o m b e、K l u y v e r o m y c e s (K . l a c t i s、K . f r a g i l i s、K . b u l g a r i c u s、K . w i c k e r a m i i、K . w a l t i i、K . d r o s o p h i l a r u m、K . t h e r m o t o l e r a n s、および K . m a r x i a n u s)、Y a r r o w i a、P i c h i a p a s t o r i s、C a n d i d a (C . a l b i c a n s)、T r i c h o d e r m a r e e s i a、N e u r o s p o r a c r a s s a、S c h w a n n i o m y c e s (S . o c c i d e n t a l i s)、ならびに糸状菌（例えば、P e n i c i l l i u m、T o l y p o c l a d i u m、および A s p e r g i l l u s (A . n i d u l a n s および A . n i g e r) など）。

10

【 0 2 4 9 】

本明細書で開示される N R P - 1 A B P を生成するために使用される宿主細胞は、種々の培地中で培養され得る。市販の培地（例えば、H a m ' s F 1 0、最小必須培地 (M E M)、R P M I - 1 6 4 0、およびダルベッコ改変イーグル培地 (D M E M) など）は、その宿主細胞を培養するために適している。さらに、H a m r a , M e t h . E n z . , 1 9 7 9 , 5 8 : 4 4 ; B a r n e s r a , A n a l . B i o c h e m . , 1 9 8 0 , 1 0 2 : 2 5 5 ; ならびに米国特許第 4 , 7 6 7 , 7 0 4 号、同第 4 , 6 5 7 , 8 6 6 号、同第 4 , 9 2 7 , 7 6 2 号、同第 4 , 5 6 0 , 6 5 5 号、および同第 5 , 1 2 2 , 4 6 9 号；または W O 9 0 / 0 3 4 3 0 および W O 8 7 / 0 0 1 9 5 に記載される培地のうちのいずれかが使用され得る。前述の参考文献の各々は、その全体において参考として援用される。

20

【 0 2 5 0 】

これらの培地のうちのいずれかは、必要な場合ホルモンおよび/または他の成長因子（例えば、インスリン、トランスフェリン、または上皮成長因子）、塩（例えば、塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウム、およびホスフェート）、バッファ（例えば、H E P E S）、ヌクレオチド（例えば、アデノシンおよびチミジン）、抗生物質、微量元素（マイクロモル濃度範囲の最終濃度で通常は存在する無機化合物として定義される）、およびグルコースまたは等価なエネルギー源が補充され得る。任意の他の必要な補充物質がまた、当業者に公知である適切な濃度で含まれ得る。

30

【 0 2 5 1 】

培養条件（例えば、温度、p H など）は、発現のために選択される宿主細胞で以前に使用された条件であり、当業者にとって明らかである。

【 0 2 5 2 】

組換え技術を使用する場合、その A B P は、細胞内で、細胞周辺腔において生成され得るか、または培地へと直接分泌され得る。その A B P が細胞内で生成される場合、第 1 の工程として、例えば、遠心分離または限外濾過によって、粒状デブリ（宿主細胞または溶解したフラグメントのいずれか）が除去される。例えば、C a r t e r r a (B i o / T e c h n o l o g y , 1 9 9 2 , 1 0 : 1 6 3 - 1 6 7 (その全体において参考として援用される)) は、E . c o l i の細胞周辺腔へと分泌される A B P を単離するための手順を記載する。簡潔には、細胞ペーストを、酢酸ナトリウム (p H 3 . 5)、E D T A、およびフェニルメチルスルホニルフルオリド (P M S F) の存在下で約 3 0 分間にわたって解凍する。細胞デブリは、遠心分離によって除去され得る。

40

【 0 2 5 3 】

いくつかの実施形態において、その A B P は、無細胞系において生成される。いくつかの局面において、その無細胞系は、Y i n r a , m A b s , 2 0 1 2 , 4 : 2 1 7 - 2

50

25（その全体において参考として援用される）に記載されるとおりのインビトロ転写および翻訳システムである。いくつかの局面において、その無細胞系は、真核生物細胞または原核生物細胞に由来する無細胞抽出物を利用する。いくつかの局面において、その原核生物細胞は、*E. coli*である。そのABPの無細胞発現は、例えば、そのABPが不溶性凝集物として細胞中に蓄積する場合またはペリプラズム発現からの収量が低い場合に有用であり得る。

【0254】

そのABPが培地へと分泌される場合、このような発現系からの上清は一般に、市販のタンパク質濃縮フィルタ、例えば、Amicon（登録商標）またはMillipore（登録商標）Pellicon（登録商標）限外濾過ユニットを使用して、まず濃縮される。プロテアーゼ阻害剤（例えば、PMSF）は、タンパク質分解を阻害するために前述の工程のうちのいずれかに含まれ得、抗生物質は、外来の汚染物質の成長を防止するために含まれ得る。

【0255】

その細胞から調製されるABP組成物は、例えば、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、およびアフィニティークロマトグラフィーを使用して精製され得、アフィニティークロマトグラフィーは、特に有用な精製技術である。親和性リガンドとしてのプロテインAの適切性は、そのABP中に存在する任意の免疫グロブリンFcドメインの種およびアイソタイプに依存する。プロテインAは、ヒト1、2、または4重鎖を含むABPを精製するために使用され得る（Lindmarkら、*J. Immunol. Meth.*, 1983, 62:1-13（その全体において参考として援用される））。プロテインGは、全てのマウスアイソタイプおよびヒト3に有用である（Gussら、*EMBO J.*, 1986, 5:1567-1575（その全体において参考として援用される））。

【0256】

その親和性リガンドが結合されるマトリクスは、最も頻繁にはアガロースであるが、他のマトリクスも利用可能である。機械的に安定なマトリクス（例えば、孔制御ガラスまたはポリ（スチレンジビニル）ベンゼン）は、アガロースで達成され得るより速い流速および短い処理時間を可能にする。そのABPが CH_3 ドメインを含む場合、Baker Bond ABX（登録商標）樹脂が精製に有用である。

【0257】

タンパク質精製の他の技術（例えば、イオン交換カラムでの分画、エタノール沈殿、逆相HPLC、シリカ上でのクロマトグラフィー、ヘパリンSepharose（登録商標）上でのクロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、SDS-PAGE、および硫酸アンモニウム沈殿）がまた利用可能であり、当業者によって適用され得る。

【0258】

任意の予備的精製工程（複数可）の後に、その目的のABPおよび汚染物質を含む混合物は、一般には低い塩濃度（例えば、約0～約0.25M塩）で行われる、約2.5～約4.5の間のpHの溶離緩衝液を使用する低pH疎水性相互作用クロマトグラフィーに供され得る。

【0259】

3. アッセイ

当該分野で公知の種々のアッセイが、本明細書で提供されるNRP-1 ABPを同定および特徴づけるために使用され得る。

【0260】

3.1. 結合、競合およびエピトープマッピングアッセイ

本明細書で提供されるABPの特異的抗原結合活性は、任意の適切な方法によって（SPR、BLI、RIA、KinExA、フローサイトメトリー、およびMSD-SETを使用することが挙げられる）評価され得る。さらに、抗原結合活性は、ELISAアッセイおよびウェスタンブロットアッセイによって評価され得る。

【0261】

2種のABPの間の、またはABPと別の分子（例えば、NRP-1の1またはこれより多くのリガンド）との間の競合を測定するためのアッセイは、本開示の他の箇所で、および例えば、Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* ch. 14, 1988, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y（その全体において参考として援用される）に記載される。

【0262】

本明細書で提供されるABPが結合するエピトープをマッピングするためのアッセイは、例えば、Morris「*Epitope Mapping Protocols*», in *Methods in Molecular Biology* vol. 66, 1996, Humana Press, Totowa, N.J.（その全体において参考として援用される）に記載される。いくつかの実施形態において、そのエピトープは、ペプチド競合によって決定される。いくつかの実施形態において、そのエピトープは、質量分析法によって決定される。いくつかの実施形態において、そのエピトープは、結晶学によって決定される。

10

【0263】

3.2.NRP-1アンタゴニズムアッセイ

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPは、NRP-1に対するアンタゴニスト活性を有するABPを同定するかまたは特徴づけるためにスクリーニングされる。任意の適切なアッセイは、このようなABPを同定するかまたは特徴づけるために使用され得る。いくつかの局面において、そのアッセイは、エフェクターT細胞と本明細書で提供されるABPとを接触させた後に、そのエフェクターT細胞によって分泌されるサイトカインの量を測定する。いくつかの局面において、そのサイトカインは、IL-2、IL-6、LT-、TNF、GM-CSF、IFN、およびこれらの組み合わせから選択される。いくつかの局面において、そのサイトカインは、sCD40L、VEGF、TGF-、RANTES、PDGF-AB/BB、PDGF-AA、MIP-1、MIP-1、MDC(CCL22)、MCP-3、MCP-1、IP-10、IL-17A、IL-2R、IL-15、IL-13、IL-12(p70)、IL-12(p40)、IL-10、IL-9、IL-8、IL-7、IL-5、IL-4、IL-3、IL-2、IL-2R、IL-1RA、IL-1、IL-1、IFN、IFN2、GRO、GM-CSF、G-CSF、フラクタルカイン、Flt-3リガンド、FGF-2、エオタキシン、EGF、およびこれらの組み合わせから選択される。

20

30

【0264】

いくつかの実施形態において、そのエフェクター細胞は、CD3のアゴニストで共刺激されて、そのエフェクター細胞によるサイトカインの分泌を促進する。いくつかの局面において、そのCD3アゴニストは、最大未満のレベルで提供される。

【0265】

いくつかの局面において、このようなアッセイは、エフェクターT細胞と本明細書で提供されるABPとを接触させた後にそのエフェクターT細胞の増殖を測定し得る。いくつかの局面において、そのエフェクターT細胞の増殖は、色素（例えば、カルボキシフルオレセインジアセテートスクシンイミジルエステル；CFSE）の希釈によって、トリチウムチミジン取り込みによって、ルミネッセント細胞生存性アッセイによって、または当該分野で公知の他のアッセイによって、測定される。

40

【0266】

いくつかの局面において、このようなアッセイは、調節性T細胞と本明細書で提供されるABPとを接触させた後に、その調節性T細胞の分化、サイトカイン生成、生存性（例えば、生存(survival)）、増殖、または抑制活性を測定し得る。

【0267】

いくつかの局面において、このようなアッセイは、NK細胞と本明細書で提供されるA

50

B Pとを接触させた後に、そのNK細胞の細胞傷害性活性を測定し得る。いくつかの局面において、そのNK細胞の細胞傷害性活性は、標的細胞（例えば、K562細胞株）のNK媒介性殺滅を定量する細胞傷害性アッセイを使用して測定される。Jangら, Ann. Clin. Lab. Sci., 2012, 42:42-49（その全体において参考として援用される）を参照のこと。

【0268】

いくつかの局面において、このようなアッセイは、グランザイムBの量を測定し得る。いくつかの局面において、子のようなアッセイは、パーフォリンの量を測定し得る。

【0269】

3.3. エフェクター機能のアッセイ

本明細書で提供されるABPでの処置後のエフェクター機能は、当該分野で公知の種々のインピトロアッセイおよびインピボアッセイ(Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol., 1991, 9:457-492; 米国特許第5,500,362号、同第5,821,337号; Hellstromら, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 1986, 83:7059-7063; Hellstromら, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 1985, 82:1499-1502; Bruggemannら, J. Exp. Med., 1987, 166:1351-1361; Clynesら, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 1998, 95:652-656; WO 2006/029879; WO 2005/100402; Gazzano-Santoroら, J. Immunol. Methods, 1996, 202:163-171; Craggら, Blood, 2003, 101:1045-1052; Craggら Blood, 2004, 103:2738-2743; およびPetkovaら, Int'l. Immunol., 2006, 18:1759-1769（これらの各々はその全体において参考として援用される）に記載されるものが挙げられる）を使用して評価され得る。

【0270】

4. 薬学的組成物

本明細書で提供されるABPは、任意の適切な薬学的組成物に製剤化され得、任意の適切な投与経路によって投与され得る。適切な投与経路としては、動脈内、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、鼻、非経口、肺、および皮下の経路が挙げられるが、これらに限定されない。

【0271】

別の局面において、本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントおよび薬学的に受容可能な賦形剤を含む薬学的組成物が提供される。

【0272】

別の局面において、複数種の本明細書で提供される抗ヒトNRP-1抗体またはその抗原結合フラグメントを含む薬学的組成物が提供される。例えば、その薬学的組成物は、翻訳後修飾を受けていない抗体またはその抗原結合フラグメントおよびその抗体またはその抗原結合フラグメントの翻訳後修飾から得られる抗体またはその抗原結合フラグメントを含む。

【0273】

一実施形態において、その薬学的組成物は、以下の(1)~(4)から選択される抗ヒトNRP-1抗体のうちの少なくとも2種を含む：(1)配列番号118からなる重鎖および配列番号126からなる軽鎖を含む抗ヒトNRP-1抗体、(2)アミノ酸番号1のEがピログルタミン酸に改変される配列番号118からなる重鎖および配列番号126からなる軽鎖を含む抗ヒトNRP-1抗体、(3)配列番号118のアミノ酸番号1~453のアミノ酸配列からなる重鎖および配列番号126からなる軽鎖を含む抗ヒトNRP-1抗体；ならびに(4)アミノ酸番号1のEがピログルタミン酸に改変される配列番号118のアミノ酸番号1~453のアミノ酸配列からなる重鎖および配列番号126から

なる軽鎖を含む抗ヒトNRP-1抗体。

【0274】

一実施形態において、その薬学的組成物は、配列番号118からなる重鎖および配列番号126からなる軽鎖を含む抗ヒトNRP-1抗体、配列番号118のアミノ酸番号1~453のアミノ酸配列からなる重鎖および配列番号126からなる軽鎖を含む抗ヒトNRP-1抗体、ならびに薬学的に受容可能な賦形剤を含む。

【0275】

その薬学的組成物は、1またはこれより多くの薬学的賦形剤を含み得る。任意の適切な薬学的賦形剤が使用され得、当業者は、適切な薬学的賦形剤を選択し得る。よって、以下で提供される薬学的賦形剤は、例証であって、限定ではないことが意図される。さらなる薬学的賦形剤としては、例えば、Handbook of Pharmaceutical Excipients, Roweら(編) 第6版.(2009)(その全体において参考として援用される)に記載されるものが挙げられる。

10

【0276】

いくつかの実施形態において、その薬学的組成物は、消泡剤を含む。任意の適切な消泡剤が使用され得る。いくつかの局面において、その消泡剤は、アルコール、エーテル、油、ワックス、シリコン、界面活性剤、およびこれらの組み合わせから選択される。いくつかの局面において、その消泡剤は、ミネラルオイル、植物性油、エチレンビスステアラミド(ethylene bis stearamide)、パラフィンワックス、エステルワックス、脂肪アルコールワックス、長鎖脂肪アルコール、脂肪酸石鹸、脂肪酸エステル、シリコングリコール、フルオロシリコン、ポリエチレングリコール-ポリプロピレングリコールコポリマー、ポリジメチルシロキサン-二酸化ケイ素、エーテル、オクチルアルコール、カプリルアルコール、ソルビタントリオレート、エチルアルコール、2-エチル-ヘキサノール、ジメチコン、オレイルアルコール、シメチコン、およびこれらの組み合わせから選択される。

20

【0277】

いくつかの実施形態において、その薬学的組成物は、共溶媒を含む。共溶媒の例証的な例としては、エタノール、ポリ(エチレン)グリコール、ブチレングリコール、ジメチルアセトアミド、グリセリン、プロピレングリコール、およびこれらの組み合わせが挙げられる。

30

【0278】

いくつかの実施形態において、その薬学的組成物は、バッファを含む。バッファの例証的な例としては、アセテート、ボレート、カーボネート、ラクテート、マレート、ホスフェート、シトレート、ヒドロキシド、ジエタノールアミン、モノエタノールアミン、グリシン、メチオニン、グアーガム、グルタミン酸モノナトリウム、およびこれらの組み合わせが挙げられる。

【0279】

いくつかの実施形態において、その薬学的組成物は、キャリアまたは充填剤を含む。キャリアまたは充填剤の例証的な例としては、ラクトース、マルトデキストリン、マンニトール、ソルビトール、キトサン、ステアリン酸、キサンタンガム、グアーガム、およびこれらの組み合わせが挙げられる。

40

【0280】

いくつかの実施形態において、その薬学的組成物は、界面活性剤を含む。界面活性剤の例証的な例としては、d-トコフェロール、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、セトリミド、塩化セチルピリジニウム、ドクサートナトリウム、ベヘン酸グリセリル、モノオレイン酸グリセリル、ラウリン酸、マクロゴール15ヒドロキシステアレート、ミリスチルアルコール、リン脂質、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンステアレート、ポリオキシグリセリド、ラウリル硫酸ナトリウム、ソルビタンエステル、ビタミンEポリエチレン(グリコール)スクシネート、およびこれらの組み合わせが挙げられる。

50

【0281】

いくつかの実施形態において、その薬学的組成物は、固結防止剤を含む。固結防止剤の例証的な例としては、リン酸カルシウム（三塩基性）、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、酸化マグネシウム、およびこれらの組み合わせが挙げられる。

【0282】

その薬学的組成物とともに使用され得る他の賦形剤としては、例えば、アルブミン、抗酸化剤、抗細菌剤、抗真菌剤、生体吸収性ポリマー、キレート化剤、放出制御剤、希釈剤、分散化剤、溶解増強剤、乳化剤、ゲル化剤、軟膏基剤、浸透増強剤、保存剤、可溶化剤、溶媒、安定化剤、糖、およびこれらの組み合わせが挙げられる。これら剤の各々の具体例は、例えば、Handbook of Pharmaceutical Excipients, Roweら（編）第6版。（2009）, The Pharmaceutical Press（その全体において参考として援用される）に記載される。

10

【0283】

いくつかの実施形態において、その薬学的組成物は、溶媒を含む。いくつかの局面において、その溶媒は、食塩溶液（例えば、滅菌等張性食塩溶液）またはデキストロース溶液である。いくつかの局面において、その溶媒は、注射用水である。

【0284】

いくつかの実施形態において、その薬学的組成物は、粒状形態（例えば、微粒子またはナノ粒子）にあり得る。微粒子およびナノ粒子は、任意の適切な材料（例えば、ポリマーまたは脂質）から形成され得る。いくつかの局面において、その微粒子またはナノ粒子は、ミセル、リボソーム、またはポリマーソームである。

20

【0285】

水は、いくらかのABPの分解を促進し得るので、ABPを含む無水の薬学的組成物および剤形が本明細書でさらに提供される。

【0286】

本明細書で提供される無水の薬学的組成物および剤形は、無水または低水分含有の成分および低水分または低湿度条件を使用して調製され得る。ラクトースおよび一級アミンまたは二級アミンを含む少なくとも1つの活性成分を含む薬学的組成物および剤形は、製造、パッケージング、および/または貯蔵の間の水分および/または湿気との実質的な接触が予測される場合には、無水であり得る。

30

【0287】

無水薬学的組成物は、その無水の性質が維持されるように、調製および貯蔵されるべきである。よって、無水組成物は、それらが適切な処方キット（formulary kit）に含まれ得るように、水への曝露を防止することが公知の材料を使用してパッケージングされ得る。適切なパッケージングの例としては、気密シールホイール、プラスチック、単位用量容器（例えば、バイアル）、プリスターパック、およびストリップパックが挙げられるが、これらに限定されない。

【0288】

4.1. 非経口剤形

40

ある種の実施形態において、本明細書で提供されるABPは、非経口剤形として製剤化される。非経口剤形は、種々の経路（皮下、静脈内（注入およびボラス注射が挙げられる）、筋肉内、および動脈内）が挙げられるが、これらに限定されない）によって被験体に投与され得る。それらの投与は、代表的には汚染物質に対する被験体の天然の防御を回避するので、非経口剤形は代表的には、無菌であるか、または被験体への投与の前に滅菌され得る。非経口剤形の例としては、すぐに注射できる液剤、薬学的に受容可能な注射用ビヒクルにすぐに溶解もしくは懸濁できる乾燥（例えば、凍結乾燥）製品、すぐに注射できる懸濁剤、およびエマルジョンが挙げられるが、これらに限定されない。

【0289】

非経口剤形を提供するために使用され得る適切なビヒクルは、当業者に周知である。例

50

としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：注射用水 USP；水性ビヒクル（例えば、塩化ナトリウム注射用、リンゲル注射用、デキストロース注射用、デキストロースおよび塩化ナトリウム注射用、および乳酸添加リンゲル注射用が挙げられるが、これらに限定されない）；水混和性ビヒクル（例えば、エチルアルコール、ポリエチレングリコール、およびポリプロピレングリコールが挙げられるが、これらに限定されない）；および非水性ビヒクル（例えば、コーン油、綿実油、ラッカセイ油、ゴマ油、オレイン酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、および安息香酸ベンジルが挙げられるが、これらに限定されない）。

【0290】

本明細書で開示される ABP のうちの 1 またはこれより多くの溶解性を増加させる賦形剤はまた、非経口剤形に組み込まれ得る。

10

【0291】

いくつかの実施形態において、その非経口剤形は凍結乾燥される。例示的な凍結乾燥製剤は、例えば、米国特許第 6,267,958 号および同第 6,171,586 号；ならびに WO 2006/044908（これらの各々はその全体において参考として援用される）に記載される。

【0292】

5. 投与量および単位剤形

ヒト治療剤において、医師は、防止的処置または治療的処置に従って、ならびに年齢、体重、状態および処置されるべき被験体に特異的な他の因子に従って、その医師が最も適切と考える薬量（posology）を決定する。

20

【0293】

ある種の実施形態において、本明細書で提供される組成物は、薬学的組成物または単一の単位剤形である。本明細書で提供される薬学的組成物および単一の単位剤形は、予防上または治療上有効な量の 1 またはこれより多くの予防的または治療的 ABP を含む。

【0294】

障害または 1 もしくはこれより多くのその症状の防止または処置において有効であるその ABP または組成物の量は、その疾患または状態の性質および重篤度、ならびにその ABP が投与される経路とともに変動する。その頻度および投与量はまた、投与されるその具体的な治療（例えば、治療剤または予防剤）、その障害、疾患、もしくは状態の重篤度、投与経路、ならびにその被験体の年齢、体重、応答、および過去の病歴に依存して、各被験体に対して特異的な因子に従って変動する。有効用量は、インビトロまたは動物モデル試験系から得られる用量応答曲線から外挿され得る。

30

【0295】

ある種の実施形態において、組成物の例示的用量は、被験体の 1 キログラムまたはサンプル重量あたりの ABP のミリグラム量またはマイクログラム量（例えば、約 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ~ 約 $50 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ ~ 約 $25 \text{mg}/\text{kg}$ 、または約 $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ ~ 約 $10 \text{mg}/\text{kg}$ ）を含む。ある種の実施形態において、ABP の重量に基づいて、被験体における障害または 1 もしくはこれより多くのその症状を防止する、処置する、管理する、または改善するために投与される本明細書で提供される ABP の投与量は、被験体の体重で $0.1 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $1 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $2 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $3 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $4 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $5 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $6 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $10 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $15 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $20 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $25 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $30 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $40 \text{mg}/\text{kg}$ 、またはこれより多い。本明細書で開示される範囲の外の ABP の投与量を使用することも、いくつかの症例では、当業者により明らかであるように、必要である。さらに、臨床医または処置する医師が、被験体応答に関連して治療をどのようにしてかついつ中断、調節、または終了するかを知ることが、注記される。

40

【0296】

当業者によって容易に知られるように、異なる治療上有効な量が異なる疾患および状態に適用可能であり得る。同様に、このような障害を防止する、管理する、処置するまたは

50

改善するために十分であるが、本明細書で提供される A B P と関連する有害作用を引き起こすには不十分であるか、または低減するために十分である量はまた、本明細書で提供される投与量および投与頻度スケジュールによって包含される。さらに、被験体が本明細書で提供される組成物の複数の投与量を投与される場合、その投与量の全てが同じである必要はない。例えば、その被験体に投与される投与量は、その組成物の予防的または治療的効果を改善するために増加してよい、またはそれは、特定の被験体が経験している 1 またはこれより多くの副作用を低減するために減少させてよい。

【 0 2 9 7 】

ある種の実施形態において、処置または防止は、本明細書で提供される A B P または組成物の 1 またはこれより多くの負荷用量で開始され、1 またはこれより多くの維持用量がこれに続き得る。

10

【 0 2 9 8 】

ある種の実施形態において、本明細書で提供される A B P または組成物の用量は、その被験体の血液または血清中の A B P の定常状態濃度を達成するために投与され得る。その定常状態濃度は、当業者に利用可能な技術に従う測定によって決定され得るか、または被験体の身体的特徴（例えば、身長、体重および年齢）に基づき得る。

【 0 2 9 9 】

ある種の実施形態において、同じ組成物の投与が反復され得、その投与は、少なくとも 1 日間、2 日間、3 日間、5 日間、10 日間、15 日間、30 日間、45 日間、2 ヶ月間、75 日間、3 ヶ月間、または 6 ヶ月間隔てられ得る。他の実施形態において、同じ組成物の投与が反復され得、その組成物は、1 週間に 1 回、2 週間ごとに 1 回、3 週間ごとに 1 回、または 4 週間ごとに 1 回、与えられ得る。ある種の実施形態において、その患者に投与される第 1 の用量は、「負荷用量 (loading dose)」であり得る。負荷用量は、その後の用量より高い用量であり得る。

20

【 0 3 0 0 】

本開示の他の箇所でもより詳細に考察されるように、本明細書で提供される A B P は必要に応じて、疾患または障害を防止または処置するために有用な 1 またはこれより多くのさらなる薬剤とともに投与され得る。このようなさらなる薬剤の有効量は、その製剤中に存在する A B P の量、障害または処置のタイプ、および当該分野で公知または本明細書で記載される他の因子に依存し得る。

30

【 0 3 0 1 】

6 . 治療適用

治療適用に関して、本発明の A B P は、薬学的に受容可能な剤形（例えば、当該分野で公知のものおよび上記で考察されるものなど）において、哺乳動物（一般にはヒト）に投与される。例えば、本発明の A B P は、ボラスとしてまたはある期間にわたる連続注入によって静脈内に、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、滑液包内、髄腔内 (intrathecal)、または腫瘍内の経路によって、ヒトに投与され得る。その A B P はまた、局所のおよび全身的な治療効果を発揮するために、腫瘍周辺の、病変内の、または病変周辺の経路によって適切に投与される。腹腔内経路は、例えば、卵巣腫瘍の処置において特に有用であり得る。

40

【 0 3 0 2 】

本明細書で提供される A B P は、N R P - 1 が関わる任意の疾患または状態の処置に有用であり得る。いくつかの実施形態において、その疾患または状態は、抗 N R P - 1 A B P での処置から利益を受け得る疾患または状態である。いくつかの実施形態において、その疾患または状態は腫瘍である。いくつかの実施形態において、その疾患または状態は細胞増殖性障害である。いくつかの実施形態において、その疾患または状態はがんである。

【 0 3 0 3 】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、医薬としての使用のために提供される。いくつかの実施形態において、本明細書で提供される A B P は、医薬の製造または調製における使用のために提供される。いくつかの実施形態において、その医

50

薬は、抗NRP-1 ABPから利益を受け得る疾患または状態の処置のためのものである。いくつかの実施形態において、その疾患または状態は、腫瘍である。いくつかの実施形態において、その疾患または状態は、細胞増殖性障害である。いくつかの実施形態において、その疾患または状態は、がんである。いくつかの実施形態において、その疾患または状態は、ウイルス感染である。

【0304】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供されるABPを必要性のある被験体に投与することによる、その被験体において疾患または状態を処置するための方法が、本明細書で提供される。いくつかの局面において、その疾患または状態は、がんである。いくつかの局面において、その疾患または状態は、ウイルス感染である。

10

【0305】

任意の適切ながんは、本明細書で提供されるABPで処置され得る。例証的な適切ながんとしては、例えば、以下が挙げられる：急性リンパ芽球性白血病(ALL)、急性骨髄性白血病(AML)、副腎皮質癌、肛門がん、虫垂がん、星状細胞腫、基底細胞癌、脳腫瘍、胆管がん、膀胱がん、骨がん、乳がん、気管支腫瘍、原発不明の癌、心臓腫瘍、子宮頸がん、脊索腫、結腸がん、結腸直腸がん、頭蓋咽頭腫、腺管癌、胎児性腫瘍、子宮内膜がん、上衣腫、食道がん、鼻腔神経芽細胞腫、線維性組織球腫、ユーイング肉腫、眼のがん、胚細胞腫瘍、胆嚢がん、胃がん、消化管カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍、妊娠性絨毛疾患、神経膠腫、頭頸部がん、肝細胞がん、組織球症、ホジキンリンパ腫、下咽頭がん、眼内黒色腫、脾島細胞腫瘍、カポジ肉腫、腎臓がん、ランゲルハンス細胞組織球症、喉頭がん、口唇口腔がん、肝臓がん、上皮内小葉癌、肺がん、マクログロブリン血症、悪性線維性組織球腫、黒色腫、メルケル細胞癌、中皮腫、原発不明転移性扁平上皮性頸部がん、NUT遺伝子が関わる正中線癌、口腔がん、多発性内分泌腫瘍症候群、多発性骨髄腫、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄異形成/骨髄増殖性腫瘍、鼻腔および副鼻腔がん(nasal cavity and paranasal sinus cancer)、鼻咽頭がん、神経芽細胞腫、非小細胞肺がん、口腔咽頭がん、骨肉腫、卵巣がん、脾臓がん、乳頭腫症、パラガングリオーマ、副甲状腺がん、陰茎がん、咽頭がん、褐色細胞腫、下垂体腫瘍、胸膜肺芽腫、中枢神経系原発リンパ腫、前立腺がん、直腸がん、腎細胞がん、腎盂尿管がん、網膜芽腫、ラブドイド腫瘍、唾液腺がん、セザリー症候群、皮膚がん、小細胞肺がん、小腸がん、軟部組織肉腫、脊髄腫瘍、胃がん、T細胞リンパ腫、奇形腫様腫瘍、精巣がん、咽喉がん、胸腺腫および胸腺癌、甲状腺がん、尿道がん、子宮がん、膣がん、外陰がん、およびウィルムス腫瘍。

20

30

【0306】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供されるABPを必要性のある被験体に投与することによる、その被験体の標的細胞においてNRP-1をアンタゴニズするための方法が、本明細書で提供される。いくつかの局面において、本明細書で提供されるABPによるNRP-1のアンタゴニズムは、標的細胞による、IL-2、LT-、IL-6、TNF、GM-CSF、IFN またはこれらの組み合わせの増大した分泌を生じる。

【0307】

40

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供されるABPを必要性のある被験体に投与することによる、その被験体においてエフェクターT細胞の増殖、生存、および/または機能を増大するための方法が、本明細書で提供される。いくつかの局面において、そのエフェクターT細胞は、CD4+ エフェクターT細胞である。いくつかの局面において、そのエフェクターT細胞は、CD8+ エフェクターT細胞である。

【0308】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供されるABPを必要性のある被験体に投与することによる、その被験体において調節性T細胞によるエフェクターT細胞の抑制を抑止するための方法が、本明細書で提供される。いくつかの局面において、その調節性T細胞は、CD4+CD25+Foxp3+ 調節性T細胞である。いくつかの局

50

面において、その調節性 T 細胞は、C D 8 + C D 2 5 + 調節性 T 細胞である。

【 0 3 0 9 】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供される A B P を必要性のある被験体に投与することによる、その被験体においてナチュラルキラー (N K) 細胞、ナチュラルキラー T (N K T) 細胞、マクロファージ、または樹状細胞 (例えば、プラズマ細胞様樹状細胞) の活性を増大させるための方法が、本明細書で提供される。

【 0 3 1 0 】

いくつかの実施形態において、付随する血小板の低減なしに、がんを有する被験体を処置するための方法が、本明細書で提供される。いくつかの局面において、その方法は、被験体において血小板減少の実質的な量を生じない。

10

【 0 3 1 1 】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供される A B P を必要性のある被験体に投与することによる、その被験体において免疫応答を増強するための方法が、本明細書で提供される。

【 0 3 1 2 】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供される A B P を必要性のある被験体に投与することによる、その被験体において腫瘍の発生を遅延させるための方法が、本明細書で提供される。

【 0 3 1 3 】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供される A B P を必要性のある被験体に投与することによる、その被験体において腫瘍の発生を防止するための方法が、本明細書で提供される。

20

【 0 3 1 4 】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供される A B P を必要性のある被験体に投与することによる、その被験体においてがんの発生を遅延させるための方法が、本明細書で提供される。

【 0 3 1 5 】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供される A B P を必要性のある被験体に投与することによる、その被験体においてがんの発生を防止するための方法が、本明細書で提供される。

30

【 0 3 1 6 】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供される A B P を必要性のある被験体に投与することによる、その被験体において腫瘍のサイズを縮小するための方法が、本明細書で提供される。

【 0 3 1 7 】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供される A B P を必要性のある被験体に投与することによる、その被験体において転移の数を低減するための方法が、本明細書で提供される。

【 0 3 1 8 】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供される A B P を必要性のある被験体に投与することによる、その被験体においてウイルス力価を低減するための方法が、本明細書で提供される。

40

【 0 3 1 9 】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供される A B P を必要性のある被験体に投与することによる、その被験体において全生存期間、メジアン生存時間、または無増悪生存期間を延ばすための方法が、本明細書で提供される。

【 0 3 2 0 】

いくつかの実施形態において、有効量の本明細書で提供される A B P を標準治療の治療剤に抵抗性になった被験体に投与することによる、その被験体を処置するための方法が、本明細書で提供される。いくつかの実施形態において、その被験体が抵抗性になったその

50

標準治療の治療剤は、PD-1阻害剤である。他の実施形態において、その被験体が抵抗性になったその標準治療の治療剤は、PD-L1阻害剤である。他の実施形態において、その被験体が抵抗性になったその標準治療の治療剤は、CTLA-4阻害剤である。

【0321】

7. 併用療法

いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPは、少なくとも1つのさらなる治療剤とともに投与される。任意の適切なさらなる治療剤は、本明細書で提供されるABPとともに投与され得る。いくつかの局面において、そのさらなる治療剤は、放射線、細胞傷害性薬剤、化学療法剤、細胞増殖抑制剤、抗ホルモン剤、EGFR阻害剤、免疫刺激剤、抗血管新生剤、およびこれらの組み合わせから選択される。

10

【0322】

いくつかの実施形態において、そのさらなる治療剤は免疫刺激剤を含む。

【0323】

いくつかの実施形態において、その免疫刺激剤は、免疫細胞の阻害性レセプターまたはそのリガンドのシグナル伝達を遮断する薬剤である。いくつかの局面において、その阻害性レセプターまたはリガンドは、PVRIG、VISTA、CCR4、CD27、CTLA-4、PD-1、PD-L1、LAG-3、Tim3、TIGIT、ニューリチン、BTLA、KIR、およびこれらの組み合わせから選択される。いくつかの局面において、その薬剤は、抗PD-1抗体（例えば、ペンブロリズマブまたはニボルマブ）、およびPD-L1抗体（例えば、アテゾリズマブ）、抗CTLA-4抗体（例えば、イビリムマブ）、およびこれらの組み合わせから選択される。いくつかの局面において、その薬剤は、ペンブロリズマブである。いくつかの局面において、その薬剤は、ニボルマブである。いくつかの局面において、その薬剤は、アテゾリズマブである。

20

【0324】

いくつかの実施形態において、そのさらなる治療剤は、PD-1とPD-L1との間の相互作用を阻害する薬剤である。いくつかの局面において、PD-1とPD-L1との間の相互作用を阻害するそのさらなる治療剤は、抗体、ペプチド模倣物および低分子から選択される。いくつかの局面において、PD-1とPD-L1との間の相互作用を阻害するそのさらなる治療剤は、ペンブロリズマブ、ニボルマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、BMS-936559、スルファモノメトキシニン1 (sulfamonomethoxine 1)、およびスルファメチゾール2から選択される。いくつかの実施形態において、PD-1とPD-L1との間の相互作用を阻害するそのさらなる治療剤は、例えば、Weinmannら, Chem Med Chem, 2016, 14: 1576 (DOI: 10.1002/cmdc.201500566) (その全体において参考として援用される)に記載されるように、このような活性を有することが当該分野で公知の任意の治療剤である。いくつかの実施形態において、PD-1とPD-L1との間の相互作用を阻害するその薬剤は、本明細書で提供されるABPと同じ薬学的組成物中に製剤化される。いくつかの実施形態において、PD-1とPD-L1との間の相互作用を阻害するその薬剤は、本明細書で提供されるABPとは異なる薬学的組成物中に製剤化される。いくつかの実施形態において、PD-1とPD-L1との間の相互作用を阻害するその薬剤は、本明細書で提供されるABPを投与する前に投与される。いくつかの実施形態において、PD-1とPD-L1との間の相互作用を阻害するその薬剤は、本明細書で提供されるABPを投与した後に投与される。いくつかの実施形態において、PD-1とPD-L1との間の相互作用を阻害するその薬剤は、本明細書で提供されるABPと同時に投与されるが、その薬剤およびABPは、別個の薬学的組成物において投与される。

30

40

【0325】

いくつかの実施形態において、その免疫刺激剤は、単独でかつその推奨される投与量で投与される場合、その被験体においてある種の量の血小板減少を生じる薬剤である。いくつかの局面において、このような薬剤は、本明細書で提供されるABPと組み合わせて、

50

低減した投与量で投与され得る。このような併用療法は、実質的な血小板悪化 (platelet deterioration) または血小板減少症を生じることなく、安全に投与され得る。

【0326】

いくつかの実施形態において、その免疫刺激剤は、免疫細胞の共刺激レセプターのアゴニストである。いくつかの局面において、その共刺激レセプターは、OX40、ICOS、CD28、CD37、GITR、CD40、および4-1BB、ならびにこれらの組み合わせから選択される。いくつかの実施形態において、そのアゴニストは、抗体である。

【0327】

いくつかの実施形態において、その免疫刺激剤はサイトカインである。いくつかの局面において、そのサイトカインは、IL-2、IL-5、IL-7、IL-12、IL-15、IL-21、およびこれらの組み合わせから選択される。

10

【0328】

いくつかの実施形態において、その免疫刺激剤は腫瘍溶解性ウイルスである。いくつかの局面において、その腫瘍溶解性ウイルスは、単純ヘルペスウイルス、水疱性口内炎ウイルス、アデノウイルス、ニューカッスル病ウイルス、ワクシニアウイルス、およびマラバウイルスから選択される。

【0329】

いくつかの実施形態において、その免疫刺激剤は、キメラ抗原レセプターを有するT細胞 (CAR-T細胞) である。いくつかの実施形態において、その免疫刺激剤は、二重特異的または多重特異的なT細胞指向性抗体である。いくつかの実施形態において、その免疫刺激剤は、抗TGF-β抗体である。いくつかの実施形態において、その免疫刺激剤は、TGF-βトラップである。

20

【0330】

いくつかの実施形態において、そのさらなる治療剤は、腫瘍抗原に対するワクチンである。任意の適切な抗原は、その抗原が本明細書で提供される方法によって処置される腫瘍に存在することを条件として、そのワクチンによって標的化され得る。いくつかの局面において、その腫瘍抗原は、正常組織中のその発現レベルとの比較において過剰発現される腫瘍抗原である。いくつかの局面において、その腫瘍抗原は、がん精巣抗原、分化抗原、NY-ESO-1、MAGE-A1、MART-1、およびこれらの組み合わせから選択される。

30

【0331】

さらなる治療剤のさらなる例としては、タキサン (例えば、パクリタキセルまたはドセタキセル) ; 白金薬剤 (例えば、カルボプラチン、オキサリプラチン、および/またはシスプラチン) ; トポイソメラーゼ阻害剤 (例えば、イリノテカン、トポテカン、エトポシド、および/またはミトキサントロン) ; フォリン酸 (例えば、ロイコボリン) ; またはヌクレオシド代謝阻害剤 (例えば、フルオロウラシル、カベシタピン、および/またはゲムシタピン) が挙げられる。いくつかの実施形態において、そのさらなる治療剤は、フォリン酸、5-フルオロウラシル、および/またはオキサリプラチンである。いくつかの実施形態において、そのさらなる治療剤は、5-フルオロウラシルおよびイリノテカンである。いくつかの実施形態において、そのさらなる治療剤は、タキサンおよび白金薬剤である。いくつかの実施形態において、そのさらなる治療剤は、パクリタキセルおよびカルボプラチンである。いくつかの実施形態において、そのさらなる治療剤は、ペメトレキセート (pemetrexate) である。いくつかの実施形態において、そのさらなる治療剤は、標的化治療剤 (例えば、EGFR、RAFまたはMEK標的化薬剤) である。

40

【0332】

そのさらなる治療剤は、任意の適切な手段によって投与され得る。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPおよびそのさらなる治療剤は、同じ薬学的組成物の中に含まれる。いくつかの実施形態において、本明細書で提供されるABPおよびそのさらなる治療剤は、異なる薬学的組成物の中に含まれる。

50

【 0 3 3 3 】

本明細書で提供される A B P およびそのさらなる治療剤が異なる薬学的組成物の中に含まれる実施形態において、その A B P の投与は、そのさらなる治療剤の投与の前、同時、および / または後に行い得る。いくつかの局面において、本明細書で提供される A B P およびそのさらなる治療剤の投与は、互いの約 1 ヶ月間以内に行う。いくつかの局面において、本明細書で提供される A B P およびそのさらなる治療剤の投与は、互いの約 1 週間以内に行う。いくつかの局面において、本明細書で提供される A B P およびそのさらなる治療剤の投与は、互いの約 1 日間以内に行う。いくつかの局面において、本明細書で提供される A B P およびそのさらなる治療剤の投与は、互いの約 1 2 時間以内に行う。いくつかの局面において、本明細書で提供される A B P およびそのさらなる治療剤の投与は、互いの約 1 時間以内に行う。

10

【 0 3 3 4 】

8 . キット

本明細書で提供される A B P を含むキットも提供される。そのキットは、本明細書で記載されるように、疾患または障害の処置、防止、および / または診断のために使用され得る。

【 0 3 3 5 】

いくつかの実施形態において、そのキットは、容器およびその容器上またはその容器と関連付けられたラベルまたは添付文書を含む。適切な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、および I V 液剤バッグが挙げられる。その容器は、種々の材料（例えば、ガラスまたはプラスチック）から形成され得る。その容器は、組成物であって、単独で、または別の組成物と組み合わせられる場合に、疾患または障害の処置、防止、および / または診断に有効である組成物を保持する。その容器は、無菌アクセスポートを有し得る。例えば、その容器が静脈内液剤バッグまたはバイアルである場合、その容器は、針によって穿刺され得るポートを有し得る。その組成物中の少なくとも 1 つの活性薬剤は、本明細書で提供される A B P である。そのラベルまたは添付文書は、その組成物が選択された状態を処置するために使用されることを示す。

20

【 0 3 3 6 】

いくつかの実施形態において、そのキットは、（ a ）本明細書で提供される A B P を含む第 1 の組成物をその中に含む第 1 の容器；および（ b ）さらなる治療剤を含む第 2 の組成物をその中に含む第 2 の容器を含む。本発明のこの実施形態におけるキットは、その組成物が特定の状態を処置するために使用され得ることを示す添付文書をさらに含み得る。

30

【 0 3 3 7 】

代わりに、またはさらに、そのキットは、薬学的に受容可能な賦形剤を含む第 2 の（または第 3 の）容器をさらに含み得る。いくつかの局面において、その賦形剤はバッファである。そのキットは、商業的およびユーザーの観点から望ましい他の材料（フィルタ、針、およびシリンジが挙げられる）をさらに含み得る。

【実施例】

【 0 3 3 8 】

以下は、本発明の方法および組成物の例である。本明細書で提供される一般的記載を考慮すれば、種々の他の実施形態が実施され得ることは、理解される。

40

【 0 3 3 9 】

実施例 1 . 抗体選択

材料および方法

Pierce の E Z - L i n k S u l f o - N H S - B i o t i n y l a t i o n K i t を使用して、抗原をビオチン化した。ヤギ F (a b ')₂ 抗ヒト - F I T C (L C - F I T C)、E x t r A v i d i n - P E (E A - P E) および S t r e p t a v i d i n - A F 6 3 3 (S A - 6 3 3) を、それぞれ、S o u t h e r n B i o t e c h、S i g m a、および M o l e c u l a r P r o b e s から得た。S t r e p t a v i d i n M i c r o B e a d s および M A C S L C 分離カラムを、M i l t e n y i B i o t e

50

cから購入した。ヤギ抗ヒトIgG-PE(Human-PE)を、Southern Biotechから得た。

【0340】

ナイーブディスカバリー

8つのナイーブヒト合成酵母ライブラリー(各々約 10^9 の多様性)を、以前に記載されるように増殖させた(例えば、Y. Xuら, Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system: a FACS-based, high-throughput selection and analytical tool. PEDS 26.10, 663-70 (2013); WO2009036379; WO2010105256; およびWO2012009568を参照のこと)。最初の2回の選択ラウンドについては、Miltenyi MACSシステムを利用する磁性ビーズソート技術を、以前に記載されるように行った(例えば、Siegelら, High efficiency recovery and epitope-specific sorting of an scFv yeast display library. J Immunol Methods 286(1-2), 141-153 (2004)を参照のこと)。簡潔には、酵母細胞(約 10^{10} 細胞/ライブラリー)を、5mlの100nM ビオチン化抗原とともに30分間、30において洗浄緩衝液(リン酸緩衝化生理食塩水(PBS)/0.1% ウシ血清アルブミン(BSA))中でインキュベートした。40ml 氷冷洗浄緩衝液で1回洗浄した後、その細胞ペレットを、20ml 洗浄緩衝液中に再懸濁し、Streptavidin MicroBeads(500 μ l)をその酵母に添加し、15分間、40においてインキュベートした。次に、その酵母をペレットにし、20ml 洗浄緩衝液中に再懸濁し、Miltenyi LSカラムにロードした。その20mlをロードした後、そのカラムを、3ml 洗浄緩衝液で3回洗浄した。次いで、そのカラムを磁場から外し、その酵母を5mlの増殖培地で溶離し、次いで、一晚増殖させた。以下の選択ラウンドを、フローサイトメトリーを使用して行った。およそ 2×10^7 酵母をペレットにし、洗浄緩衝液で3回洗浄し、30において、平衡条件下で、漸減濃度のビオチン化抗原(100~1nM)とともに種交差反応性を得るために異なる種の100nM ビオチン化抗原とともに、または選択から非特異的抗体を除去するために多重特異性除去試薬(poly-specificity depletion reagent)(PSR)とともにインキュベートした。そのPSR除去のために、そのライブラリーを、以前に記載されるようにビオチン化PSR試薬の1:10希釈物とともにインキュベートした(例えば、Y. Xuら, Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system: a FACS-based, high-throughput selection and analytical tool. PEDS 26.10, 663-70 (2013)を参照のこと)。次いで、酵母を洗浄緩衝液で2回洗浄し、LC-FITC(1:100希釈)およびSA-633(1:500希釈)またはEAPE(1:50希釈)二次試薬のいずれかで、15分間、40において染色した。洗浄緩衝液で2回洗浄した後に、その細胞ペレットを、0.3ml 洗浄緩衝液中に再懸濁し、ストレーナーキャップ付きのソートチューブ(strainer-capped sort tube)に移した。FACS ARIAソーター(BD Biosciences)を使用してソーティングを行い、ソートゲートを、所望の特徴を有する抗体を選択するために決定した。選択ラウンドを、その所望の特徴の全てを有する集団が得られるまで反復した。最終ラウンドのソーティングの後に、酵母をプレートし、個々のコロニーを特徴付けのために拾い上げた。

【0341】

抗体最適化

抗体の最適化を、軽鎖多様化プロトコルを介して、次いで、以下に記載されるように重

10

20

30

40

50

鎖可変領域および軽鎖可変領域へと多様性を導入することによって行った。これらのアプローチのうちのいくつかの組み合わせは、各抗体のために使用した。

【0342】

軽鎖バッチ多様化プロトコル： ナイーブ選択アウトプットからの重鎖プラスミドを、その酵母からスマッシュアンドグラブ法 (smash and grab) を介して抽出し、E. coli 中で増殖させ、その後、E. coli から精製し、 5×10^6 の多様性を有する軽鎖ライブラリーへと形質転換した。ナイーブディスカバリーと同じ条件を使用し、1ラウンドのMACSおよび4ラウンドのFACSで選択を行った。

【0343】

CDRH1およびCDRH2選択： 単一の抗体のCDRH3を、 1×10^8 の多様性のCDRH1およびCDRH2バリエーションを有する予め作製したライブラリーへと組換え、ナイーブディスカバリーに記載されるように1回のMACSラウンドおよび4回のFACSラウンドで選択を行った。各FACSラウンドのために、そのライブラリーをPSR結合、種交差反応性、および親和性圧に関して調べ、所望の特徴を有する集団を得るためにソーティングを行った。

10

【0344】

V_H変異体選択： 重鎖可変領域 (V_H) を、エラープローンPCRを介して変異誘発した。次いで、そのライブラリーを、この変異誘発したV_Hおよび重鎖発現ベクターを、その親の軽鎖プラスミドを既に含む酵母へと形質転換することによって作り出した。2回のラウンドにわたるFACSソートを使用して、以前のサイクルに類似の選択を行った。各FACSラウンドのために、そのライブラリーをPSR結合、種交差反応性、および親和性圧に関して調べ、所望の特徴を有する集団を得るためにソーティングを行った。

20

【0345】

抗体生成および精製

酵母クローンを飽和するまで成長させ、次いで、48時間、30℃において振盪しながら誘導した。誘導後、酵母細胞をペレットにし、精製するためにその上清を採取した。プロテインAカラムを使用し、酢酸 (pH 2.0) で溶離して、IgGを精製した。Fabフラグメントを、パパイン消化によって生成し、KappaSelect (登録商標) (GE Healthcare Life Sciences) で精製した。

【0346】

ForteBio K_D測定

ForteBio親和性測定を、概して以前に記載されるようにOctetRED384で行った (例えば、Estepら, High throughput solution-based measurement of antibody-antigen affinity and epitope binning. Mabs 5(2), 270-278 (2013) を参照のこと)。簡潔には、ForteBio親和性測定を、IgGをAHQセンサーにオンラインで負荷することによって行った。センサーを、アッセイ緩衝液中、オフラインで30分間平衡化し、次いで、ベースライン確立のために60秒間オンラインでモニターした。IgGが負荷されたセンサーを、100 nM 抗原に3分間曝し、その後、オフ速度 (off-rate) 測定のために3分間アッセイ緩衝液に移した。一価親和性評価のために、FabをIgGの代わりに使用した。この評価のために、非ビオチン化Fc融合抗原を、AHQセンサーにオンラインで負荷した。センサーを、アッセイ緩衝液中、オフラインで30分間平衡化し、次いで、ベースライン確立のために60秒間オンラインでモニターした。抗原が負荷されたセンサーを、200 nM Fabに3分間曝し、その後、それらをオフ速度測定のために3分間アッセイ緩衝液に移した。全ての動力学を、1:1結合モデルを使用して分析した。

30

40

【0347】

ForteBioエピトープビニング/リガンドブロッキング

エピトープビニング/リガンドブロッキングを、標準的なサンドイッチ形式の交差遮断アッセイを使用して行った。コントロール抗標的IgGをAHQセンサーに負荷し、その

50

センサー上の占有されていないFc-結合部位を、無関係のヒトIgG1抗体で遮断した。次いで、そのセンサーを、100 nM 標的抗原に曝し、続いて、第2の抗標的抗体またはリガンドに曝した。抗原会合後のその第2の抗体またはリガンドによるさらなる結合は、占有されていないエピトープ（非競合物（non-competitor））を示す一方で、結合なしは、エピトープ遮断（競合物またはリガンドブロッキング）を示す。

【0348】

サイズ排除クロマトグラフィー

TSK gel（登録商標）Super SW mAb HTPカラム（22855）を、6分/実行のサイクルタイムで、0.4 mL/分での、哺乳動物が生成したmAbのファストSEC分析（fast SEC analysis）のために使用した。200 mM

10

【0349】

ダイナミックスキャニング蛍光定量法

10 µLの20 x Sypro Orangeを、20 µLの0.2 ~ 1 mg/mL mAbまたはFab溶液に添加する。RT-PCR機器（BioRad CFX96 RT PCR）を使用して、サンプルプレート温度を40 から95 へと0.5℃刻みで、各温度で2分間平衡化して、徐々に上げる。生データについて負の一次導関数を、T_mを抽出するために使用する。

【0350】

実施例2．抗体特徴付け

20

ForteBio K_D測定： 組換えモノマーヒト、マウス、またはカニクイザルNRP-1に対する抗体の定量的結合を、FORTEBIO（登録商標）を使用するバイオレイヤー干渉法（BLI）を使用して測定した。選択された抗体の親和性測定を、Estepら、Mabs, 2013, 5:270-278（その全体において参考として援用される）に一般的に記載されるように行った。FORTEBIO親和性測定を、IgG（ヒトIgG1 N297A）をAHQセンサーにオンラインで負荷することによって行った。センサーを、アッセイ緩衝液中、オフラインで30分間平衡化し、次いで、ベースライン確立のために60秒間オンラインでモニターした。IgGが負荷されたセンサーを、単一の濃度の抗原（100 nM）に3分間曝した。その後、それらをオフ速度（off-rate）測定のために3分間アッセイ緩衝液に移した。動力学を、1:1結合モデルを使用して分析した。単一の濃度のヒト、カニクイザル、およびマウスNRP-1に結合する抗体に関するK_D測定値のまとめを、以下の表5に示す。

30

【0351】

さらなるK_D測定を、多濃度動力学を使用して、8種の抗体（ヒトIgG4 S228P）で行った。ヒトNRP-1-His、カニクイザルNRP-1-His、およびマウスNRP-1-Hisに対する結合親和性を、Octet QKe機器（ForteBio）を使用して測定した。センサー上での抗体の捕捉、続いて、モノマーNRP-1タンパク質の会合/解離というストラテジーを使用して、そのアッセイにおける結合力効果を回避した。そのBLI分析を、30 において、1x 動力学緩衝液（ForteBio, Inc.）をアッセイ緩衝液として使用して行った。抗ヒトIgG Fc Capture（AHC）バイオセンサー（ForteBio）を先ず、5分間より長く、アッセイ緩衝液中に予め浸漬した。試験抗体（5 µg/mL）を、250秒間、センサー上に捕捉した。次いで、センサーをアッセイ緩衝液に60秒間浸して、ベースラインを確立し、その後、各NRP-1タンパク質への結合を測定した。次いで、センサーを、種々の濃度のヒトNRP-1-His（93.3 ~ 0.7 nM、アッセイ緩衝液中で2倍希釈）、カニクイザルNRP-1-His（93.3 ~ 1.5 nM、アッセイ緩衝液中で2倍希釈）、またはマウスNRP-1-His（93.3 ~ 1.5 nM、アッセイ緩衝液中で2倍希釈）へと250秒間浸して、会合を測定した。次いで、NRP-1の解離を、センサーをアッセイ緩衝液に600秒間浸すことによって測定した。全ての工程での攪拌は、1000 rpmであった。動力学的パラメーターを、参照の差し引き（緩衝液への抗体「結合」）、解

40

50

離ベースの工程内補正、1 : 1 結合モデル、およびグローバルフィット（センサーによって連結されない Rmax）を使用して、Octet Data Analysis Software Version 8.2.0.7で生成した。K_D値を、表6に示す。

【0352】

MSD-SET K_D測定： ヒトNRP-1に結合する選択された抗体の溶液平衡親和性測定を、以前に一般に記載されるように行った。Estepら，前出（その全体において参考として援用される）を参照のこと。簡潔には、溶液平衡滴定（SET）を、PBS + 0.1% IgG-Free BSA (PBSF) 中、10 ~ 100 pM で一定に保持された抗原とともにに行い、10 pM ~ 10 nM で出発して、FabまたはmAbの3 ~ 5倍系列希釈物とともにインキュベートした。抗体（PBS中20 nM）を、標準結合MSD-ECLプレート上に一晚4 または室温において、30分間被覆した。次いで、プレートを、BSAによって30分間、700 rpmにおいて振盪しながら遮断し、続いて、洗浄緩衝液（PBSF + 0.05% Tween（登録商標）20）で3回洗浄した。SETサンプルを適用し、そのプレート上で150秒間、700 rpmにおいて振盪しながらインキュベートし、続いて1回洗浄した。プレート上に捕捉した抗原を、そのプレート上で3分間インキュベートすることによって、PBSF中の250 ng/mL スルホタグ標識したストレプトアビジンで検出した。そのプレートを、洗浄緩衝液で3回洗浄し、次いで、界面活性剤を有する1x Read Buffer Tを使用して、MSD Sector Imager 2400機器で読み取った。そのパーセント遊離抗原を、Prismにおいて力価測定された抗体の関数としてプロットし、二次方程式に対してフィットさせて、そのK_Dを導いた。スループットを改善するために、液体取り扱いロボットを、SETサンプル調製を含め、MSD-SET実験全体を通じて使用した。

【表5】

表5. 抗体結合親和性-単一濃度動力学

MAB	ForteBio IgG K _D ヒト NRP-1 His (M) 一価	ForteBio IgG K _D カニクイザルNRP-1 His (M) 一価	ForteBio IgG K _D マウス NRP-1 His (M) 一価	MSD Fab K _D ヒト NRP-1 His (M) 一価
1	1.87E-09	2.16E-09	2.12E-09	3.20E-10
2	1.86E-09	2.43E-09	1.94E-09	2.30E-10
3	1.08E-09	1.19E-09	9.90E-10	6.00E-11
4	8.51E-10	9.25E-10	7.46E-10	4.60E-11
5	3.23E-09	4.09E-09	5.06E-09	2.80E-10
6	4.72E-09	5.54E-09	6.98E-09	4.50E-10
7	1.12E-08	1.09E-08	1.47E-08	N.D.
8	6.13E-10	6.42E-10	5.52E-10	9.60E-11
9	6.45E-10	6.43E-10	5.66E-10	1.90E-11
10	8.68E-10	8.66E-10	7.46E-10	6.40E-11
11	4.85E-10	4.80E-10	4.46E-10	2.10E-11
12	4.81E-10	4.69E-10	4.40E-10	2.60E-11
13	1.41E-09	1.58E-09	7.42E-09	5.40E-10
14	1.12E-09	1.10E-09	5.00E-09	2.80E-10
15	8.51E-10	9.20E-09	5.41E-08	1.80E-10

10

20

30

40

50

【表 6】

表6. 抗体結合親和性-複数濃度動力学

MAB	ForteBio IgG K _D ヒト NRP-1 His (M) 一価	ForteBio IgG K _D カニクイザル NRP-1 His (M) 一価	ForteBio IgG K _D マウス NRP-1 His (M) 一価
MAB2 I111T* IgG4 S228P	2.8E-09	5.5E-09	4.6E-09
MAB2 IgG4 S228P	2.4E-09	4.5E-09	5.1E-09
MAB3 IgG4 S228P	3.7E-09	7.3E-09	4.4E-09
MAB4 IgG4 S228P	3.1E-09	4.5E-09	2.3E-09
MAB5 IgG4 S228P	8.4E-09	1.2E-08	6.6E-09
MAB12 IgG4 S228P	1.2E-10	1.9E-10	1.6E-10
MAB13 IgG4 S228P	9.6E-10	9.4E-10	3.7E-09
MAB14 IgG4 S228P	8.7E-10	7.4E-10	2.7E-09

実施例 3 . 9 種の抗 N R P - 1 M A B 単独でのおよび P D - 1 または P D - L 1 抗体と組み合わせての抗腫瘍有効性

9 種の最適化した抗体を、免疫適格性マウスを使用して抗腫瘍有効性に関して評価した。そのアッセイを、M A B 2、M A B 3、M A B 4、M A B 5、M A B 7、M A B 1 2、M A B 1 3、M A B 1 4、および M A B 1 5 のマウスバージョンの一団、ならびに比較因子としての I g G コントロールおよび S E C 1 0 (配列番号 1 4 1 ~ 1 4 2) で行った。その抗体を、A D C C および C D C エフェクター細胞を止める N 2 9 7 A 変異を含むキメラマウス I g G 2 a 抗体として試験した。抗腫瘍有効性を、雌性 B A L B / c マウスにおいて増殖させたマウス結腸 C T 2 6 同系腫瘍モデルを使用して測定した。3 × 1 0⁵ マウス C T 2 6 細胞を、1 日目に皮下移植した。そのマウスを、体重に基づいてランダム化し、抗体を、腫瘍細胞移植と同日に、示された用量で腹腔内投与した。その抗 N R P - 1 抗体を、単剤療法として 5 0 0 μ g / 用量においてまたは 2 0 0 μ g / 用量で使用する抗 P D - 1 免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与した。図 1 A は、C T 2 6 モデルにおける抗体の単剤療法効果を示し、図 1 B は、抗 N R P - 1 抗体と抗 P D - 1 との併用の効果を示す。水平軸に沿った黒の矢印は、抗体の処置日数を示す。1 0 匹 / 群のマウスの平均腫瘍容積を、各処置群に対して示す。

【 0 3 5 3 】

図 1 C は、マウス結腸 C T 2 6 同系腫瘍モデルにおいて m M A B 1 2 単独および抗 P D - 1 チェックポイント抗体との併用を比較する、図 1 A および 1 B からのデータの部分セットを示す。5 0 0 μ g / 動物での m M A B 1 2 は、コントロール抗体処置マウスと比較して、腫瘍成長を 6 1 . 6 % T G I (腫瘍成長阻害) 阻害した。この効果は、スチューデントの t 検定によって統計的に有意であった (p < 0 . 0 5)。2 0 0 μ g / 動物で投与したその抗 P D - 1 チェックポイント抗体は、m M A B 1 2 より効果的ではなかった (3 7 . 8 % T G I、p < 0 . 0 5)。しかし、m M A B 1 2 と P D - 1 抗体との併用は、その単剤療法処置と比較して、相加的な抗腫瘍有効性を生じた (7 9 . 0 % T G I、p < 0 . 0 0 1)。その併用の効果は、P D - 1 および m M A B 1 2 と比較した場合に統計的に有意であった (両方の場合で p < 0 . 0 5)。m M A B 1 2 群における 1 つの非処置関連死のマウスを除いて、その処置クールにわたって全て体重が増大した処置マウスは、都合の悪い毒性を示さなかった。

【 0 3 5 4 】

その同じ 9 種の抗体を、第 2 の腫瘍モデルであるマウス結腸 M C 3 8 同系モデルにおいて評価した。5 × 1 0⁵ マウス M C 3 8 細胞を、雌性 C 5 7 B 1 / 6 マウスへと皮下移植した。そのマウスを、その腫瘍が平均腫瘍容積 6 0 m m³ ~ 9 0 m m³ に達した場合に

処置群へとランダム化し、続いて、1日目に処置を開始した。その抗NRP-1抗体を、500 µg / 用量での単剤療法または250 µg / 用量で使用する抗PD-L1免疫チェックポイント阻害剤との併用において投与した。その抗PD-L1抗体は、PD-1抗体と同じチェックポイント経路で機能する。図2Aは、MC38モデルにおける抗体の単剤療法効果を示し、図2Bは、抗NRP-1抗体と抗PD-L1との併用の効果を示す。水平軸に沿った黒の矢印は、処置日数を示す。10匹のマウス / 群の平均腫瘍容積を、各処置群に対して示す。

【0355】

MC38同系結腸マウス腫瘍モデルにおけるmMAB12の抗腫瘍有効性を、図2Cに示す。500 µg / 動物でのmMAB12は、コントロール抗体処置マウスと比較して、腫瘍成長を77.3% TGI (p < 0.05) 阻害した。そのMC38モデルは、PD-1抗体遮断に非常に敏感である。従って、PD-1抗体と同じ免疫チェックポイント経路において機能する、250 µg / 動物でのPD-L1に対する抗体を使用して、潜在的な併用の利益を示した。予測されるように、PD-L1単剤療法は、腫瘍成長を77.5% TGI (p < 0.05) において遮断した。しかし、mMAB12とPD-L1抗体との併用は、さらなる抗腫瘍利益を示さなかった(76.2% TGI)。CT26モデルと同様に、その処置クールにわたって全て体重が増大した処置マウスは、都合の悪い毒性を示さなかった。4種の抗体(MAB2、MAB5、MAB12、およびMAB13)を、CT26およびMC38研究におけるそれらの有効性に基づいて選択し、MC38モデルにおいて同じ条件下で(単独で、および抗PD-L1との組み合わせで)再度試験した。その反復MC38研究における知見から、有効性および寛容性に関する上記の知見が確認された。

【0356】

実施例4 . NRP-1リガンドの遮断の評価

組換えヒトNRP-1への組換えヒトSEMA3AおよびヒトVEGFAの結合を遮断する抗体の能力を測定する定量的リガンド遮断研究を、遮断ELISA (blocking ELISA) によって測定した。その抗体がSEMA3A / NRP-1相互作用を遮断する能力を測定するために、そのアッセイプレートに、PBS中2.5 µg / mLのヒトSEMA3Aで、一晚4 において被覆した。ビオチン化ヒトNRP-1 (1% BSA / PBS中500 ng / mL) を、アッセイプレートに添加する前に試験抗体 (30 ~ 0.002 µg / mL、1% BSA / PBS中4倍希釈) とともにインキュベートし、次いで、HRP結合体化ストレプトアビジン (1% BSA / PBS中1 : 200) を、SEMA3Aに結合したNRP-1の検出に使用した。簡潔には、抗体がそのVEGFA / NRP-1相互作用を遮断する能力を測定するために、そのアッセイプレートに、PBS中2.5 µg / mLのヒトNRP-1で、一晚4 において被覆した。試験抗体 (30 ~ 0.002 µg / mL、1% BSA / PBS中4倍希釈) を、そのアッセイプレートに添加する前に、VEGFA (125 ng / mL) とともにインキュベートし、ビオチン化抗VEGFA抗体 (1% BSA / PBS中0.2 µg / mL) を添加し、次いで、HRP結合体化ストレプトアビジン (1% BSA / PBS中1 : 200) を、NRP-1に結合したVEGFAの検出に使用した。SEMA3A / VEGFA結合を遮断する15のIgG1形式試験抗体に関するそのIC₅₀値を、表7に示す。

10

20

30

40

【表 7】

表7. IgG1形式抗体での遮断アッセイに関するIC₅₀値

MAB	SEMA3A/NRP-1 遮断 IC ₅₀ (nM)	VEGFA/NRP-1 遮断 IC ₅₀ (nM)
1	2.9	遮断なし
2	3.1	遮断なし
3	0.6	遮断なし
4	3.9	遮断なし
5	5.9	遮断なし
6	1.8	7.4
7	1.7	6.9
8	2.0	7.3
9	1.8	6.5
10	1.5	6.7
11	0.8	5.9
12	0.8	6.0
13	3.4	遮断なし
14	3.1	遮断なし
15	遮断なし	遮断なし

10

20

【0357】

8種のMABをIgG4 S228P形式に変換し、そのアッセイを反復した。その平均のまとめを、表8に示す。

【表 8】

表8. IgG4形式抗体での遮断アッセイに関する平均

MAB	SEMA3A/NRP-1 遮断 IC ₅₀ (nM)	n	VEGFA/NRP-1 遮断 IC ₅₀ (nM)	n
MAB2 I111T* IgG4 S228P	2.8	2	遮断なし	1
MAB2 IgG4 S228P	2.6	2	遮断なし	2
MAB3 IgG4 S228P	2.0	2	遮断なし	2
MAB4 IgG4 S228P	2.3	2	遮断なし	2
MAB5 IgG4 S228P	2.9	2	遮断なし	2
MAB12 IgG4 S228P	1.2	2	3.2	2
MAB13 IgG4 S228P	0.9	2	2.9	2
MAB14 IgG4 S228P	0.6	2	2.5	2

* ヒト化部位指向性変異

30

40

【0358】

実施例5. MAB12 対 SEC10のエピトープマッピング

MAB12およびSEC10のエピトープマッピングを、Octet（登録商標）QKe機器（FortéBio（登録商標））を使用するバイオレイヤー干渉法（BLI）を使用して測定した。5 μg/mLのMAB12またはSEC10を、抗ヒトFc AHCセンサー上に300秒間固定化した。次いで、センサーを、ベースライン決定のために、動力学緩衝液に浸した。次に、センサーを、200 μg/mLのヒトIgGに400秒間浸して、そのセンサー上のIgG Fc結合部位の全てを飽和させた。ベースライン決定の後に、そのセンサーを、100 nM ヒトNRP-1-HISに300秒間曝して、抗

50

原結合を可能にした。最後に、センサーを、 $20\text{ }\mu\text{g/mL}$ のMAB12またはSEC10のいずれかを含むウェルに300秒間移して、抗体結合を分析した。その試験抗体が最後の工程において明らかな結合を示した場合、それは非競合者（異なるエピトープピン）と見做され、その試験抗体が明らかな結合を示さなかった場合、それは競合者（同じエピトープピン）と見做される。

【0359】

結果を図3に示す。MAB12を捕捉し、次いでNRP-1を結合しても、SEC10がNRP-1に結合することを防止しない（上のパネル）。同様に、SEC10を捕捉し、次いでNRP-1を結合しても、MAB12がNRP-1に結合することも防止しない（下のパネル）。自己ビニング（例えば、MAB12を捕捉し、NRP-1に結合し、MAB12の結合を試験する）は、ビニングに関する陽性コントロールとして働いた。これらのデータは、MAB12およびSEC10がNRP-1に同時に結合し得、従って、異なるエピトープに結合しているはずであることを示す。

10

【0360】

実施例6．NRP-1ドメインへの抗NRP-1抗体の結合

ヒトNRP-1に結合する工程の近似の結合ドメインを理解するために、抗体がNRP-1細胞外領域の異なるドメインを含むNRP-1のフラグメントに結合する能力を、Octet（登録商標）QKe機器（ForteBio（登録商標））を使用して、BLIによって測定した。組換えヒトNRP-1-Fc融合タンパク質は、a1ドメイン、a1a2ドメイン、a1a2b1ドメイン、a2b1b2ドメイン、またはa1a2b1b2ドメインからなり、各タンパク質への抗体結合におけるその差異は、どの主要ドメインにその抗体が結合するかの決定をもたらした。そのBLI分析は、アッセイ緩衝液として1×動力学緩衝液（ForteBio）を使用して、29 または30 において行った。簡潔には、抗体（ $5\text{ }\mu\text{g/mL}$ ）を、抗ヒトIgG Fc（AHC）バイオセンサー上に250秒間捕捉した。次いで、センサーを、アッセイ緩衝液に（100秒間）浸して、各NRP-1タンパク質への結合を測定する前にベースラインを達成した。ヒトIgG Fc（実験に依存して、 150 nM 、 250 nM または 500 nM ）を使用して250秒間クエンチする工程を、次に行った。次いで、センサーを、 500 nM の各NRP-1タンパク質に300秒間浸し、続いて、アッセイ緩衝液中で900秒間または1000秒間、各NRP-1タンパク質の解離を行った。全ての工程に対して、実験に依存して900rpmまたは1000rpmの撹拌を行った。

20

30

【0361】

表9は、上記で記載されるアッセイの結果を示す。各抗体に関する結合ドメインは、最も右の列に示される。

40

50

【表 9】

表9. NRP1ドメイン結合特異性

抗体	a1	a1a2	a1a2b1	a2b1b2	a1a2b1b2	結合ドメイン
MAB1	-	+	+	+	+	a2
MAB2	-	+	+	+	+	a2
MAB3	+	+	+	+	+	a1
MAB4	+	+	+	+	+	a1
MAB5	-	+	+	+	+	a2
MAB6	-	+	+	+	+	a2
MAB7	-	-	-	+	+	b2
MAB8	-	-	+	+	+	b1
MAB9	-	-	+	+	+	b1
MAB10	-	-	+	+	+	b1
MAB11	-	-	+	+	+	b1
MAB12	-	-	+	+	+	b1
MAB13	-	-	+	+	+	b1
MAB14	-	-	+	+	+	b1
MAB15	+	+	+	-	+	a1
SEC10*	-	-/+	+	+	+	b1 と弱い a2
SEC3**	+	+	+	-	+	a1
MAB59941***	-	-	-	+	+	b2

* 配列番号 141-142

** Appleton ら, *The EMBO Journal* (2007) 26, 4902-4912に記載。

*** Delgoffe GM, Woo S-R, Turnis ME, Gravano DM, Guy C, Overacre AE, ら

Stability and function of regulatory T cells is maintained by a neuropilin-1-semaphorin-4a axis.

Nature 501(7466):252-6に記載。 R&D Systemsから入手可能。

【 0 3 6 2 】

実施例 7 : エピトープ決定のための変異分析

ヒト NRP1 の b1 ドメインへの MAB12 結合のエピトープを同定するために、単一の点変異を、ヒト NRP1 b1 ドメイン内に作製した。アラニン置換または NRP2 特異的残基のいずれかを使用した (MAB12 は、NRP2 に結合しない)。タンパク質は、HEK293 細胞において発現され、可溶性タンパク質として分泌され、Ni-NTA 樹脂上で精製され、SDS-PAGE によって特徴付けされた。結合を、Octet プラットフォームを使用するバイオレイヤー干渉法 (BLI) によって評価した。MAB12 を抗ヒトFcセンサー上に捕捉し、洗浄し、モノマーの野生型ヒト NRP1 b1 ドメインまたはモノマーの変異 NRP1 b1 のいずれかに曝した。その結合エピトープの一部と考えられた残基は、低減した結合 (例えば、野生型ヒト NRP1 b1 への結合のものより 5 倍小さい K_D (ご確認ください)) または結合なしを示した。単一の点変異 P317A、D320A、T349A、K352G、Y353A、Y354A、および T413A は、低減した結合を生じたのに対して、K351N および E412H は、結合を生じなかった。

【 0 3 6 3 】

実施例 8 : NRP1 と複合体化した MAB12 の構造決定

結合エピトープを、結晶学的研究を通じても同定した。MAB12 Fab を、ヒト N

R P 1 b 1 と複合体化し、サイズ排除クロマトグラフィーによって精製し、10 mg / ml へと濃縮した。結晶を 42 % PEG 200、HEPES pH 7 から成長させた。X 線データを、Argonne National Laboratories (GM / C A C A T 23 I D - D) において集め、CCP4 および Phenix を使用して処理した。重鎖および軽鎖から 3 . 8 の一定距離内の N R P 1 b 1 残基を、結合エピトープの一部と見做した。これは、Y 297、T 316、D 320、E 348、T 349、K 350、K 351、K 352、Y 353、Y 354、E 412、T 413、G 414 および I 415 を含む。

【0364】

実施例 9：M A B 1 2 のアミノ酸改変の分析

10

精製 M A B 1 2 のアミノ酸改変の分析から、重鎖の C 末端におけるリジンの欠失が精製抗体のうちの大部分で起こり、軽鎖の N 末端におけるグルタミン酸のピログルタミン化が精製抗体のうちのいくらかで起こることが示唆された。

【0365】

援用

本明細書で引用される全ての特許および非特許刊行物の全開示は、全ての目的のためにそれらの全体において各々参考として援用される。

【0366】

他の実施形態

上記で示される開示は、独立した有用性を有する複数の別個の発明を包含し得る。これらの発明の各々がその好ましい形態において開示されてきたが、本明細書で開示されかつ例証されるとおりのこれらの具体的実施形態が、限定する意味で考慮されるべきではない。なぜなら多くのバリエーションが可能だからである。本発明の主題は、本明細書で開示される種々の要素、特徴、機能、および / または特性の全ての新規かつ自明でない組み合わせおよび部分組み合わせを含む。以下の請求項は特に、新規かつ自明でないと考えられるある種の組み合わせおよび部分組み合わせを指し示す。特徴、機能、要素、および / または特性の他の組み合わせおよび部分組み合わせにおいて具現化される発明は、本出願において、本出願からの優先権を主張する出願において、または関連出願において特許請求されうる。このような請求項はまた、異なる発明に関しようが同じ発明に関しようが、そしてその元の請求項との比較において範囲がより広かろうが、より狭かろうが、等しかろうが、異なるうが、本開示の発明の主題の範囲内に含まれると考えられる。

20

30

40

50

【表 A - 1】

付表A: 配列参照表

配列 番号	分子	領域	配列
1	MAB1	VH FR1	QVQLVQSGAGVKKPGASVKVSCKASG
2	MAB2	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG
3	MAB3	VH FR1	QAQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG
2	MAB4	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG
2	MAB5	VH FR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG
4	MAB6	VH FR1	QVQLVQSGAKVKKPGASVKVSCKASG
5	MAB7	VH FR1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
6	MAB8	VH FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
6	MAB9	VH FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
6	MAB10	VH FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
6	MAB11	VH FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
6	MAB12	VH FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
7	MAB13	VH FR1	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYG
7	MAB14	VH FR1	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYG
7	MAB15	VH FR1	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYG
8	MAB1	VH CDR1	YTFRSYMYL
8	MAB2	VH CDR1	YTFRSYMYL
9	MAB3	VH CDR1	YTFSRYMH
9	MAB4	VH CDR1	YTFSRYMH
10	MAB5	VH CDR1	YTFTSYMH
10	MAB6	VH CDR1	YTFTSYMH
11	MAB7	VH CDR1	FTFSSYWME
12	MAB8	VH CDR1	FTFASYAMV
13	MAB9	VH CDR1	FTFKSYAMV
14	MAB10	VH CDR1	FTFSSVAMV
14	MAB11	VH CDR1	FTFSSVAMV
14	MAB12	VH CDR1	FTFSSVAMV
15	MAB13	VH CDR1	GSFRGYYWE
15	MAB14	VH CDR1	GSFRGYYWE
16	MAB15	VH CDR1	GSFVKYYWS
17	MAB1	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
17	MAB2	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
17	MAB3	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
17	MAB4	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
17	MAB5	VH FR2	WVRQAPGQGLEWMG
18	MAB6	VH FR2	WVRQVPGQGLEWMG
19	MAB7	VH FR2	WVRQAPGKGLEWVA
20	MAB8	VH FR2	WVRQAPGKGLEWVS
20	MAB9	VH FR2	WVRQAPGKGLEWVS
20	MAB10	VH FR2	WVRQAPGKGLEWVS
20	MAB11	VH FR2	WVRQAPGKGLEWVS
20	MAB12	VH FR2	WVRQAPGKGLEWVS
21	MAB13	VH FR2	WIRQPPGKGLEWIG
22	MAB14	VH FR2	WSRQPPGKGLEWIG
21	MAB15	VH FR2	WIRQPPGKGLEWIG
23	MAB1	VH CDR2	IIDPSDGSTSYAQKFQG
23	MAB2	VH CDR2	IIDPSDGSTSYAQKFQG
24	MAB3	VH CDR2	IINPLGGSTLYAQKFQG

10

20

30

40

50

【表 A - 2】

24	MAB4	VH CDR2	IINPLGGSTLYAQKFQG
25	MAB5	VH CDR2	IINPQGGDTSYAQKFQG
25	MAB6	VH CDR2	IINPQGGDTSYAQKFQG
26	MAB7	VH CDR2	RIKRDGSEKYYVDSVKG
27	MAB8	VH CDR2	IISGSGGSTYYADSVKG
28	MAB9	VH CDR2	IISGSGGATYYADSVKG
29	MAB10	VH CDR2	AISGSGGATYYADSVKG
30	MAB11	VH CDR2	AISGSGGATYYADSVKG
30	MAB12	VH CDR2	AISGSGGATYYADSVKG
31	MAB13	VH CDR2	EISHSGSTNYNPSLKS
31	MAB14	VH CDR2	EISHSGSTNYNPSLKS
32	MAB15	VH CDR2	DIWHSGMTNYNPSLKS
33	MAB1	VH FR3	RVTMTRDTPSTVYMESSLRSEDVAVYYC
34	MAB2	VH FR3	RVTMTRDASTVYMESSLRSEDVAVYYC
35	MAB3	VH FR3	RVTMTRDTSSTVYMESSLRSEDVAVYYC
35	MAB4	VH FR3	RVTMTRDTSSTVYMESSLRSEDVAVYYC
35	MAB5	VH FR3	RVTMTRDTSSTVYMESSLRSEDVAVYYC
35	MAB6	VH FR3	RVTMTRDTSSTVYMESSLRSEDVAVYYC
36	MAB7	VH FR3	RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDVAVYYC
37	MAB8	VH FR3	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDVAVYYC
37	MAB9	VH FR3	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDVAVYYC
37	MAB10	VH FR3	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDVAVYYC
38	MAB11	VH FR3	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDVAVYYC
37	MAB12	VH FR3	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDVAVYYC
39	MAB13	VH FR3	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC
40	MAB14	VH FR3	RVTISVDTSKNQFSLKLSPVTAADTAVYYC
39	MAB15	VH FR3	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC
41	MAB1	VH CDR3	ARGARRITGYGMDV
41	MAB2	VH CDR3	ARGARRITGYGMDV
42	MAB3	VH CDR3	ARDLGYYGSGMHA
43	MAB4	VH CDR3	ARDLGYYGSGMHV
44	MAB5	VH CDR3	ARDRGMYYASGFGP
45	MAB6	VH CDR3	ARDRGMYYASGFNP
46	MAB7	VH CDR3	ARDQGYKTPDFDL
47	MAB8	VH CDR3	AKDPGYDSSRYYSNYGMDV
47	MAB9	VH CDR3	AKDPGYDSSRYYSNYGMDV
47	MAB10	VH CDR3	AKDPGYDSSRYYSNYGMDV
47	MAB11	VH CDR3	AKDPGYDSSRYYSNYGMDV
47	MAB12	VH CDR3	AKDPGYDSSRYYSNYGMDV
48	MAB13	VH CDR3	ARARPYREPYGMDV
48	MAB14	VH CDR3	ARARPYREPYGMDV
49	MAB15	VH CDR3	ARGPGYDSSGYSRREFDP
50	MAB1	VH FR4	WGQGTITVTVSS
51	MAB2	VH FR4	WGQGTITVTVSS
52	MAB3	VH FR4	WGQGTITVTVSS
52	MAB4	VH FR4	WGQGTITVTVSS
52	MAB5	VH FR4	WGQGTITVTVSS
52	MAB6	VH FR4	WGQGTITVTVSS
53	MAB7	VH FR4	WGRGTITVTVSS
50	MAB8	VH FR4	WGQGTITVTVSS
50	MAB9	VH FR4	WGQGTITVTVSS
50	MAB10	VH FR4	WGQGTITVTVSS
50	MAB11	VH FR4	WGQGTITVTVSS

10

20

30

40

50

【表 A - 3】

50	MAB12	VH FR4	WGQGTTVTVSS
50	MAB13	VH FR4	WGQGTTVTVSS
50	MAB14	VH FR4	WGQGTTVTVSS
52	MAB15	VH FR4	WGQGTTLTVTVSS
54	MAB1	VL FR1	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTC
54	MAB2	VL FR1	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTC
54	MAB3	VL FR1	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTC
54	MAB4	VL FR1	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTC
55	MAB5	VL FR1	EIVMTQSPGTLSLSPGERATLSC
55	MAB6	VL FR1	EIVMTQSPGTLSLSPGERATLSC
56	MAB7	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC
56	MAB8	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC
56	MAB9	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC
56	MAB10	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC
56	MAB11	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC
56	MAB12	VL FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC
57	MAB13	VL FR1	DIQLTQSPSSVSASVGDRVITTC
57	MAB14	VL FR1	DIQLTQSPSSVSASVGDRVITTC
58	MAB15	VL FR1	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITTC
59	MAB1	VL CDR1	RASQGISSWLA
59	MAB2	VL CDR1	RASQGISSWLA
60	MAB3	VL CDR1	RASQGISRWLA
60	MAB4	VL CDR1	RASQGISRWLA
61	MAB5	VL CDR1	RASQSVSSSYLA
61	MAB6	VL CDR1	RASQSVSSSYLA
62	MAB7	VL CDR1	QASQDITNYLN
63	MAB8	VL CDR1	RASQSISSYLN
63	MAB9	VL CDR1	RASQSISSYLN
63	MAB10	VL CDR1	RASQSISSYLN
63	MAB11	VL CDR1	RASQSISSYLN
63	MAB12	VL CDR1	RASQSISSYLN
64	MAB13	VL CDR1	RASQDISSWLA
64	MAB14	VL CDR1	RASQDISSWLA
65	MAB15	VL CDR1	RASQSISSWLA
66	MAB1	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
66	MAB2	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
66	MAB3	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
66	MAB4	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
67	MAB5	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
67	MAB6	VL FR2	WYQQKPGQAPRLLIY
66	MAB7	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
66	MAB8	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
66	MAB9	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
66	MAB10	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
66	MAB11	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
66	MAB12	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
66	MAB13	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
66	MAB14	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
66	MAB15	VL FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
67	MAB1	VL CDR2	AASNLSQS
67	MAB2	VL CDR2	AASNLSQS
68	MAB3	VL CDR2	AASSLSQS
68	MAB4	VL CDR2	AASSLSQS

10

20

30

40

50

【表 A - 4】

69	MAB5	VL CDR2	GASNRAT
69	MAB6	VL CDR2	GASNRAT
70	MAB7	VL CDR2	DASNLET
71	MAB8	VL CDR2	GASSLQS
71	MAB9	VL CDR2	GASSLQS
71	MAB10	VL CDR2	GASSLQS
71	MAB11	VL CDR2	GASSLQS
71	MAB12	VL CDR2	GASSLQS
68	MAB13	VL CDR2	AASSLQS
68	MAB14	VL CDR2	AASSLQS
72	MAB15	VL CDR2	KASSLES
73	MAB1	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
73	MAB2	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
73	MAB3	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
73	MAB4	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
74	MAB5	VL FR3	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC
74	MAB6	VL FR3	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC
75	MAB7	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
73	MAB8	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
73	MAB9	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
73	MAB10	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
73	MAB11	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
73	MAB12	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
73	MAB13	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
73	MAB14	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
76	MAB15	VL FR3	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDEFATYYC
77	MAB1	VL CDR3	QQASVFPFT
77	MAB2	VL CDR3	QQASVFPFT
78	MAB3	VL CDR3	QQANLLPFT
78	MAB4	VL CDR3	QQANLLPFT
79	MAB5	VL CDR3	QQLSSFPIIT
79	MAB6	VL CDR3	QQLSSFPIIT
80	MAB7	VL CDR3	QQSDVLPIT
81	MAB8	VL CDR3	QQTYSLYT
81	MAB9	VL CDR3	QQTYSLYT
81	MAB10	VL CDR3	QQTYSLYT
81	MAB11	VL CDR3	QQTYSLYT
81	MAB12	VL CDR3	QQTYSLYT
82	MAB13	VL CDR3	QQELAFPRT
82	MAB14	VL CDR3	QQELAFPRT
83	MAB15	VL CDR3	QQLNSYPPT
84	MAB1	VL FR4	FGGGTKVEIK
84	MAB2	VL FR4	FGGGTKVEIK
84	MAB3	VL FR4	FGGGTKVEIK
84	MAB4	VL FR4	FGGGTKVEIK
84	MAB5	VL FR4	FGGGTKVEIK
84	MAB6	VL FR4	FGGGTKVEIK
84	MAB7	VL FR4	FGGGTKVEIK
84	MAB8	VL FR4	FGGGTKVEIK
84	MAB9	VL FR4	FGGGTKVEIK
84	MAB10	VL FR4	FGGGTKVEIK
84	MAB11	VL FR4	FGGGTKVEIK
84	MAB12	VL FR4	FGGGTKVEIK

10

20

30

40

50

【表 A - 5】

84	MAB13	VL FR4	FGGGTKVEIK
84	MAB14	VL FR4	FGGGTKVEIK
84	MAB15	VL FR4	FGGGTKVEIK
85	MAB1	VH 完全	QVQLVQSGAGVKKPGASVKVSKASGYTFRSYMLWV RQAPGQGLEWMGIIDPSDGSTSYAQKFQGRVTMTRDTP STVYMELSSLRSEDTAVYYCARGARRITGYGMDVWGQG TTVTVSS
86	MAB2	VH 完全	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFRSYMLWVR QAPGQGLEWMGIIDPSDGSTSYAQKFQGRVTMTRDAST TVYMELSSLRSEDTAVYYCARGARRITGYGMDVWGQGT TVIVSS
87	MAB3	VH 完全	QAQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSRYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPLGGSTLYAQKFQGRVTMTRDTS STVYMELSSLRSEDTAVYYCARDLGYGSGMHAWGQG TLVTVSS
88	MAB4	VH 完全	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSRYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPLGGSTLYAQKFQGRVTMTRDTS STVYMELSSLRSEDTAVYYCARDLGYGSGMHVWGQG TLVTVSS
89	MAB5	VH 完全	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPQGGDTSYAQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDRGMYYASGFGPWGQ GTLVTVSS
90	MAB6	VH 完全	QVQLVQSGAKVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMHWV RQVPGQGLEWMGIINPQGGDTSYAQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDRGMYYASGFNPWGQ GTLVTVSS
91	MAB7	VH 完全	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMWVR QAPGKGLEWVARIKRDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNK NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYKTPTDFDLWGRG TLVTVSS
92	MAB8	VH 完全	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFASYAMWVR QAPGKGLEWVSIISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGYDSSRYYSNYGMD VWGQGT TVTVSS
93	MAB9	VH 完全	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKSYAMWVR QAPGKGLEWVSIISGSGGATYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGYDSSRYYSNYGMD VWGQGT TVTVSS
94	MAB10	VH 完全	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSVAMWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGATYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGYDSSRYYSNYGMD VWGQGT TVTVSS
95	MAB11	VH 完全	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSVAMWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGATYYADSVEGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGYDSSRYYSNYGMDV WGQGT TVTVSS
96	MAB12	VH 完全	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSVAMWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGATYYADSVEGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGYDSSRYYSNYGMD VWGQGT TVTVSS
97	MAB13	VH 完全	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFGRGYWWEWIR QPPGKGLEWIGEISHSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFS

10

20

30

40

50

【表 A - 6】

			LKLSSVTAADTAVYYCARARPYREPYGMDVWGQGTTVTVSS
98	MAB14	VH 完全	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFYGYWEWSR QPPGKGLEWIGEISHSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFS LKLSPVTAADTAVYYCARARPYREPYGMDVWGQGTTVTVSS
99	MAB15	VH 完全	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFVKYYWSWIR QPPGKGLEWIGDIWHSGMTNYNPSLKSRTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPGYDSSGYSRRFDPWGQGT LTVTVSS
100	MAB1	VL 完全	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQQKP GKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQAQSVFPFTFGGGTKVEIK
100	MAB2	VL 完全	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQQKP GKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQAQSVFPFTFGGGTKVEIK
101	MAB3	VL 完全	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISRWLAWYQQK PGKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQAQSVFPFTFGGGTKVEIK
101	MAB4	VL 完全	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISRWLAWYQQK PGKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQAQSVFPFTFGGGTKVEIK
102	MAB5	VL 完全	EIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASNRTGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQLSSFPITFGGGTKVEIK
102	MAB6	VL 完全	EIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASNRTGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQLSSFPITFGGGTKVEIK
103	MAB7	VL 完全	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDITNYLNWYQQKP GKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPE DIATYYCQQSDVLPITFGGGTKVEIK
104	MAB8	VL 完全	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQTYSLYTFGGGKVEIK
104	MAB9	VL 完全	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQTYSLYTFGGGKVEIK
104	MAB10	VL 完全	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQTYSLYTFGGGKVEIK
104	MAB11	VL 完全	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQTYSLYTFGGGKVEIK
104	MAB12	VL 完全	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQTYSLYTFGGGKVEIK
105	MAB13	VL 完全	DIQLTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQDISSWLAWYQQKP GKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQLAFPRFTFGGGTKVEIK
105	MAB14	VL 完全	DIQLTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQDISSWLAWYQQKP GKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQLAFPRFTFGGGTKVEIK

10

20

30

40

50

【表 A - 7】

106	MAB15	VL 完全	DIQMTQSPSTLSASVGDRTTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQLNSYPPTFGGGTKVEIK
107	MAB1	HC 全長 IgG4 S228P	QVQLVQSGAGVKKPGASVKVSCKASGYTFRSYYMLWVRQAPGQGLEWMGIIDPSDGSTSYAQKFQGRVTMTRDTPTSTVYMELSSLRSEDATAVYYCARGARRITGYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHIALHNHYTQKSLSLGLK
108	MAB2	HC 全長 IgG4 S228P	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRSYYMLWVRQAPGQGLEWMGIIDPSDGSTSYAQKFQGRVTMTRDASTSTVYMELSSLRSEDATAVYYCARGARRITGYGMDVWGQGTITVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHIALHNHYTQKSLSLGLK
109	MAB3	HC 全長 IgG4 S228P	QAQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPLGGSTLYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDATAVYYCARDLGYGSGMHAWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHIALHNHYTQKSLSLGLK
110	MAB4	HC 全長 IgG4 S228P	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPLGGSTLYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDATAVYYCARDLGYGSGMHVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHIALHNHYTQKSLSLGLK
111	MAB5	HC 全長	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPQGGDTSYAQKFQGRVTMTRDTSSTVYMELSSLRSEDATAVYYCARDRGMYASGFGPWGQ

10

20

30

40

【表 A - 8】

		IgG4 S228P	GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLK
112	MAB6	HC 全長 IgG4 S228P	QVQLVQSGAKVKKPGASVKVSCASGYTFTSYMHVWV RQVPGQGLEWMGIINPQGGDTSYAQKFQGRVTMTSDTS TSTVYMESSLRSEDVAVYYCARDGRMYASGFNPWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLK
113	MAB7	HC 全長 IgG4 S228P	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTSSYWMWVR QAPGKGLEWVARIKRDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNK NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYKTPDFTDLWGRG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGKTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPPAPEF LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLK
114	MAB8	HC 全長 IgG4 S228P	EVQLLESAGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFASYAMWVR QAPGKGLEWVSIISGSGGATYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGYDSSRYYSNYGMD VWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVTPSSSLGKTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSV MHEALHNHYTQKSLSLGLK
115	MAB9	HC 全長 IgG4 S228P	EVQLLESAGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFKSYAMWVR QAPGKGLEWVSIISGSGGATYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGYDSSRYYSNYGMD VWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVTPSSSLGKTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESEKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE

10

20

30

40

【表 A - 9】

			PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
116	MAB10	HC 全長 IgG4 S228P	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSVAMVWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGATYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGYDSSRYYSNYGMD VWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
117	MAB11	HC 全長 IgG4 S228P	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSVAMVWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGATYYADSVGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGYDSSRYYSNYGMDV WGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
118	MAB12	HC 全長 IgG4 S228P	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSVAMVWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGATYYADSVGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDPGYDSSRYYSNYGMD VWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
119	MAB13	HC 全長 IgG4 S228P	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSGFRGYYWEWIR QPPGKLEWIGEISHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFS LKLSSVTAADTAVYYCARARPYREPYGMDVWGQGTITV VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGT KTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLGLGK
120	MAB14	HC 全長	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSGFRGYYWEWSR QPPGKLEWIGEISHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFS LKLSPVTAADTAVYYCARARPYREPYGMDVWGQGTITV

10

20

30

40

50

【表 A - 10】

		IgG4 S228P	VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGK
121	MAB15	HC 全長 IgG4 S228P	QVQLQQWAGALLKPSSETLSLTCAVYGGSFVKYYWSWIR QPPGKGLEWIGDIWHSGMTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCARGPGYDSSGYSRRFDPWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGKTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEF LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
122	MAB1	LC 全長, ヒトκ 定常	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQK PKAPKLLIYAASNLSQGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQASVPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSPVTKSFNRGEC
122	MAB2	LC 全長, ヒトκ 定常	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQK PKAPKLLIYAASNLSQGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQASVPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSPVTKSFNRGEC
123	MAB3	LC 全長, ヒトκ 定常	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISRWLAWYQQK PKAPKLLIYAASSLSQGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQANLLPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSPVTKSFNRGEC
123	MAB4	LC 全長, ヒトκ 定常	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISRWLAWYQQK PKAPKLLIYAASSLSQGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQANLLPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSPVTKSFNRGEC
124	MAB5	LC 全長, ヒトκ 定常	EIVMTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASNRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQLSFPITFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSPVTKSFNRGEC
124	MAB6	LC 全長, ヒトκ 定常	EIVMTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASNRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQLSFPITFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD

10

20

30

40

【表 A - 1 1】

			EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
125	MAB7	LC 全長. ヒトκ 定常	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCQASQDITNYLNWYQQKP GKAPKLLIYDASNLETGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLOPE DIATYYCQQSDVLPITFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
126	MAB8	LC 全長. ヒトκ 定常	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLOPE DFATYYCQQTYSLYTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
126	MAB9	LC 全長. ヒトκ 定常	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLOPE DFATYYCQQTYSLYTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
126	MAB10	LC 全長. ヒトκ 定常	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLOPE DFATYYCQQTYSLYTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
126	MAB11	LC 全長. ヒトκ 定常	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLOPE DFATYYCQQTYSLYTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
126	MAB12	LC 全長. ヒトκ 定常	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLOPE DFATYYCQQTYSLYTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
127	MAB13	LC 全長. ヒトκ 定常	DIQLTQSPSSVSASVGDRVTTTCRASQDISSWLAWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLOPE DFATYYCQQELAFPRTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
127	MAB14	LC 全長. ヒトκ 定常	DIQLTQSPSSVSASVGDRVTTTCRASQDISSWLAWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLOPE DFATYYCQQELAFPRTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
128	MAB15	LC 全長	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTTTCRASQSISSWLAWYQQKP GKAPKLLIYKASSLESGVPSRFGSGSGTEFTLTISSLPDD FATYYCQQLNSYPPTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE

10

20

30

40

【表 A - 1 2】

			QLKSGTASVVCLNFPYAPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNREGC
129	hNRP-1	GenBank アクセッション 番号 NM_0038 73.5 (NP_00386 4.4に相当).	ATGGAGAGGGGGCTGCCGCTCCTCTGCGCCGTGCTCGC CCTCGTCCTCGCCCCGGCCGGCGCTTTTCGCAACGATA AATGTGGCGATACTATAAAAATTGAAAGCCCCGGGT CCTTACATCTCCTGGTTATCCTCATTCTTATCACCCAAG TGAAAAATGCGAATGGCTGATTGAGGCTCCGGACCCAT ACCAGAGAATTATGATCAACTTCAACCCTCACTTCGAT TTGGAGGACAGAGACTGCAAGTATGACTACGTGGAAG TCTTCGATGGAGAAAATGAAAATGGACATTTTAGGGG AAAGTTCTGTGGAAAGATAGCCCCCTCCTCTGTTGTGT CTTCAGGGCCATTTCTTTTATCAAATTTGTCTCTGACT ACGAAACACATGGTGCAGGATTTTCCATACGTTATGAA ATTTTCAAGAGAGGTCCTGAATGTTCCAGAACTACAC AACACCTAGTGGAGTGATAAAGTCCCCCGGATTCCCTG AAAAATATCCCAACAGCCTTGAATGCACTTATATTGTC TTTGCGCCAAAGATGTCAGAGATTATCCTGGAATTTGA AAGCTTTGACCTGGAGCCTGACTCAAATCCTCCAGGGG GGATGTTCTGTGCTACGACCGGCTAGAAATCTGGGAT GGATTCCCTGATGTTGGCCCTCACATTGGGCGTTACTG TGGACAGAAAACACCAGGTGGAATCCGATCCTCATCG GGCATTCTCTCCATGGTTTATACCCGACAGCGCGAT AGCAAAAGAAGGTTTCTCAGCAAACTACAGTGTCTTGC AGAGCAGTGTCTCAGAAGATTTCAAATGTATGGAAGCT CTGGGCATGGAATCAGGAGAAATTCATTCTGACCAGAT CACAGCTTCTTCCAGTATAGCACCAACTGGTCTGCAG AGCGCTCCCGCCTGAACTACCCTGAGAATGGGTGGACT CCCGGAGAGGATTCTACCGAGAGTGAGTACAGGTAG ACTTGGGCCTTCTGCGCTTTGTACGGCTGTGCGGACA CAGGGCGCCATTTCAAAGAAACCAAGAAGAAATATT ATGTCAAGACTTACAAGATCGACGTTAGCTCCAACGGG GAAGACTGGATCACCATAAAAGAAAGAAACAAACCTG TTCTCTTTCAGGGAAACACCAACCCACAGATGTTGTG GTTGCAGTATTCCCCAAACCACTGATAACTCGATTGTT CCGAATCAAGCCTGCAACTTGGGAACTGGCATATCTA TGAGATTTGAAGTATACGGTTGCAAGATAACAGATTAT CCTTGCTCTGGAATGTTGGGTATGGTGTCTGGACTTATT TCTGACTCCAGATCACATCATCCAACCAAGGGGACAG AACTGGATGCCTGAAAACATCCGCTGGTAACCAAGTC GCTCTGGCTGGGCACTTCCACCCGCACCTATTCTCTAC ATCAATGAGTGGCTCCAAATAGACCTGGGGGAGGAGA AGATCGTGAGGGGCATCATCATTAGGGTGGGAAGCA CCGAGAGAACAAGGTGTTGATGAGGAAGTTCAAGATC GGGTACAGCAACAACGGCTCGGACTGGAAGATGATCA TGGATGACAGCAACGCAAGGCGAAGTCTTTTGAGGG CAACAACAATATGATACACCTGAGCTGCGGACTTTTC CAGCTCTCTCCACGCGATTCTATCAGGATCTACCCCGAG AGAGCCACTCATGGCGGACTGGGGCTCAGAATGGAGC TGCTGGGCTGTGAAGTGGAAAGCCCCCTACAGCTGGACC GACCACTCCCAACGGGAAGTTGGTGGATGAATGTGAT GACGACCAGGCCAACTGCCACAGTGGAACAGGTGATG ACTTCCAGCTCACAGGTGGCACCCTGTGCTGGCCACA GAAAAGCCACGGTCATAGACAGCACCATAACAATCAG AGTTTCCAACATATGGTTTTAACTGTGAATTTGGCTGG

10

20

30

40

【表 A - 13】

			GGCTCTCACAAGACCTTCTGCCACTGGGAACATGACAA TCACGTGCAGCTCAAGTGGAGTGTGTTGACCAGCAAG ACGGGACCCATTTCAGGATCACACAGGAGATGGCAACT TCATCTATTCCCAAGCTGACGAAAATCAGAAGGGCAA AGTGGCTCGCCTGGTGAGCCCTGTGGTTTATTCCCAGA ACTCTGCCCACTGCATGACCTTCTGGTATCACATGTCT GGGTCCCACGTCCGCACACTCAGGGTCAAACCTGCGCTA CCAGAAGCCAGAGGAGTACGATCAGCTGGTCTGGATG GCCATTGGACACCAAGGTGACCACTGGAAGGAAGGGC GTGTCTTGCTCCACAAGTCTCTGAAACTTTATCAGGTG ATTTTCGAGGGCGAAATCGGAAAAGGAAACCTTGGTG GGATTGCTGTGGATGACATTAGTATTAATAACCACATT TCACAAGAAGATTGTGCAAAACCAGCAGACCTGGATA AAAAGAACCCAGAAATTAATAATTGATGAAACAGGGAG CACGCCAGGATACGAAGGTGAAGGAGAAGGTGACAAG AACATCTCCAGGAAGCCAGGCAATGTGTTGAAGACCTT AGACCCCATCCTCATCACCATCATAGCCATGAGTGCCC TGGGGGTCTCTCTGGGGGCTGTCTGTGGGGTCTGTGCTG TACTGTGCCTGTTGGCATAATGGGATGTCAGAAAGAAA CTTGTCTGCCCTGGAGAACTATAACTTTGAACCTTGTGG ATGGTGTGAAGTTGAAAAAAGACAAACTGAATACACA GAGTACTTATTCCGAGGCATGA
130	hNRP-1 タンパク質	Genbank NP_00386 4.4.	MERGLPLLCAVLALVLAAPAGAFRNDKCGDTIKIESPGYLT SPGYPHSYHPSEKCEWLIQAPDPYQRIMINFNPFDLED DCKYDYVEVFDGENENGHFRGKFCGKIAPPPVSSGPFLF IKFVSDYETHGAGFSIRYEIFKRGPECSQNYTTPSGVIKSP GFPEKYPNSLECTYIVFAPKMSEIILEFESFDLEPDSNPPGG MFCRYDRLEIWDGFPDVGPHIGRYCGQKTPGRIRSSSGIL SMVFYTDIAIAKEGFSANYSVLQSSVSEDFKCMEALGME SGEIHSDQITASSQYSTNWSAERSRLNYPENGWTPGEDSY REWIQVDLGLLRFTAVGTQGAISKETKKKYVVKTYKID VSSNGEDWITIKENKPVLFQGNTPDVTAVFPKPLIT RFVRIKPAWETGISMREFVYGCKITDYPSCGMLGMVSG LISDSQITSSNQDRNWMENIRLVTSSRGWALPPAPHSYI NEWLQIDLGEKIVRGIIIQGGKHRENKVFMRKFKIGYSN NGSDWKMIMDDSKRKAKSFEGNNNYDTPELRTFPALSTR FIRIYPERATHGGLGLRMELLGCEVEAPTAGPTTPNGNLV DECDDDQANCHSGTGDDFQLTGGTTVLATEKPTVIDSTI QSEFPTYGFNCEFGWGSHTFCHWEHDNHVQLKWSVLT SKTGPIQDHTGDGNFIYSQADENQKGKVARLVSPVVYSQ NSAHCMTFWYHMSGSHVGTLRVKLRYPQPEEYDQLVW MAIGHQGDHWKEGRVLLHKSLLYQVIFEIGEIGKGNLG GIAVDDISINNHSQEDCAKPADLDKKNPEIKIDETGSTPG YEGEGEGDKNISRKPGNVLKTLDPILITHAMSALGVLLGA VCGVVLYCACWHNGMSERNLSALENYNFELVDGVKLK KDKLNTQSTYSEA
131	cNRP-1	DNA: Genbank アクセッション 番号 XM_0055 64935.2	ATGGAGAAGGGGTTGCCGCTCCTCTGCGCCGCGCTCGC CCTCGCCCTCGCCCCGCGCGCTTTTCGCAACGATA AATGTGGCGATACTATAAAAAATTGAAAGCCCCGGGTA CCTTACATCTCCTGGTTATCCTCATTCTTATCACCCAAG TGAAAAATGTGAATGGCTGATTACAGGCTCCGGACCCAT ACCAGAGAATTATGATCAACTTCAACCCTCACTTCGAT TTGGAGGACAGAGATTGCAAGTATGACTACGTGGAAG TCTTCGATGGAGAAAAATGAAAATGGACGTTTATGGGG AAAGTTCTGTGGAAAGATAGCCCCCTCCTCTGTGTGT

10

20

30

40

【表 A - 1 4】

		<p>CTTCAGGGCAATTTCTTTTATCAAATTTGTCTCTGACT ACGAAACACACGGTGCAGGATTTCCATACGTTATGAA ATTTTCAAGAGAGGTCTGAATGTTCCCAGAACTACAC AACACCTAGTGGAGTGATAAAGTCCCCGGATTCCCTG AAAAATATCCCAACAGCCTTGAATGCACTTATATTGTC TTTGACCAAAGATGTCAGAGATTATCCTGGAATTTGA AAGCTTTGACCTGGAGCCTGACTCAAATCCTCCAGGGG GGATGTTCTGTCGCTACGACCGGCTGGAAATCTGGGAT GGATTCCCTGACGTTGGCCCTCACATTGGGCGTTACTG TGGACAGAAAACACCAGGTCTGAATCCGATCCTCATCG GGCATTCTCTCCATGGTTTTTTACACCGACAGCGCAAT AGCAAAAGAAAGTTTCTCAGCAAACTACAGTGTCTTGC AGAGCAGTGTCTCAGAAGATTTCAAATGTATGGAAGCT GTGGGCATGGAATCAGGAGAAATTCATTCTGACCAGA TCACAGCTTCTTCCAGTACAGCACCAACTGGTCTGCA GAGCGCTCCCGCCTGAACTATCCTGAGAATGGGTGGAC TCCCGGAGAAGATTCTACCGAGAGTGGATACAGGTG GACTTGGGCCTTCTACGCTTCGTTACGGCTGTCTGGGAC ACAGGGCGCCATTTCAAAGAAACCAAGAAGAAATAT TATGTCAAGACTTACAAAATTGACATTAGCTCCAACGG GGAAGACTGGATCACCATAAAAGAAGGAAACAAACCT GTTCTCTTTCAGGGAAACACCAACCCACAGACGTTGT GGTTGCAGTATTTCCCAAGCCACTGATAACTCGATTTG TCCGAATCAAGCCTGCAACTTGGGAAACTGGCATATCT CTGAGATTTGAAGTATATGGTTGCAAGATAACAGATTA TCCTTGCTCCGGAATGTTGGGTATGGTGTCTGGACTTA TTTCTGACTCCCAGATCACATCATCCAACCAAGGGGAC AGAAACTGGATGCCTGAAAACATCCGCTGGTAACCA GTCGCTCCGGCTGGGCACTGCCACCCGCACCTCATTCC TACGTCAATGAGTGGCTCCAAATAGACCTGGGGGAGG AGAAGATCGTGAGGGGCATCATTCAGGGTGGGAA GCACCGAGAGAAACAAGGTATTCATGAGGAAGTTCAAG ATCGGGTACAGCAACAACGGCTCCGACTGGAAGATGA TCATGGACGACAGCAAAACGCAAGGCAAAGTCTTTTGA GGGCAACAACAACATATGACACACCTGAGCTGCGGACT TTTCCAGCTCTCTCCACGCGATTTCATCAGGATCTACCCC GAGAGAGCCACTCATGGCGGACTGGGGCTCCGAATGG AGCTGCTGGGCTGTGAAGTGAAGCCCCACAGCTGG ACCGACCACTCCCAACGGGAACCCGGTGGATGAATGT GATGACGACCAGGCCAACTGCCACAGTGGAAACAGGTG ATGACTTCCAGCTCACAGGTGGCACCCTGTGCTGGCC ACAGAAAAGCCACGGTCATAGACAGCACCATACAAT CAGAGTTTCTACATATGGTTTTAACTGTGAATTTGGCT GGGGCTCTCACAAGACCTTCTGCCACTGGGAACATGAC AATCACGTGCAGCTCAAGTGGAGTGTGTTGACCAGCA AGACGGGACCCATTTCAGGATCACACAGGAGATGGCAA CTTCATCTATTCCCAAGCTGATGAAAATCAGAAGGGCA AAGTGGCTCGCCTGGTGAGCCCTGTGGTTTATTCCAG AACTCTGCCCCTGCAATGACCTTCTGGTATCACATGTC TGGGTCCCACGTCCGCACACTCAGGGTCAAACCTGCGCT ACCAGAAGCCAGAGGAGTACGATCAGCTGGTCTGGAT GGCCATTGGACACCAAGGTGACCACTGGAAGGAAGGG CGTGTCTTGCTTCAAGTCTCTGAACTTTATCAGGT GATTTTCGAGGGCGAAATCGGAAAAGGAAACCTTGGT GGGATTGCTGTGGATGACATTAGTATCAATAACCACAT</p>	10
			20
			30
			40

【表 A - 15】

			TTCACAAGAAGATTGTGCAAAACCAGCAGACCTGGAT AAAAAGAACCCAGAAATTTAAATTTGATGAAACAGGGA GCACACCAGGATATGAAGGTGAAGGAGAAGGTGACAA GAACATCTCCAGGAAACCAGGCAATGTGTTGAAGACC TTAGACCCCATCTCATCACCATCATAGCCATGAGCGC CCTGGGGGTCCTCCTGGGGGCTGTGTGCGGGGTCGTGC TGTA CTGTGCCTGTTGGCATAATGGGATGTCAGAAAGA AACTTGTCTGCCCTGGAGAACTATAACTTTGAACCTGT GGACGGTGTGAAGTTGAAAAAAGACAACTGAATACA CAGAGTACTTATTCGGAGGCATGA
132	cNRP-1	タンパク質: UniProtK B - G7PEQ1	MEKGLPLLCAALALALAPAGAFRNDKCGDTIKIESPGYLT SPGYPHSYHPSEKCEWLIQAPDPYQRIMINFNPHFDLEDR DCKYDYVEVFDGENENGRLLWGKFCGKIAPPVVSQFL FIKFVSDYETHGAGFSIRYEIFKRGPECSQNYTTTPSGVIKSP GFPEKYPNSLECTYIVFAPKMSEIILEFESFDLEPDSNPPGG MFCRYDRLEIWDGFPDVGPHIGRYCGQKTPGRIRSSSGIL SMVFYTDIAIAKEGFSANYSVLQSSVSEDFKMEAVGME SGEIHSDQITASSQYSTNWSAERSRLNYPENGWTPGEDSY REWIQVDLGLLRFTAVGTQGAISKETKKKYVVKTYKID ISSNGEDWITIKENKPVLFQGNNTDVTVVAVFPKPLITR FVRIK PATWETGISLRFVYGCKITDYPSCGMLGMVSGLI SDSQITSSNQDRNWMENIRLVTSRSGWALPPAPHSYV NEWLQIDLGEKIVRGHIIQGGKHRENKVFMRKFKIGYSN NGSDWKIMDDSKRKA KSFEGNNNYDTPELRTFPALSTR FIRIYPERATHGGLGLRMELLGCEVEAPTAGPTTPNGNPV DECDDDQANCHSGTGDDDFQLTGGTTVLATEKPTVIDSTI QSEFPTYGFNCEFGWGSHTFCHWEHDNHVQLKWSVLT SKTGPIQDHTGDGNFIYSQADENQKGKVARLVSPVVYSQ NSAHCMTFWYHMSGSHVGTLRVKLRYQKPEEYDQLVW MAIGHQGDHWKEGRVLLHKSLLKYQVIFEGEIGKGNLG GIAVDDISINNHSQEDCAKPADLDKKNPEIKIDETGSTPG YEGEGEGDKNISRKPGNVLKTLDPILITHAMSALGVLLGA VCGVVLYCACWHNGMSERNLSALENYNFELVDGVKLLK KDKLNTQSTYSEA
133	mNRP-1	GenBank アクセッション 番号 NM00873 7	ATGGAGAGGGGGCTGCCGTTGCTGTGCGCCACGCTCGC CCTTGCCCTCGCCCTGGCGGGCGCTTTCCGCAGCGACA AATGTGGCGGGACCATAAAAATCGAAAACCCAGGGTA CCTCACATCTCCCGGTTACCCCTATTCTTACCATCCAAG TGAGAAGTGTGAATGGCTAATCCAAGCTCCGGAACCT ACCAGAGAATCATGATCAACTTCAACCCACATTTTCGAT TTGGAGGACAGAGACTGCAAGTATGACTACGTGGAAG TAATCGATGGGGAGAATGAAGGCGGCCGCTGTGGGG GAAGTTCTGTGGGAAGATTGCACCTTCTCCTGTGGTGT CTTCAGGGCCCTTTCTCTTCATCAAATTTGTCTCTGACT ATGAGACACATGGGGCAGGGTTTTCCATCCGCTATGAA ATCTTCAAGAGAGGGGCCGAATGTTCTCAGAACTATAC AGCACCTACTGGAGTGATAAAGTCCCCTGGGTTCCCTG AAAAATACCCCAACAGCTTGGAGTGCACCTACATCATC TTTGACCAAAAGATGTCTGAGATAATCCTGGAGTTTGA AAGTTTTGACCTGGAGCAAGACTCGAATCCTCCCGGAG GAATGTTCTGTGCTATGACCGGCTGGAGATCTGGGAT GGATTCCCTGAAGTTGGCCCTCACATTGGGCGTTATTG TGGGCAGAAAACCTCCTGGCCGGATCCGCTCCTCTTCAG GCGTTCTATCCATGGTCTTTTACACTGACAGCGCAATA GCAAAAGAAGGTTTCTCAGCCAACTACAGTGTGCTACA

10

20

30

40

【表 A - 1 6】

		<p>GAGCAGCATCTCTGAAGATTTTAAGTGTATGGAGGCTC TGGGCATGGAATCTGGAGAGATCCATTCTGATCAGATC ACTGCATCTTCACAGTATGGTACCAACTGGTCTGTAGA GCGCTCCCGCCTGAACTACCCTGAAAATGGGTGGATC CAGGAGAAGACTCCTACAAGGAGTGGATCCAGGTGGA CTTGGGCCTCCTGCGATTCTGTTACTGCTGTAGGGACAC AGGGTGCCATTTCCAAGGAAACCAAGAAGAAATATTA TGTCAAGACTTACAGAGTAGACATCAGCTCCAACGGA GAGGACTGGATCTCCCTGAAAAGAGGGAAATAAAGCCA TTATCTTTCAGGGAAACACCAACCCACAGATGTTGTC TTAGGAGTTTTCTCCAAACCACTGATAACTCGATTTGT CCGAATCAAACCTGTATCCTGGGAAACTGGTATATCTA TGAGATTTGAAGTTTATGGCTGCAAGATAACAGATTAT CCTTGCTCTGGAATGTTGGGCATGGTGTCTGGACTTAT TTCAGACTCCCAGATTACAGCATCCAATCAAGCCGACA GGAATTGGATGCCAGAAAACATCCGTCTGGTGACCAG TCGTACCGGCTGGGCACTGCCACCCTCACCCACCCAT ACACCAATGAATGGCTCCAAGTGGACCTGGGAGATGA GAAGATAGTAAGAGGTGTCATCATTAGGGTGGGAAG CACCGAGAAAACAAGGTGTTTCATGAGGAAGTTCAAGA TCGCCTATAGTAACAATGGCTCTGACTGGAAAACATC ATGGATGACAGCAAGCGCAAGGCTAAGTCGTTCTGAAG GCAACAACAACATATGACACACCTGAGCTTCGGACGTTT TCACCTCTCTCCACAAGGTTTCATCAGGATCTACCCTGA GAGAGCCACACACAGTGGGCTTGGGCTGAGGATGGAG CTACTGGGCTGTGAAGTGGAAACCTACAGCTGGAC CAACCACACCAATGGGAACCCAGTGGATGAGTGTGA CGACGACCAGGCCAACTGCCACAGTGGCACAGGTGAT GACTTCCAGCTCACAGGAGGCACCACTGTCCTGGCCAC AGAGAAGCCAACCATTATAGACAGCACCATCCAATCA GAGTTCCTCGACATACGGTTTTAACTGCGAGTTTGGCTG GGGCTCTCACAAGACATTCTGCCACTGGGAGCATGACA GCCATGCACAGCTCAGGTGGAGTGTGCTGACCAGCAA GACAGGGCCGATTACAGGACCATACAGGAGATGGCAAC TTCATCTATTTCCCAAGCTGATGAAAATCAGAAAGGCAA AGTAGCCCGCCTGGTGAGCCCTGTGGTCTATTCCCA GCTCTGCCCACTGTATGACCTTCTGGTATCACATGTCC GGCTCTCATGTGGGTACACTGAGGGTCAAACCTACGCTA CCAGAAGCCAGAGGAATATGATCAACTGGTCTGGATG GTGGTTGGGCACCAAGGAGACCACTGGAAAGAAGGAC GTGTCTTGCTGCACAAATCTCTGAAACTATATCAGGTT ATTTTTGAAGGTGAAATCGGAAAAGGAAACCTTGGTG GAATTGCTGTGGATGATATCAGTATTAACAACCATATT TCTCAGGAAGACTGTGCAAAACCAACAGACCTAGATA AAAAGAACACAGAAATTAAAATTGATGAAACAGGGAG CACTCCAGGATATGAAGGAGAAGGGGAAGGTGACAAG AACATCTCCAGGAAGCCAGGCAATGTGCTTAAGACCCCT GGATCCCATCCTGATCACCATCATAGCCATGAGTGCCC TGGGAGTACTCCTGGGTGCAGTCTGTGGAGTTGTGCTG TACTGTGCCTGTGGCACAATGGGATGTCAGAAAGGA ACCTATCTGCCCTGGAGAACTATAACTTTGAACTTGTG GATGGTGTAAAGTTGAAAAAAGATAAACTGAACCCAC AGAGTAATTACTCAGAGGCGTGA</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
--	--	--	---

【表 A - 17】

134	mNRP-1	UniProtK B - P97333	MERGLPLLCLATLALALALAGAFRSDKCGGTIKIENPGYLT SPGYPHSYHPSEKCEWLIQAPEPYQRIMINFNPFDLEDR DCKYDYVEVIDGENEGGRLWGKFCGKIAPSPVVSSGPFL FIKFVSDYETHGAGFSIRYEIFKRGPECSQNYTAPTGVIKS PGFPEKYPSNLECTYIIFAPKMSEIILEFESFDLEQDSNPPG GMFCRYDRLEIWDGFPEVGPVPHIGRYCGQKTPGRIRSSSGV LSMVFYTDSIAIAKEGFSANYSVLQSSISEDFKCMEALGME SGEIHSDQITASSQYGTNWSVERSRLNYPENGWTPGEDSY KEWIQVDLGLLRFVTA VGTQGAISKETKKKYVKTYRV DISSNGEDWISLKEGNKAIIFQGNTNPTDVVLGVFSKPLIT RFVRIKPVSWETGISMRFEVYGCKITDYPCSGMLGMVSG LISDSQITASNQADRNWMPENIRLVTSRTGWALPPSPHPY TNEWLQVDLGDEKIVRGVIIQGGKHRENKVFMRKFKIAY SNGSDWKTIMDDSKRKAKSFEGNNNYDTPELRTFSPLS TRFIRIYPERATHSGLGLRMELLGCEVEAPTAGPTTPNGN PVDECDDDQANCHSGTGDDFQLTGGTTVLATEKPTIIDST IQSEFPTYGFNCEFGWGSHTFCHWEHDSHAQLRWSVLT SKTGPIQDHTGDGNFIYSQADENQKGKVARLVSPVVYSQ SSAHCMTFWYHMSGSHVGTLRVKLRYQKPEEYDQLVW MVVGHQGDHWKEGRVLLHKSLLYQVIFEGEIGKGNLG GIAVDDISINNHSQEDCAKPTDLDDKKNTEIKIDETGSTPG YEYEGEGDKNISRKPGNVLKTLDPILITHIAMSALGVLLGA VCGVVLYCACWHNGMSERNLSALENYNFELVDGVKLLK KDKLNPQSNYSEA
135	rNRP-1	UniProtK B - Q9QWJ9	MERGLPLLCLATLALALALAGAFRSDKCGGTIKIENPGYLT SPGYPHSYHPSEKCEWLIQAPEPYQRIMINFNPFDLEDR DCKYDYVEVIDGENEGGRLWGKFCGKIAPSPVVSSGPFL FIKFVSDYETHGAGFSIRYEIFKRGPECSQNYTAPTGVIKS PGFPEKYPSNLECTYIIFAPKMSEIILEFESFDLEQDSNPPG GVFCRYDRLEIWDGFPEVGPVPHIGRYCGQKTPGRIRSSSGIL SMVFYTDSIAIAKEGFSANYSVLQSSISEDFKCMEALGMES GEIHSDQITASSQYGTNWSVERSRLNYPENGWTPGEDSY REWIQVDLGLLRFVTA VGTQGAISKETKKKYVKTYRV DISSNGEDWITLKEGNKAIIFQGNTNPTDVVFGVFPKPLIT RFVRIKPASWETGISMRFEVYGCKITDYPCSGMLGMVSG LISDSQITASNQGDRNWMMPENIRLVTSRTGWALPPSPHPY TNEWLQVDLGDEKIVRGVIIQGGKHRENKVFMRKFKIAYS NNGSDWKIMDDSKRKAKSFEGNNNYDTPELRAFTPLS TRFIRIYPERATHSGLGLRMELLGCEVEVPTAGPTTPNGN PVDECDDDQANCHSGTGDDFQLTGGTTVLATEKPTIIDST IQSEFPTYGFNCEFGWGSHTFCHWEHDSHAQLRWRVLT SKTGPIQDHTGDGNFIYSQADENQKGKVARLVSPVVYSQ SSAHCMTFWYHMSGSHVGTLRVKLHYQKPEEYDQLVW MVVGHQGDHWKEGRVLLHKSLLYQVIFEGEIGKGNLG GIAVDDISINNHIPQEDCAKPTDLDDKKNTEIKIDETGSTPG YEEGKGDKNISRKPGNVLKTLDPILITHIAMSALGVLLGAV CGVVLYCACWHNGMSERNLSALENYNFELVDGVKLLK DKLNPQSNYSEA
136	MABs 8-12	VHCDR2 コンセンサス	X ₁ ISGSGGX ₂ TYYADSVX ₃ G (ここでX ₁ はIまたはAであり、X ₂ はSまたはAであり、X ₃ はKまたはEである)
137	MABs 8-12	VHCDR1 コンセンサス	FTFX ₁ SX ₂ AMV (ここでX ₁ はA、K、またはSであり、X ₂ はYまたはVである)
138	MABs 3-4	VHCDR3 コンセンサス	ARDLGYYGSGMHX (ここでXはAまたはVである)

40

【表 A - 18】

139	MABs 5-6	VHCDR3 コンセンサス	ARDRGMYVASGFXP (ここでXはGまたはNである)
140		リンカー コンセンサス	(GGGGS) _n (ここでnは整数である)
141	抗 NRP 抗体 SEC10	IgG1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSQISPAGGYTNYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCARGELPYRMSKVMVDVWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
142	抗 NRP 抗体 SEC10	κ 軽鎖	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQYFSSYLAWYQQKP GKAPKLLIYGASSRASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQQYLGSPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
143	ヒト NRP-1	UniProt O14786. は、マイナー SNP, V179を 有する	MERGLPLLCAVLALVLAAGAFRNDKCGDTIKIESPGYLT SPGYPHSYHPSEKCEWLIQAPDPYQRIMINFNPHFDLEDR DCKYDYVEVFDGENENGHFRGKFCGKIAPPPVSSGPFLF IKFVSDYETHGAGFSIRYEIFKRGPECSQNYTTSPGVIKSP GFPEKYPNSLECTYIVFVPMSEIILEFESFDLEPDSNPPGG MFCRYDRLEIWDGFPDVGPHIGRYCGQKTPGRIRSSSGIL SMVFYTDIAIAKEGFSANYSVLQSSVSEDFKCMALGME SGEIHSDQITASSQYSTNWSAERSRLNYPENGWTPGEDSY REWIQVDLGLLRFTAVGTQGAISKETKKKYVVKTYKID VSSNGEDWITKEGKPKVLFQGNTPDVTAVFVKPLIT RFVRIKATWETGISMRFVYGGKITDYPGSGMLGMVSG LISDSQITSSNQGDRNWMENIRLVTSRSGWALPPAPHSYI NEWLQIDLGEKIVRGIIIQGGKHRENKVFMRKFKIGYSN NGSDWKIMDDSKRKAKSFEGNNNYDTPELRTFPALSTR FIRIYPERATHGGLGLRMELLGCEVEAPTAGPTTPNGNLV DECDDDQANCHSGTGDDDFQLTGTTVLATEKPTVIDSTI QSEFPTYGFNCEFGWGSHTKTFCHWEHDNHVQLKWSVLT SKTGPIQDHTGDGNFIYSQADENQKGKVARLVSPVVSQ NSAHCMTFWYHMSGSHVGTLRVKLRYQKPEEYDQLVW MAIGHQGDHWKEGRVLLHKSLLYQVIFEGEIGKGNLG GIAVDDISINNHSQEDCAKPADLDKKNPEIKIDETGSTPG YEGEGEGDKNISRKPGNVLKTLDPIILITHIAMSALGVLLGA VCGVVLYCACWHNGMSERNLSALENYNFELVDGVKLG KDKLNTQSTYSEA
144	SEC3 軽鎖		DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDVSTAVAWYQQK PGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQAWAYLPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC

10

20

30

40

【表 A - 1 9】

145	SEC3 重鎖		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISGYGIHWVRQ APGKGLEWVAYIYPDSGYTDYADSVKGRFTISADTSKNT AYLQMNSLRAEDTAVYYCAREDFRNRRRLWYVMDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
-----	------------	--	--

10

20

30

40

50

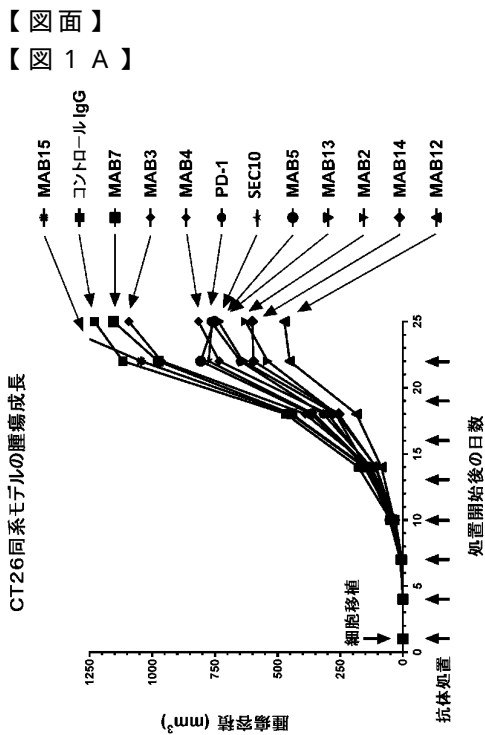


Figure 1A

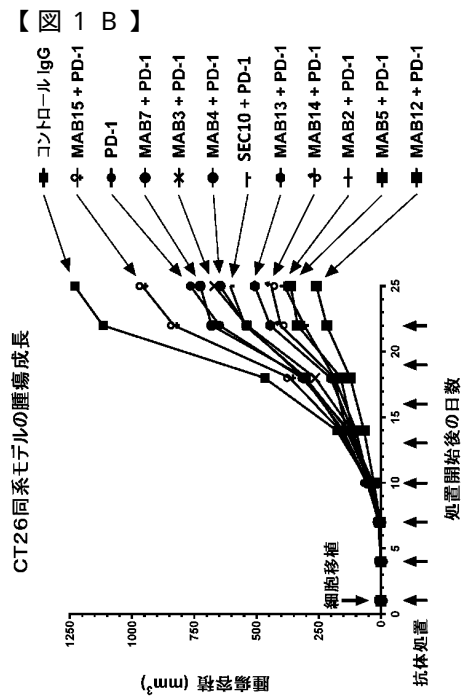


Figure 1B

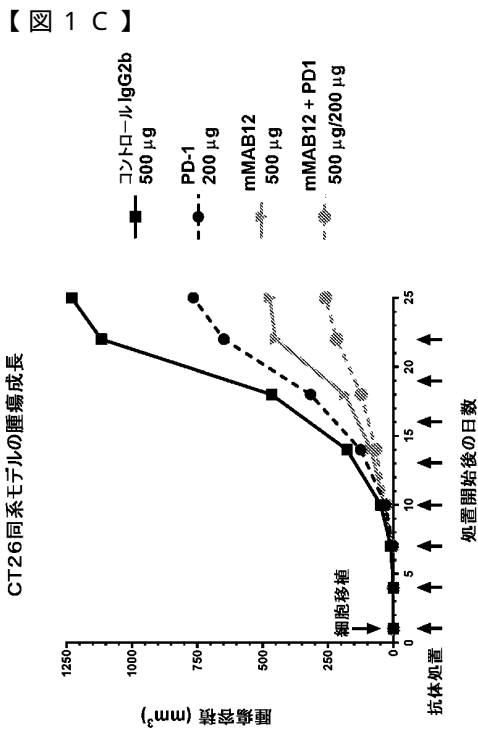


Figure 1C

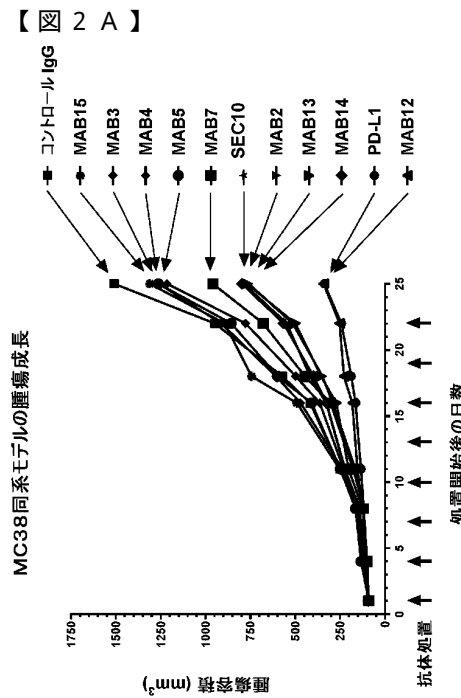


Figure 2A

10

20

30

40

50

【図 2 B】

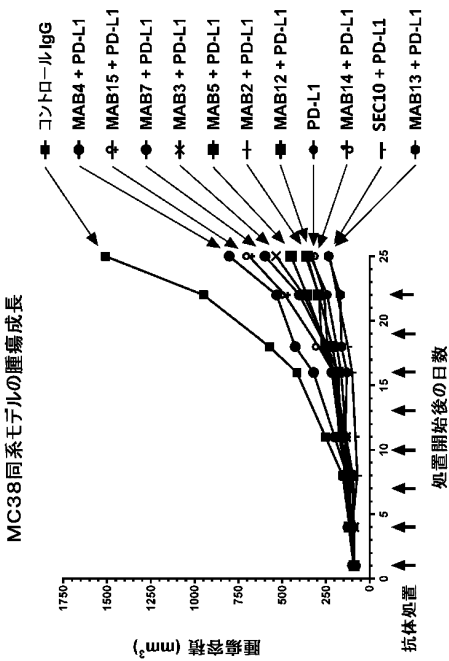


Figure 2B

【図 2 C】

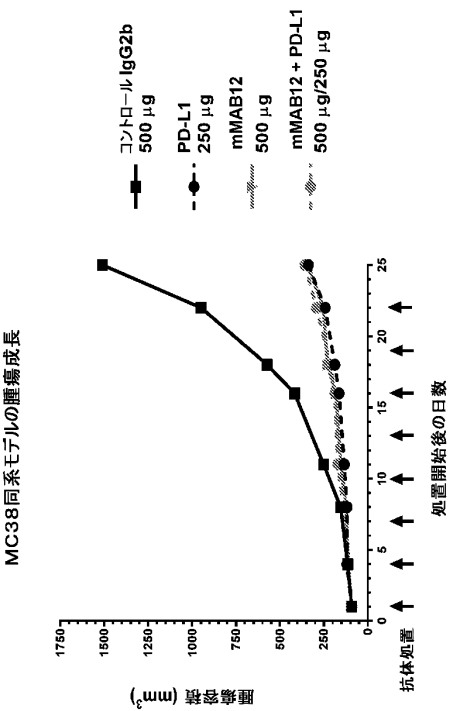


Figure 2C

【図 3】

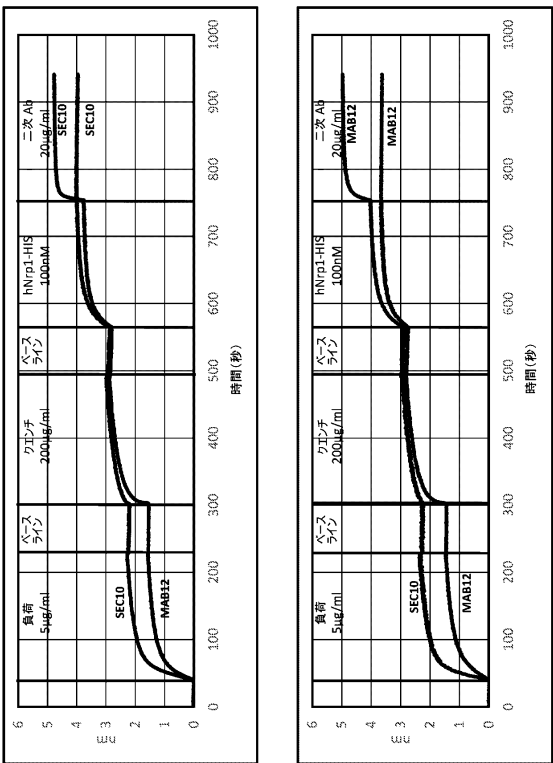


Figure 3

10

20

30

40

50

【配列表】

0007621734000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	31/4745(2006.01)	A 6 1 K	31/4745		
A 6 1 K	31/513(2006.01)	A 6 1 K	31/513		
A 6 1 K	31/519(2006.01)	A 6 1 K	31/519		
A 6 1 K	31/7048(2006.01)	A 6 1 K	31/7048		
A 6 1 K	33/24 (2019.01)	A 6 1 K	33/24		
A 6 1 K	35/17 (2025.01)	A 6 1 K	35/17		
A 6 1 K	35/76 (2015.01)	A 6 1 K	35/76		
A 6 1 K	35/761(2015.01)	A 6 1 K	35/761		
A 6 1 K	35/763(2015.01)	A 6 1 K	35/763		
A 6 1 K	35/766(2015.01)	A 6 1 K	35/766		
A 6 1 K	35/768(2015.01)	A 6 1 K	35/768		
A 6 1 K	39/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/00	H	
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395	D	
A 6 1 P	31/12 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	31/12		
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	37/04		
C 0 7 K	14/725(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	14/725		
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	16/28		Z N A
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 0 7 K	16/46		
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 0 7 K	19/00		
C 0 7 D	239/553 (2006.01)	C 1 2 N	15/12		
C 0 7 D	305/14 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		
C 0 7 D	475/04 (2006.01)	C 0 7 D	239/553	A	
C 0 7 D	487/04 (2006.01)	C 0 7 D	305/14		
C 0 7 D	491/22 (2006.01)	C 0 7 D	475/04		
C 0 7 H	17/04 (2006.01)	C 0 7 D	487/04		
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 0 7 D	491/22		
		C 0 7 H	17/04		
		C 1 2 P	21/08		

米国(US)

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 8 , ケンブリッジ, マサチューセッツ アベニュー
1 0 3 0 , スイート 2 1 0 , ポテンザ セラピューティックス, インコーポレイテッド 気付
(72)発明者 ウィンストン, ウィリアム

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 8 , ケンブリッジ, マサチューセッツ アベニュー
1 0 3 0 , スイート 2 1 0 , ポテンザ セラピューティックス, インコーポレイテッド 気付
(72)発明者 サルメロン - ガルシア, ジョセ - アンドレス

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 8 , ケンブリッジ, マサチューセッツ アベニュー
1 0 3 0 , スイート 2 1 0 , ポテンザ セラピューティックス, インコーポレイテッド 気付
(72)発明者 ニールセン, ネルス ビー .

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 8 , ケンブリッジ, マサチューセッツ アベニュー
1 0 3 0 , スイート 2 1 0 , ポテンザ セラピューティックス, インコーポレイテッド 気付
(72)発明者 ブロッドキン, ヘザー

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 3 8 , ケンブリッジ, マサチューセッツ アベニュー
1 0 3 0 , スイート 2 1 0 , ポテンザ セラピューティックス, インコーポレイテッド 気付

合議体

審判長 福井 悟

審判官 長井 啓子

審判官 小金井 悟

(56)参考文献 特表 2 0 0 9 - 5 1 4 9 7 2 (J P , A)

The EMBO J . , vol . 2 6 (2 3) , pp . 4 9 0 2 - 4 9 1 2 (2 0 0 7)

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C07K 1/00 - 19/00

C12N 15/00 - 15/90

A61K 39/00 - 39/44

C A P L U S / R E G I S T R Y / E M B A S E / M E D L I N E / B I O S I S (S T
N)